МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33332— 2023

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

Определение массовой доли сорбиновой и бензойной кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(ISO 22855:2008, NEQ)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2023

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом технологии консервирования — филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (ВНИИТеК — филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 28 июля 2023 г. № 163-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 сентября 2023 г. № 828-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33332—2023 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2025 г. с правом досрочного применения

5 Настоящий стандарт разработан с учетом основных нормативных положений международного стандарта ISO 22855:2008 «Продукты переработки фруктов и овощей. Определение концентраций бензойной и сорбиновой кислот. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии» («Fruit and vegetable products — Determination of benzoic acid and sorbic acid concentrations — High-performance liquid chromatography method», NEQ)

6 ВЗАМЕН ГОСТ 33332—2015

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2023

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Сущность метода 3
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы 3
6 Отбор и подготовка проб 4
7 Условия проведения измерений 5
8 Подготовка к проведению измерений 5
9 Порядок проведения измерений 6
10 Обработка и оформление результатов измерений 9
11 Протокол испытаний 11
12 Контроль качества результатов измерений в лаборатории 12
13 Требования безопасности 12
14 Требования к персоналу 12
Приложение А (справочное) Мониторинг хроматографических характеристик колонок 13
Библиография 14

Поправка к ГОСТ 33332—2023 Продукты переработки фруктов и овощей. Определение массовой доли сорбиновой и бензойной кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

(ИУС № 4 2024 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

Определение массовой доли сорбиновой и бензойной кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Fruit and vegetable products. Determination of sorbic and benzoic acids content by high performance liquid chromatography

Дата введения — 2025—01—01
с правом досрочного применения

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты переработки фруктов и овощей, в том числе на соковую продукцию (далее — продукты), и устанавливает метод определения (измерения) массовой доли сорбиновой кислоты Е200 и бензойной кислоты Е210 и (или) их солей (сорбат натрия Е201, сорбат калия Е202, сорбат кальция Е203, бензоат натрия Е211, бензоат калия Е212, бензоат кальция Е213) с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Настоящий метод не позволяет проводить раздельное определение индивидуальных форм кислот и их солей. Результат определения представляют в сумме в пересчете на соответствующую кислоту.

Диапазон измерений массовой доли сорбиновой и бензойной кислот — от 10 до 1500 мг/кг включительно.

Примечание — 1 мг/кг соответствует 1 млн$^{-1}$ (или 0,0001 %). При необходимости пересчет из одних величин в другие проводят по ГОСТ 8.417.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 8.315 Государственная система обеспечения единства измерений. Стандартные образцы состава и свойств веществ и материалов. Основные положения

ГОСТ 8.417 Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы величин

ГОСТ 12.1.005 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.021 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 61 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3117 Реактивы. Аммоний уксуснокислый. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 4207 Реактивы. Калий железистосинеродистый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 5823 Реактивы. Цинк уксуснокислый 2-водный. Технические условия

ГОСТ 6709* Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9245 Потенциометры постоянного тока измерительные. Общие технические условия

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные. Типы. Основные параметры и размеры

ГОСТ 26313 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 26671 Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

ГОСТ 28311 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 31643—2012 Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

ГОСТ 33276 Продукция соковая. Методы определения относительной плотности

ГОСТ 34125 Фрукты и овощи сушеные. Правила приемки, отбор и подготовка проб

ГОСТ 34128 Продукция соковая. Рефрактометрический метод определения массовой доли растворимых сухих веществ

ГОСТ ISO 3696 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля**

ГОСТ ИСО 5725-1—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения***

ГОСТ ИСО 5725-6—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике*4

ГОСТ ISO 7886-1 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

ГОСТ ISO/IEC 17025 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ OIML R 76-1 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по [1], а также следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **массовая доля сорбиновой и бензойной кислоты:** Содержание сорбиновой и бензойной кислот и их солей сорбатов (бензоатов) по отдельности или в комбинации в пересчете на сорбиновую и (или) бензойную кислоту, определенное в соответствии с методом, изложенным в настоящем стандарте, и выраженное в мг/кг (%).

---

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144—2018.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения».

*4 В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

4 Сущность метода

Определение сорбиновой и (или) бензойной кислот и их солей основано на извлечении их из пробы продукта буферным раствором ацетата аммония, содержащим метанол, очистке полученного экстракта с применением твердофазной экстракции и последующем количественном определении сорбиновой и бензойной кислот в очищенном экстракте методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Разделение сорбиновой и (или) бензойной кислот происходит в изократическом режиме с использованием в качестве подвижной фазы смеси метанола и ацетатного буферного раствора. Детектирование компонентов осуществляется в ультрафиолетовой области спектра при длине волны 235 нм (для бензойной кислоты) и 254 нм (для сорбиновой кислоты).

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы

5.1 Хроматограф жидкостный утвержденного типа, включающий в себя насос высокого давления с верхним рабочим пределом не менее 25 МПа, петлевой дозатор с рабочим объемом петли до 0,1 $см^3$, спектрофотометрический или диодно-матричный детектор, позволяющий проводить измерения на длинах волны 235 и 254 нм с характеристиками не хуже указанных в таблице 1, в комплекте с программным обеспечением для сбора и обработки данных, обеспечивающим создание и сохранение градуировочных зависимостей методом наименьших квадратов, с последующим автоматическим расчетом концентрации по ним.

Таблица 1 — Метрологические характеристики спектрофотометрического или диодно-матричного детектора

Относительное среднеквадратичное отклонение выходного сигнала, %, не более		Значение дрейфа нулевого сигнала, е.о.п./ч, не более	Точность установки длины волны, нм, не более
по площади пика	по времени удерживания		
3	1,0	$1,5 \cdot 10^{-3}$	1,0

5.2 Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 специального (I) или высокого (II) класса точности с действительной ценой деления 0,0001 г и максимальной нагрузкой не менее 110 г.

5.3 Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 высокого (II) класса точности с действительной ценой деления 0,01 г и максимальной нагрузкой не менее 200 г.

5.4 pH-метр утвержденного типа по ГОСТ 9245 с погрешностью измерения не более 0,05 ед. pH, позволяющий проводить измерения в диапазоне от 4 до 9 ед. pH, в комплекте с комбинированным стеклянным электродом любого типа.

5.5 Микрошприц любого типа вместимостью от 0,025 до 0,050 $см^3$, с ценой деления не менее 0,2 $мм^3$.

5.6 Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема 10—100 $мм^3$, 100—1000 $мм^3$, 1000—5000 $мм^3$ по ГОСТ 28311.

5.7 Стандартные образцы состава сорбиновой и бензойной кислот* по ГОСТ 8.315, с границами допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения ±2 % при $P = 0,95$.

Примечание — Допускается использование чистых веществ сорбиновой и бензойной кислот квалификации «референсный материал».

5.8 Колонка хроматографическая** длиной от 150 до 250 мм и внутренним диаметром не более 4,6 мм, заполненная силикагелем с привитыми октадецильными группами C_{18} с размером частиц от 3 до 5 мкм, в комплекте с защитной предколонкой или без нее.

---

* Используют утвержденные типы стандартных образцов, признанные в национальной системе обеспечения единства измерений государства, принявшего стандарт, внесенные в Реестр межгосударственных стандартных образцов состава и свойств веществ и материалов. Например, ГСО 11467—2019, ГСО 11468—2019.

** Например, колонка Hypersil Gold, каталожный номер 25003—154630. Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования хроматографических колонок иных типов при условии соблюдения требований эффективности разделения.

5.9 Центрифуга настольная, оснащенная ротором, со скоростью вращения не менее 4000 $мин^{-1}$ и адаптером для пробирок соответствующей вместимости.

5.10 Устройство для фильтрования подвижной фазы с насосом.

5.11 Баня водяная, оснащенная терморегулятором для поддержания и контроля температуры в диапазоне от 50 °С до 70 °С с погрешностью не более ±2 °С.

5.12 Гомогенизатор (измельчитель) лабораторный любого типа.

5.13 Мешалка лабораторная любого типа.

5.14 Баня ультразвуковая любого типа.

5.15 Фильтры мембранные из нейлона, диаметром пор 0,45 мкм, диаметром 47 мм и диаметром 25 мм с насадкой на шприц типа «Луер».

5.16 Пробирки полимерные центрифужные подходящей вместимости с завинчивающейся крышкой.

5.17 Контейнеры из полимерного материала или стекла, снабженные герметичными крышками, подходящей вместимости, для хранения проб.

5.18 Картриджи для твердофазной экстракции, заполненные обращенно-фазовым сорбентом $С_{18}$, вместимостью не менее 3 $см^3$, массой сорбента не менее 200 мг*.

5.19 Шприцы медицинские однократного применения вместимостью 2—5 $см^3$ по ГОСТ ISO 7886-1.

5.20 Виалы из стекла с завинчивающими крышками и септами номинальной вместимостью 2 $см^3$.

5.21 Цилиндры мерные по ГОСТ 1770.

5.22 Колбы мерные 2а-10-2, 2а-50-2, 2а-100-2, 2а-1000-2 по ГОСТ 1770.

5.23 Стаканы лабораторные типа В или Н по ГОСТ 25336.

5.24 Воронки лабораторные типа В по ГОСТ 25336.

5.25 Фильтры бумажные «синяя лента» или стекловолоконные диаметром, соответствующем диаметру воронок для фильтрования.

5.26 Метанол для жидкостной хроматографии, с массовой долей основного вещества не менее 99,9 %, коэффициентом светопропускания при 235 нм не менее 83 %.

5.27 Аммоний уксуснокислый по ГОСТ 3117, ч. д. а.

5.28 Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 61, х. ч.

5.29 Калий железистосинеродистый 3-водный по ГОСТ 4207, х. ч.

5.30 Цинк уксуснокислый 2-водный по ГОСТ 5823, ч. д. а.

5.31 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода по ГОСТ ISO 3696, не ниже второй степени чистоты.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и вспомогательного оборудования с техническими характеристиками, а также реактивов и материалов по качеству не хуже указанных в настоящем стандарте.

6 Отбор и подготовка проб

6.1 Отбор проб продуктов переработки фруктов и овощей, соковой продукции — по ГОСТ 26313, ГОСТ 26671 и по нормативным документам государства, принявшего стандарт.

Отбор проб сушеных фруктов и овощей — по ГОСТ 34125.

Подготовка проб — по ГОСТ 26671, ГОСТ 34125 и по нормативным документам государства, принявшего стандарт.

6.2 Подготовка проб осветленной соковой продукции — по ГОСТ 31643—2012 (пункт 6.2.1). Подготовка проб соковой продукции с объемной долей мякоти до 10,0 % включительно или содержащих нерастворимые в воде вещества — по ГОСТ 31643—2012 (пункт 6.2.2).

Концентрированную соковую продукцию предварительно разбавляют водой до заданного в [1] (приложение 2) значения массовой доли растворимых сухих веществ по ГОСТ 33276, ГОСТ 34128.

* Например, картриджы Agilent Bond Elut C18 или Chromabond C18ec. Данная информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность использования картриджей иных производителей.

7 Условия проведения измерений

При подготовке к проведению измерений и при проведении измерений температура и относительная влажность в лабораторном помещении должны соответствовать требованиям, указанным в документах на средства измерений, приведенных в разделе 5.

При выполнении измерений на рабочем месте должны быть дополнительно соблюдены следующие условия:

- напряжение в электросети .....(220 ± 10) В;
- частота тока в электросети .....(50 ± 1) Гц.

В помещениях, предназначенных для проведения измерений, не допускается загрязненность воздуха рабочей зоны пылью, агрессивными веществами, должны отсутствовать факторы, влияющие на измерение массы и объема.

8 Подготовка к проведению измерений

8.1 Подготовка хроматографа к работе

Включение и подготовку прибора к работе, вывод его на режим, операции заполнения системы растворителями и промывку отдельных частей и системы в целом, выключение по окончании работы выполняют в соответствии с руководством по эксплуатации.

Перед проведением измерений хроматографическую систему кондиционируют подвижной фазой до установления стабильной базовой линии в соответствии с рекомендациями производителя.

Примечание — Для продления срока службы и более эффективной работы колонки рекомендуется использовать систему защиты (фильтры in-line в насосе и предколонку), периодическую промывку (не реже одного-двух раз в неделю) колонки растворителем (в зависимости от числа проведенных измерений) в соответствии с рекомендациями изготовителя. После проведения измерений и длительных перерывов между ними во избежание образования кристаллов солей всю систему промывают водой.

8.2 Приготовление раствора ацетата аммония молярной концентрации 0,01 моль/дм^3

Взвешивают (0,771 ± 0,001) г уксуснокислого аммония, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят в герметичной емкости в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более одной недели.

8.3 Приготовление ацетатного буферного раствора

Смешивают 1000 частей по объему раствора ацетата аммония по 8.2 с 1,2 части по объему уксусной кислоты по 5.28, перемешивают.

Раствор хранят в герметичной емкости в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более одной недели.

8.4 Приготовление экстрагирующего раствора

Смешивают 60 частей по объему ацетатного буферного раствора, приготовленного по 8.3, с 40 частями по объему метанола по 5.26.

8.5 Приготовление подвижной фазы

Смешивают 50 частей по объему ацетатного буферного раствора по 8.3 с 40 частями по объему метанола по 5.26 и при перемешивании на мешалке доводят до значения (4,5 ± 0,1) ед. pH путем добавления уксусной кислоты по 5.28, регистрируя показания pH-метра.

Раствор хранят в течение семи дней в холодильнике при температуре не выше 10 °С, при условии визуального отсутствия нерастворимых веществ. Перед использованием подвижную фазу дегазируют путем фильтрации через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм из нейлона на установке для вакуумной фильтрации с насосом или дегазируют на ультразвуковой бане.

8.6 Приготовление раствора 3-водного железистосинеродистого калия массовой концентрации 150 г/дм^3 (реактив Карреза I)

Взвешивают (150,00 ± 0,01) г 3-водного железистосинеродистого калия, растворяют в небольшом количестве воды и переносят, смывая несколькими порциями воды, в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре в склянке из темного стекла не более одного месяца.

8.7 Приготовление раствора 2-водного уксуснокислого цинка массовой концентрации 300 г/дм^3 (реактив Карреза II)

Взвешивают (300,00 ± 0,01) г 2-водного уксуснокислого цинка, растворяют в небольшом количестве воды и переносят, смывая несколькими порциями воды, в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре не более одного месяца.

9 Порядок проведения измерений

9.1 Условия хроматографического разделения

Измерения проводят при следующем режиме работы хроматографа*:

- температура термостата колонки .....(30 ± 1) °С;
- объем вводимой пробы .....от 10 до 20 мм^3;
- режим элюирования .....изократический;
- скорость подвижной фазы .....0,75—1,5 см^3/мин;
- длина волны детектора** .....235, 254 нм.

Примечания

1 В зависимости от типа применяемого хроматографа и хроматографической колонки допускается изменение указанных условий измерений, обеспечивающих требуемое разделение компонентов, при условии соответствующей верификации метода.

2 При наличии технической возможности допускается использование градиентной техники элюирования. Состав подвижных фаз и программу элюирования оптимизируют в соответствии с рекомендациями изготовителя колонок.

9.2 Приготовление градуировочных растворов

9.2.1 Исходный раствор сорбиновой и бензойной кислот массовой концентрации 1 мг/см^3 (1 г/дм^3)

В мерной колбе вместимостью 100 см^3 взвешивают (0,100 ± 0,001) г стандартного вещества сорбиновой и бензойной кислот, добавляют 20 см^3 подвижной фазы по 8.5, растворяют с применением ультразвуковой бани, доводят до метки раствор водой при температуре (20 ± 2) °С и тщательно перемешивают.

При расчете массы стандартного образца $m_{с.оi}$, г, учитывают содержание основного вещества в нем, согласно информации, приведенной в паспорте, по формуле

$$m_{с.оi} = 0{,}1 \cdot \frac{100}{X_{о.вi}}, \quad (1)$$

где $X_{о.вi}$ — фактическая массовая доля основного вещества, %.

Массу стандартного образца $m_{с.оi}$, г, вычисляют с точностью до 0,001 г.

Раствор хранят в герметичной емкости в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного месяца.

---

* Коэффициент разделения пиков сорбиновой и бензойной кислот должен быть не менее 1,3, а число эффективных теоретических тарелок, по пику бензойной кислоты, составляет не менее 4000. Если данное условие не соблюдается, то для достижения требуемой эффективности разделения экспериментальным путем корректируют условия хроматографического разделения по настоящему пункту.

** При одновременном определении сорбиновой и бензойной кислот допускается проводить детектирование только при длине волны 235 нм. При определении только сорбиновой кислоты рекомендуется использование длины волны детектирования 254 нм, на которой отклик бензойной кислоты очень слабый.

9.2.2 Приготовление рабочих растворов

Из исходного раствора по 9.2.1 готовят ряд градуировочных растворов по четырем уровням в соответствии с таблицей 2, используя пипеточные дозаторы по 5.6 и мерные колбы по 5.22, доводят объем до метки ацетатным буферным раствором по 8.3 при температуре (20 ± 2) °С и тщательно перемешивают.

Градуировочные растворы готовят непосредственно перед проведением измерений.

Таблица 2 — Приготовление градуировочных растворов для построения градуировочной зависимости

Номер градуировочного раствора (i = 1…4)	Вместимость мерной колбы, см^3	Объем исходного раствора по 9.2.1, см^3	Масса i-й кислоты в градуировочном растворе $m_{гр i}$, мг
1	100	0,10	0,1
2	100	1,00	1,0
3	100	2,50	2,5
4	100	5,00	5,0

9.3 Установление и контроль стабильности градуировочной характеристики (градуировка хроматографа)

9.3.1 Проводят измерения всех градуировочных растворов, проводя по три параллельных измерения для каждого уровня, в порядке возрастания массы компонентов в них, полностью заполняя петлю инжектора в условиях, указанных в 9.1. Хроматограммы обрабатывают в соответствии с руководством пользователя программным обеспечением. Компоненты идентифицируют по абсолютным значениям времени удерживания.

9.3.2 Регистрируют с помощью программного обеспечения времена удерживания и площади каждого пика $S_{гр i}$, проверяя приемлемость выходных сигналов. Выходные сигналы признают приемлемыми, если относительное среднеквадратичное отклонение (ОСКО) для каждого уровня градуировочных растворов по трем параллельным измерениям, участвующих в нахождении градуировочной характеристики, не превышает 3 %.

9.3.3 Градуировочные коэффициенты в уравнении прямой вычисляют методом линейной регрессии скорректированных площадей пиков в соответствии с руководством пользователя программным обеспечением. Градуировочную характеристику считают линейной, если коэффициент корреляции составляет не менее 0,995. При невыполнении этого условия градуировку хроматографа повторяют заново.

9.3.4 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят перед началом работы с применением в качестве контрольного одного из градуировочных растворов, приготовленных по 9.2.2, с содержанием сорбиновой и бензойной кислот, близкой к середине диапазона измерений. Допускается проводить контроль только по сорбиновой или только по бензойной кислоте, чередуя их.

Регистрируют не менее двух хроматограмм контрольного раствора в тех же условиях, в которых была установлена градуировочная характеристика.

9.3.5 Проверяют повторяемость значений результатов измерений в контрольном растворе по формуле

$$|X_{k1} - X_{k2}| \le 0{,}05\overline{X}_k, \qquad (2)$$

где X_{k1} и X_{k2} — массы сорбиновой и (или) бензойной кислот, рассчитанные по первой и второй хроматограммам соответственно, мг;

$\overline{X}_k$ — среднеарифметическое значение и, мг.

При выполнении условия (2) вычисляют массу сорбиновой и (или) бензойной кислот в i-м градуировочном растворе как среднее из двух определений. Если условие (2) не выполняется, находят и устраняют причины, после чего контроль повторяемости значений проводят заново.

9.3.6 Градуировочную характеристику считают стабильной, если выполняется условие (3):

$$|\overline{X}_k - X_{гр i}| \le 0{,}08X_{гр i}, \qquad (3)$$

где $\overline{X}_k$ — масса сорбиновой и (или) бензойной кислот в *i*-м градуировочном растворе, найденная по 9.3.5, мг;

$X_{гр i}$ — фактическая масса сорбиновой или бензойной кислот в *i*-м градуировочном растворе, мг (см. таблицу 2).

Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется, то процедуру контроля повторяют и при получении неудовлетворительного результата контроля градуировку хроматографа проводят заново.

9.3.7 Установление новой градуировочной характеристики с проверкой линейности проводят в случаях:

- введения в эксплуатацию новых или отремонтированных средств измерений;
- замены хроматографической колонки;
- при смене партий реактивов;
- после очистки систем разделения и детектирования хроматографа;
- при неудовлетворительных результатах оперативного контроля или контроля стабильности.

9.4 Измерение проб

Измерения проводят не менее двух раз в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-1—2003 (подраздел 3.14).

9.4.1 Экстракция сорбиновой и бензойной кислот

Взвешивают в стакане 5,00—10,00 г пробы, подготовленной по разделу 6, и переносят ее количественно через воронку в мерную колбу вместимостью 100 см^3, обмывая стакан 75 см^3 экстрагирующего раствора по 8.4, подогретого на водяной бане до температуры 60 °С.

Примечание — Использование колб другой вместимости и пропорциональное изменение массы пробы в данном случае не допускается.

Колбы выдерживают на ультразвуковой бане 10 мин, охлаждают до комнатной температуры. После чего добавляют последовательно по 2 см^3 растворов Карреза I и Карреза II, тщательно перемешивая содержимое колбы после каждого внесения, доводят раствор в колбах до метки водой и тщательно перемешивают.

Примечание — Для продуктов, не содержащих мякоть, взвешенные вещества, жиры и белки свыше 1 % по массе, реактивы Карреза I и Карреза II не добавляют.

Полученный раствор из мерной колбы фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента» или стекловолоконный фильтр (например, для продуктов, содержащих крахмал или загустители).

Полученный фильтрат используют для твердофазной экстракции по 9.4.2 или фильтруют в виалу для хроматографического определения по 9.4.3 в тот же день.

9.4.2 Твердофазная экстракция

Картридж для твердофазной экстракции подготавливают (кондиционируют) в соответствии с рекомендациями изготовителя.

Пропускают через подготовленный картридж 2 см^3 фильтрата по 9.4.1, промывают 2 см^3 ацетатным буферным раствором по 8.3 и отбрасывают эту порцию элюата. Затем смывают 6 см^3 подвижной фазы по 8.5, собирая элюат в мерную колбу вместимостью 10 см^3, доводят до метки подвижной фазой, тщательно перемешивают на вортексе и фильтруют в виалу для хроматографического определения по 9.4.3.

Примечание — Для продуктов с содержанием белков и жиров не более 1 % по массе, осветленной соковой продукции и продуктов, не содержащих красителей, данный этап проводят по выбору пользователей стандарта. Для всех остальных продуктов проведение данного этапа является обязательным.

Допускается изменение соотношений объемов подвижной фазы по 8.5 и фильтрата по 9.4.3 в зависимости от удерживающей способности картриджа и состава продуктов, так, чтобы их соотношение составляло от 2 до 4.

9.4.3 Хроматографическое определение

В инжектор хроматографа вводят фильтрат по 9.4.1 (если твердофазная экстракция не проводилась) или элюат, полученный по 9.4.2, и проводят определения в условиях, указанных в 9.1.

Идентификацию пиков сорбиновой и (или) бензойной кислот проводят по времени удерживания, сравнивая с пиками на хроматограммах, полученных для градуировочных растворов.

Ориентировочное время удерживания органических кислот приведено в таблице 3.

Таблица 3 — Параметры идентификации сорбиновой и бензойной кислот

Наименование кислоты	Ориентировочное время удерживания, мин	Максимум светопоглощения, нм
Бензойная	7,5	227 ± 1
Сорбиновая	9,5	260 ± 1

Примечания

1 Значения времен удерживания указаны для колонки Hypersil ODS C18 длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, при условиях, указанных в 9.1.

2 При разногласиях проводят дополнительную идентификацию пиков путем сравнения их спектров поглощения со спектрами поглощения, указанными в таблице 3, используя диодно-матричный детектор.

Относительное расхождение времени удерживания на хроматограмме пробы не должно отличаться более чем на 5 % от времени удерживания, установленного по 9.3. Если данное условие не выполняется, определения повторяют заново.

Полученные значения площадей пиков на хроматограмме используют для расчета содержания сорбиновой и (или) бензойной кислот при условии, что они не выходят за верхнюю границу диапазона градуировочной зависимости.

Если площадь пика сорбиновой и (или) бензойной кислот на хроматограммах выходит за верхнюю границу диапазона, то осветленный раствор по 9.4.1 (если твердофазная экстракция не проводилась) или элюат, полученный по 9.4.2, разбавляют экстрагирующим раствором так, чтобы результат измерений не превышал верхнюю границу градуировочной зависимости, и проводят его повторное определение, регистрируя при этом коэффициент разбавления F, который вычисляют по формуле

$$F = \frac{V_1}{V_2}, \quad (4)$$

где V_1 — объем, до которого осветленный раствор по 9.4.1 разбавлен экстрагирующим раствором по 8.4, или объем раствора пробы, полученный после очистки на картридже по 9.4.2, см^3;

V_2 — объем осветленного раствора по 9.4.1, взятого для разведения или для очистки на картридже по 9.4.2, см^3.

При отсутствии пиков на соответствующем времени удерживания делают вывод, что данная кислота в пробе отсутствует.

10 Обработка и оформление результатов измерений

10.1 Обработку хроматограмм проводят с помощью программно-аппаратного комплекса сбора и обработки данных в составе хроматографа с использованием градуировочной зависимости.

10.2 Массовую долю сорбиновой и (или) бензойной кислот X_i, мг/кг, вычисляют по формуле

$$X_i = \frac{m_i \cdot F \cdot 1000}{m}, \quad (5)$$

где m_i — масса сорбиновой и (или) бензойной кислот в пробе, найденная по градуировочной зависимости, мг;

F — коэффициент разбавления, вычисленный по формуле (4);

m — масса пробы продукта по 9.4.1, г.

Полученный результат округляют с точностью до двух значащих цифр.

10.3 Приемлемость результатов, полученных в условиях повторяемости (в одной лаборатории)

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (два единичных измерения, $n = 2$), проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6.

Результаты определений считаются приемлемыми при условии

$$|X_1 - X_2| \le 0{,}01 \cdot r_{отн} \cdot \overline{X}, \quad (6)$$

где X_1, X_2 — результаты параллельных измерений массовой доли сорбиновой и (или) бензойной кислот, мг/кг;

$r_{отн}$ — предел повторяемости (см. таблицу 4), %.

При невыполнении условия (6) получают еще два результата, начиная со взятия навески, и в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов четырех параллельных измерений в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункты 5.3.3, 5.3.4). Если расхождение между результатами параллельных измерений превышает критический диапазон $CR_{0,95}$, указанный в таблице 4, выясняют и устраняют причины плохой повторяемости результатов и повторяют измерения.

10.4 Приемлемость результатов, полученных в условиях воспроизводимости (в одной или в двух лабораториях)

10.4.1 Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) проверке совместимости результатов измерений, полученных при сравнительных испытаниях.

10.4.2 Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует контрольные пробы, оставленные на хранение.

10.4.3 Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$\left|\overline{X}_1 - \overline{X}_2\right| \le 0{,}01 \cdot CD_{0,95} \cdot \overline{\overline{X}}, \quad (7)$$

где $\overline{X}_1, \overline{X}_2$ — окончательные результаты измерений массовой доли сорбиновой и (или) бензойной кислот, полученные в первой и второй лабораториях соответственно, мг/кг;

$\overline{\overline{X}}$ — среднеарифметическое значение окончательных результатов измерений массовой доли сорбиновой и (или) бензойной кислот, полученных в первой и второй лабораториях, мг/кг;

$CD_{0,95}$ — значение критической разности, %, вычисляемое по формуле

$$CD_{0,95} = \sqrt{R_{отн}^2 - r_{отн}^2 \cdot \left(1 - \frac{1}{n_1} - \frac{1}{n_2}\right)}, \quad (8)$$

где $R_{отн}$ — предел воспроизводимости (см. таблицу 4), %;

$r_{отн}$ — предел повторяемости (см. таблицу 4), %;

n_1 и n_2 — число параллельных измерений в первой и второй лабораториях соответственно.

Если допускаемая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, приводимые двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение.

Если допускаемая разность превышена, то выполняют процедуры в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункт 5.3.3). При разногласиях руководствуются ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункт 5.3.4).

10.5 Представление окончательного результата измерений — по разделу 11.

Приписанные характеристики погрешности метода определения содержания нитратов и ее составляющих при $P = 0{,}95$ приведены в таблице 4.

Таблица 4 — Метрологические характеристики метода при $P = 0,95$

Диапазон измерений, мг/кг	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных измерений) $r_{отн}$, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами, полученными в условиях воспроизводимости) $R_{отн}$, %	Критический диапазон (относительное значение допускаемого расхождения между четырьмя результатами параллельных измерений) $CR_{0,95}\,(4)_{отн}$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности) ±δ, %
От 10 до 1500 включ.	8	12	11	9

Примечания

1 Установленные числовые значения границ относительной погрешности соответствуют числовым значениям расширенной неопределенности $U_{отн}$, %, при коэффициенте охвата $k = 2$.

2 При внедрении метода в лаборатории подтверждение соответствия установленным требованиям (верификацию) проводят в соответствии с нормативными документами, действующими на территории государства, принявшего стандарт*.

11 Протокол испытаний

11.1 Окончательный результат измерений оформляют в протоколе испытаний согласно ГОСТ ISO/IEC 17025 с указанием настоящего стандарта в виде

$$\overline{X} \pm \Delta, \text{ при } P = 0,95, \tag{9}$$

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов параллельных определений массовой доли сорбиновой и (или) бензойной кислот, мг/кг;

$\pm\Delta$ — границы абсолютной погрешности измерения, мг/кг, вычисляемые по формуле

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \tag{10}$$

где δ — значение относительной погрешности (см. таблицу 4), %.

Числовое значение результата измерения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границы абсолютной погрешности. Значение границ абсолютной погрешности выражают числом, содержащим не более двух значащих цифр.

11.2 Если результат измерений необходимо представить в пересчете на другие химические формы, то значения, полученные по формуле (5), умножают на соответствующие коэффициенты. Значения коэффициентов для наиболее часто встречающихся форм представлены в таблице 5.

Таблица 5 — Коэффициенты пересчета для различных солей

Определяемая форма	Нормируемая форма	Коэффициент пересчета
Бензойная кислота	Бензоат натрия Е211	1,18
	Бензоат калия Е212	1,31
	Бензоат кальция Е213	1,16
Сорбиновая кислота	Сорбат натрия Е201	1,20
	Сорбат калия Е202	1,34
	Сорбат кальция Е203	1,17

* В Российской Федерации действуют Р 50.2.060—2008 «Государственная система обеспечения единства измерений. Внедрение стандартизованных методик количественного химического анализа в лаборатории. Подтверждение соответствия установленным требованиям».

11.3 Если числовое значение результата измерений выходит за нижнюю границу диапазона измерений, то приводят следующую запись: «Массовая доля сорбиновой и (или) бензойной кислот менее 10 мг/кг (менее 0,001 %)».

12 Контроль качества результатов измерений в лаборатории

12.1 Контроль качества результатов измерений осуществляют путем проверки приемлемости результатов определений, получаемых в условиях повторяемости по 10.3, путем поверки и калибровки применяемых средств измерений, а также путем контроля правильности результатов измерений. В качестве средств контроля правильности используют государственные (межгосударственные) стандартные образцы (ГСО) состава сорбиновой и (или) бензойной кислот по ГОСТ 8.315.

12.2 Контроль стабильности результатов измерений осуществляют по ГОСТ ИСО 5725-6—2003 (пункты 6.2.2, 6.2.3), используя методы контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости и среднеквадратического отклонения промежуточной прецизионности с применением контрольных карт Шухарта.

Периодичность контроля и процедуры контроля качества результатов измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории и [2].

13 Требования безопасности

При работе в лаборатории необходимо соблюдать требования пожаро-, взрывобезопасности по ГОСТ 12.1.018, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на применяемые средства измерений и вспомогательное оборудование.

По степени воздействия на организм вредные вещества, используемые при выполнении измерений, относят к классам опасности 2, 3, 4 по ГОСТ 12.1.007.

Содержание используемых вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать установленных ПДК в соответствии с ГОСТ 12.1.005.

Помещение для проведения испытаний должно быть оборудовано вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021.

14 Требования к персоналу

К выполнению измерений и обработке результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или среднеспециальное образование, опыт работы в химической лаборатории, изучившие инструкцию по эксплуатации жидкостного хроматографа и прошедшие инструктаж по технике безопасности при работе с вредными веществами и пожарной безопасности. Внедрение метода в лаборатории следует проводить под руководством специалиста, владеющего методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и имеющего практические навыки в этой области, в соответствии с руководством по качеству.

Приложение А
(справочное)

Мониторинг хроматографических характеристик колонок

А.1 Проверку оптимальности хроматографических условий разделения проводят по хроматограмме градуировочного раствора № 3 (таблица 2) с помощью программного обеспечения в соответствии с таблицей А.1.

Таблица А.1 — Хроматографические показатели эффективности

Компонент	Время удерживания, мин	Число теоретических тарелок N, не менее	Коэффициент асимметрии A_s, не более	Разрешение R_s, не менее
Бензойная кислота	5,36 ± 0,5	19 000	1,9	3,0
Сорбиновая кислота	6,04 ± 0,5	17 000	1,7	

А.2 Время удерживания соответствующего компонента определяют непосредственно из хроматограмм двух параллельных измерений градуировочного раствора № 3. При обнаружении отклонения времен удерживания более чем на 5 % от ранее установленного для любого компонента проводят контроль стабильности градуировочной характеристики согласно 9.3.

При выполнении условий неравенства (3) допускается программное изменение времен удерживания консервантов.

А.3 Колонку считают пригодной, если найденное число теоретических тарелок составляет не менее 90 % от приведенного в таблице А.1.

Если найденное значение менее 90 % от приведенного в таблице А.1, колонка подлежит замене.

А.4 По результатам двух параллельных измерений вычисляют средние значения R_s для пары разделяемых полностью или критически (не полностью) компонентов (n, n + 1). Колонку считают удовлетворительной при значениях R_s n, n + 1 ≥ 1,0.

А.5 Колонку считают удовлетворительной при значении коэффициента асимметрии, не превышающем 2,5.

А.6 Контроль стабильности хроматографической колонки в процессе эксплуатации проводят не реже одного раза в две недели.

Библиография

[1] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 023/2011 — Технический регламент на соковую продукцию из фруктов и овощей

[2] Рекомендации по межгосударственной стандартизации РМГ 76—2014 — Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа

УДК 664.863.001.4:006.354 МКС 67.080.01 NEQ

Ключевые слова: продукты переработки фруктов и овощей, соковая продукция, высокоэффективная жидкостная хроматография, градуировочные растворы, бензойная кислота, сорбиновая кислота, консерванты, определение

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *И.Ю. Литовкиной*

Сдано в набор 14.09.2023. Подписано в печать 19.09.2023. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч-изд. л. 1,90.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ 33332—2023 Продукты переработки фруктов и овощей. Определение массовой доли сорбиновой и бензойной кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

(ИУС № 4 2024 г.)

gost.e-ecolog.ru