МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34228— 2017

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение консервантов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС) при участии Акционерного общества «Мултон» (АО «Мултон») и Общества с ограниченной ответственностью «ПепсиКо Холдингс» (ООО «ПепсиКо Холдингс»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 ноября 2017 г. № 52—2017)

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	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 декабря 2017 г. № 1921-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34228—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2018

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 Сущность метода 2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, посуда и материалы 2
5 Отбор проб 4
6 Подготовка к проведению измерений 4
7 Проведение измерений 7
8 Обработка и оформление результатов измерений 8
9 Контроль качества результатов измерений 10
10 Требования безопасности 10
Приложение А (справочное) Мониторинг хроматографических характеристик колонки 11
Приложение Б (справочное) Примеры хроматограмм 13

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

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение консервантов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Juice products. Determination of preservatives by high performance liquid chromatography method

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на соковую продукцию из фруктов и овощей и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для измерения массовой доли консервантов*:

- 4-гидроксибензойной кислоты;
- бензойной кислоты;
- сорбиновой кислоты;
- метил-4-гидроксибензоата;
- этил-4-гидроксибензоата;
- *н*-пропил-4-гидроксибензоата;
- *н*-бутил-4-гидроксибензоата.

Диапазон измерений массовой концентрации (массовой доли) консервантов составляет от 10,0 до 320 мг/дм^3 (млн$^{-1}$) без учета разбавления пробы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79** Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3117—78 Реактивы. Аммоний уксуснокислый. Технические условия

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

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

---

* Для некоторых ягод (клюква, брусника и др.) характерно природное (естественное) содержание бензойной кислоты в диапазоне 50—250 мг/кг. Данное соединение консервантом не является, что следует учитывать при измерении соков и соковой продукции из данных ягод на подлинность и безопасность.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

Издание официальное

ГОСТ ISO 7886-1—2011 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

ГОСТ 10521—78 Реактивы. Кислота бензойная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ ИСО/МЭК 17025—2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 22967—90 Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26313—2014 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Метод основан на разделении группы консервантов на аналитических обращенно-фазовых хроматографических колонках, заполненных сорбентом С8 с дополнительными функциональными группами («энд-кэпинг»).

Детектирование разделенных консервантов осуществляют с помощью спектрофотометрического детектора или диодноматричного детектора в диапазоне длин волн 190—600 нм.

При необходимости идентификацию консервантов в пробе соковой продукции проводят путем сравнения времен удерживания и спектров поглощения (см. таблицу 1).

Таблица 1

Наименование консерванта	Максимум светопоглощения, нм
4-гидроксибензойная кислота	252,7
Бензойная кислота	226,8
Сорбиновая кислота	259,8
Метил-4-гидроксибензоат	252,6
Этил-4-гидроксибензоат	256,2
н-пропил-4-гидроксибензоат	256,2
н-бутил-4-гидроксибензоат	256,2

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

4.1 Хроматограф жидкостный, снабженный спектрофотометрическим детектором, позволяющим проводить измерения в диапазоне длин волн 190—600 нм, либо диодно-матричным детектором, позволяющим проводить измерения в диапазоне длин волн 190—600 нм, снабженный программным обеспечением для сбора и обработки хроматографических данных. Требования к метрологическим характеристикам хроматографа приведены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 — Метрологические характеристики хроматографа со спектрофотометрическим детектором

Относительное среднеквадратичное отклонение выходного сигнала, %, не более			
по площади пика	по высоте пика	по времени удерживания	по площади пика за 8 ч непрерывной работы
3	3	1,0	4

Таблица 3 — Метрологические характеристики хроматографа с диодно-матричным детектором

Значение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала, е. о. п., не более	Значение дрейфа нулевого сигнала, е. о. п./час, не более	Относительное среднеквадратичное отклонение выходных сигналов, %, не более		Относительное изменение выходного сигнала за 8 ч непрерывной работы, %, не более	
		Время удерживания	Площадь пика	Время удерживания	Площадь пика
$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$1{,}5 \cdot 10^{-3}$	0,3	1,0	2,0	2,0

4.2 Весы с максимальной нагрузкой от 200 до 220 г, с пределом допускаемой погрешности взвешивания ± 0,0001 г.

4.3 Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1, с максимальной нагрузкой от 200 до 220 г, с пределом допускаемой погрешности взвешивания ± 0,001 г.

4.4 Пипетки градуированные 2-1-2-5, 2-1-2-10 и 2-1-2-25 по ГОСТ 29227.

4.5 Колбы мерные 2-25-2, 2-50-2, 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

4.6 Цилиндры мерные 2-го класса точности любого исполнения вместимостью 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

4.7 Стаканы любого типа исполнения 1 вместимостью 50, 100 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 25336.

4.8 Пробирки для центрифугирования вместимостью 2, 10 и 20 $см^3$.

4.9 Вода глубокой очистки или вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

4.10 Фильтры мембранные с размером пор 0,45 и 0,20 мкм.

4.11 Виалы стеклянные вместимостью 2 $см^3$.

4.12 Микрошприц вместимостью 250 $мм^3$ (для ручного ввода пробы).

4.13 Шприц медицинский вместимостью 5 $см^3$ многократного применения по ГОСТ 22967 или однократного применения по ГОСТ ISO 7886-1.

4.14 Центрифуга, обеспечивающая фактор разделения (*g*-фактор) не менее 1000.

4.15 Колонка хроматографическая (250 × 4,6 мм), заполненная обращенно-фазовым сорбентом С8 с дополнительно привитыми изопропиловыми группами ($-C_3H_7$), снабженная защитной предколонкой.

Примечание — Допускается использование хроматографических колонок других типоразмеров, обеспечивающих разделение определяемых консервантов в соответствии с критериями, приведенными в приложении А.

4.16 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

4.17 Кислота сорбиновая с массовой долей основного вещества не менее 99 % или калий сорбиновокислый с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.18 Кислота бензойная по ГОСТ 10521, ч. или бензоат натрия с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.19 Кислота 4-гидроксибензойная с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.20 Метил-4-гидроксибензоат с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.21 Этил-4-гидроксибензоат с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.22 *н*-пропил-4-гидроксибензоат с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.23 *н*-бутил-4-гидроксибензоат с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.24 Ацетонитрил для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), оптической плотностью при 200 нм не более 0,012 е. о. п./см.

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

4.26 Аммоний уксуснокислый по ГОСТ 3117, х. ч.

4.27 Иономер (pH-метр) с пределом абсолютной погрешности измерений ± 0,1 ед. pH.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками не ниже вышеуказанных, вспомогательного оборудования, посуды, материалов с техническими характеристиками не ниже вышеуказанных и химических реактивов аналогичной или более высокой квалификации.

5 Отбор проб

Отбор проб соковой продукции проводят по ГОСТ 26313.

6 Подготовка к проведению измерений

6.1 Общие положения

Разделение группы консервантов происходит при температуре окружающей среды в градиентном режиме с использованием следующих подвижных фаз:

- раствор уксуснокислого аммония молярной концентрации 0,01 моль/дм^3 (pH = 4,2 ед. pH);
- ацетонитрил.

Для продления срока службы и более эффективной работы колонки используют систему защиты [in-line-фильтры на выходе из насоса и предколонку, периодическую промывку (не реже одного-двух раз в неделю) колонки смесью ацетонитрил — вода глубокой очистки (объемное соотношение 4:1) или ацетонитрилом (в зависимости от числа проведенных измерений и концентрации органических веществ, прошедших через колонку) в течение 1—3 ч с предварительной промывкой всей системы водой. Операции заполнения системы растворителями и промывка отдельных частей и системы в целом выполняют в соответствии с руководствами по эксплуатации оборудования.

6.2 Приготовление рабочих растворов

6.2.1 Приготовление раствора уксуснокислого аммония молярной концентрации 0,01 моль/дм^3 с pH 4,2 (Подвижная фаза А)

(0,770 ± 0,001) г уксуснокислого аммония взвешивают в стакане вместимостью 100 см^3, растворяют в приблизительно 80 см^3 воды глубокой очистки, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят водой до метки и перемешивают. Раствор переносят в мерный стакан вместимостью 1000 см^3 и доводят pH до значения 4,2 ед. pH ледяной уксусной кислотой, регистрируя показания иономером. Полученный раствор дегазируют под вакуумом в течение 15 мин с одновременной фильтрацией через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (см. 4.10).

Раствор используют в течение трех дней при условии визуального отсутствия нерастворимых веществ. Перед использованием элюента в последующие дни его предварительно дегазируют под вакуумом в течение 15 мин с одновременной фильтрацией через фильтр с диаметром пор 0,20 мкм (см. 4.10).

Подвижную фазу приготавливают в объеме, необходимом для проведения серии измерений.

6.3 Приготовление градуировочных растворов

Градуировочные растворы консервантов готовят в соответствии с таблицей 4.

Таблица 4

№ градуировочного раствора	Компонент	Вместимость мерной колбы, см^3	Способ приготовления	Массовая концентрация, мг/дм^3
6	4-гидроксибензойная кислота	100	Взвешивают (0,0320 ± 0,0001) г каждого из реактивов в стакане вместимостью 100 см^3, растворяют в 50 см^3 ацетонитрила, количественно переносят в мерную колбу и доводят до 100 см^3 водой	320
	Бензойная кислота			
	Сорбиновая кислота			
	Метил-4-гидроксибензоат			
	Этил-4-гидроксибензоат			
	н-Пропил-4-гидроксибензоат			
	н-Бутил-4-гидроксибензоат			

Окончание таблицы 4

№ градуировочного раствора	Компонент	Вместимость мерной колбы, $см^3$	Способ приготовления	Массовая концентрация, $мг/дм^3$
5	4-гидроксибензойная кислота	50	В мерную колбу приливают 25 $см^3$ раствора № 6, доводят до метки водой и перемешивают	160
	Бензойная кислота			
	Сорбиновая кислота			
	Метил-4-гидроксибензоат			
	Этил-4-гидроксибензоат			
	н-Пропил-4-гидроксибензоат			
	н-Бутил-4-гидроксибензоат			
4	4-гидроксибензойная кислота	50	В мерную колбу приливают 12,5 $см^3$ раствора № 6, доводят до метки водой и перемешивают	80
	Бензойная кислота			
	Сорбиновая кислота			
	Метил-4-гидроксибензоат			
	Этил-4-гидроксибензоат			
	н-Пропил-4-гидроксибензоат			
	н-Бутил-4-гидроксибензоат			
3	4-гидроксибензойная кислота	50	В мерную колбу приливают 6,25 $см^3$ раствора № 6, доводят до метки водой и перемешивают	40
	Бензойная кислота			
	Сорбиновая кислота			
	Метил-4-гидроксибензоат			
	Этил-4-гидроксибензоат			
	н-Пропил-4-гидроксибензоат			
	н-Бутил-4-гидроксибензоат			
2	4-гидроксибензойная кислота	50	В мерную колбу приливают 3,12 $см^3$ раствора № 6, доводят до метки водой и перемешивают	20
	Бензойная кислота			
	Сорбиновая кислота			
	Метил-4-гидроксибензоат			
	Этил-4-гидроксибензоат			
	н-Пропил-4-гидроксибензоат			
	н-Бутил-4-гидроксибензоат			
1	4-гидроксибензойная кислота	25	В мерную колбу приливают 3,12 $см^3$ раствора № 4, доводят до метки водой и перемешивают	10
	Бензойная кислота			
	Сорбиновая кислота			
	Метил-4-гидроксибензоат			
	Этил-4-гидроксибензоат			
	н-Пропил-4-гидроксибензоат			
	н-Бутил-4-гидроксибензоат			

Раствор № 4 рекомендуется использовать в качестве одного из контрольных растворов при ежедневных измерениях.

Срок хранения раствора № 4 — не более трех дней при температуре (20 ± 5) °С или не более 1 мес при температуре от 2 до 6 °С.

Растворы № 1, 2, 3, 5 и 6 используют свежеприготовленными.

6.4 Подготовка хроматографа к работе

Включение и подготовку хроматографа к работе, а также выключение хроматографа по окончании работы осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации.

6.5 Условия хроматографического анализа

При проведении хроматографического анализа создают и поддерживают следующие условия:

- температура колонки — температура окружающей среды;
- рабочая длина волны спектрофотометрического детектора — 235 нм или диапазон длин волн для диодно-матричного детектора — 190—600 нм;
- объем вводимой пробы — от 5 до 20 мм^3;
- режим элюирования — градиентный, скорость потока — 1,0 см^3/мин (см. таблицу 5).

Таблица 5 — Параметры градиентного режима

Время, мин	Объемная доля элюента А (см. 6.2.1), %	Объемная доля элюента В (ацетонитрил), %
0	75	25
8,5	75	25
9	65	35
16	65	35
17	55	45
26	55	45
27	75	25
32	75	25

Мониторинг состояния хроматографической колонки проводят в соответствии с приложением А. Допускается изменение скорости потока и параметров градиентного режима в соответствии с указаниями изготовителя колонки при условии выполнения критериев, приведенных в приложении А.

6.6 Градуировка хроматографа

Градуировку хроматографа проводят в соответствии с руководством по эксплуатации и руководством пользователя программного обеспечения с использованием градуировочных растворов (см. 6.3). Регистрируют по две хроматограммы каждого градуировочного раствора, определяют площадь пиков определяемых компонентов на хроматограммах градуировочных растворов и устанавливают градуировочную характеристику в виде линейной зависимости площади пика соответствующего компонента S, е. о. п. · с* и его массовой концентрации c, мг/дм^3

$$c = k \cdot S, \tag{1}$$

где k — градуировочный коэффициент, мг/дм^3 · (е. о. п. · с)$^{-1}$.

Градуировочный коэффициент k, мг/дм^3, вычисляют с использованием программного обеспечения к хроматографу или по методу наименьших квадратов, принимая свободный член в уравнении регрессии равным нулю, по формуле

$$k = \frac{\sum (S_i \cdot c_i)}{\sum S_i^2}, \tag{2}$$

где S_i — площадь пика соответствующего консерванта при измерении i-го градуировочного раствора, е. о. п. · с;

c_i — массовая концентрация консерванта при измерении i-го градуировочного раствора, мг/дм^3.

* е. о. п. — единицы оптической плотности.

Градуировку проводят при смене оборудования, колонок, условий хроматографического анализа или при выявлении несоответствий при оперативном контроле качества измерений или при внутреннем аудите.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят, используя градуировочные растворы № 4 и 6 перед проведением измерений.

Результаты контроля стабильности градуировочной характеристики признаются удовлетворительными при выполнении условия

$$\left|X_{изм} - C_{ст}\right| \le 0{,}01 \cdot G \cdot C_{ст}, \quad (3)$$

где $X_{изм}$ — результат измерения массовой концентрации консерванта в контрольных растворах, мг/дм^3;

$C_{ст}$ — фактическое значение массовой концентрации консерванта в контрольных растворах, мг/дм^3;

G — норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, %.

Во всем диапазоне градуировочной характеристики G = 4,5 %. Если условие (3) не выполняется, градуировочную характеристику устанавливают заново во всем диапазоне измерений.

7 Проведение измерений

7.1 Подготовка проб для измерений

7.1.1 Осветленные соки, нектары и сокосодержащие напитки, не содержащие нерастворимых в воде веществ, анализируют при двукратном разбавлении подвижной фазой А (см. 6.2.1). Для этого пипеткой отбирают 25 см^3 пробы, помещают в мерную колбу вместимостью 50 см^3 и доводят до метки подвижной фазой. Приготовленный раствор перемешивают, после чего через иглу отбирают в медицинский шприц аликвоту раствора, заменяют иглу на дисковый фильтр с размером пор 0,20 мкм и отфильтровывают в виалу 1—1,5 см^3 приготовленного раствора.

Приготовленный раствор используют для хроматографического анализа (см. 7.2.3).

7.1.2 Соки, нектары и сокосодержащие напитки с мякотью или содержащие нерастворимые в воде вещества разбавляют подвижной фазой А (см. 6.2.1) в два раза, для этого пипеткой отбирают 25 см^3 пробы, помещают в мерную колбу вместимостью 50 см^3 и доводят до метки подвижной фазой А. Затем пробу центрифугируют со скоростью 9000 об/мин в течение 5 мин или не менее 3000 об/мин в течение 15 мин. После этого аккуратно отбирают в медицинский шприц через иглу ориентировочно 2 см^3 полученного раствора, заменяют иглу на дисковый фильтр с размером пор 0,45 мкм и отфильтровывают в виалу 1 см^3 этого раствора.

Приготовленный раствор используют для хроматографического анализа (см. 7.2.3).

7.1.3 Концентрированные соки и пюре различных фруктов, ягод и овощей разбавляют раствором элюента в пять раз весовым методом. Для этого в стакане вместимостью 50 см^3 взвешивают 5 г пробы концентрированного сока с погрешностью ± 0,001 г и добавляют приблизительно 20 г элюента также с погрешностью ± 0,001 г, тщательно перемешивают. Затем пробу центрифугируют со скоростью 9000 об/мин в течение 5 мин или не менее 3000 об/мин в течение 15 мин. После этого аккуратно отбирают в медицинский шприц через иглу примерно 2 см^3 полученного раствора, заменяют иглу на дисковый фильтр с размером пор 0,45 мкм и отфильтровывают в виалу 1 см^3 этого раствора.

Приготовленный раствор используют для хроматографического анализа (см. 7.2.3).

7.1.4 При подготовке пробы по 7.1.3 результат измерений выражают в единицах массовой доли (млн$^{-1}$), а при подготовке пробы по 7.1.1, 7.1.2 — в единицах массовой концентрации (мг/дм^3).

7.2 Порядок проведения измерений

7.2.1 Включение и вывод хроматографической системы на рабочий режим, включая кондиционирование колонки, проводят в соответствии с руководствами по эксплуатации оборудования, колонки — с учетом 6.1 и 6.5.

7.2.2 Выключение хроматографической системы после выполнения измерений проводят в соответствии с руководством по эксплуатации оборудования и руководством пользователя программно-аппаратным комплексом сбора и обработки данных.

Примеры хроматограмм градуировочных растворов и проб приведены в приложении Б.

7.2.3 Подготовленную по 7.1.1—7.1.3 пробу дозируют в хроматограф и регистрируют хроматограмму в тех же условиях, в которых были зарегистрированы хроматограммы градуировочных растворов (см. 6.5, 6.6). На полученных хроматограммах идентифицируют пики определяемых компонентов по спектрам поглощения (см. таблицу 1) и совпадению времен удерживания в градуировочных растворах и пробах при ширине окна идентификации 5 %. Используя значения площадей пиков, вычисляют значения массовой концентрации идентифицированных консервантов, используя градуировочные характеристики, установленные по 6.6.

8 Обработка и оформление результатов измерений

8.1 Если подготовку пробы проводили по 7.1.1 или 7.1.2, то массовую концентрацию консервантов в пробе C, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C = \frac{c_{изм} \cdot V_2}{V_1}, \quad (4)$$

где $c_{изм}$ — измеренное (см. 7.2.3) значение массовой концентрации соответствующего консерванта в пробе, подготовленной по 7.1.1 или 7.1.2, мг/дм^3;

V_2 — объем мерной колбы, взятой для разбавления пробы, см^3;

V_1 — объем пробы, отобранный для анализа см^3.

За результат измерений массовой концентрации консерванта в пробе принимают среднеарифметическое значение $\bar{C}$, мг/дм^3, результатов двух параллельных определений C_1 и C_2, мг/дм^3, при выполнении условия

$$100 \cdot \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \le r_{отн}, \quad (5)$$

где $r_{отн}$ — предел повторяемости (см. таблицу 6), %.

8.2 Если подготовку пробы проводили по 7.1.3, то массовую долю консервантов в пробе X, млн$^{-1}$, вычисляют по формуле

$$X = \frac{X_{изм} \cdot m_{общ}}{m_X}, \quad (6)$$

где $X_{изм}$ — значение массовой доли соответствующего консерванта в растворе, подготовленном по 7.1.3, принимаемое численно равным измеренному по 7.2.3 значению массовой концентрации, млн$^{-1}$;

$m_{общ}$ — масса навески анализируемой пробы с добавкой подвижной фазы (см. 7.1.3), г;

m_X — масса анализируемой пробы, г.

За результат измерений массовой доли консервантов в пробе принимают среднеарифметическое значение $\bar{X}$, млн$^{-1}$, результатов двух параллельных измерений X_1 и X_2, млн$^{-1}$, при выполнении условия

$$100 \cdot \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \le r_{отн}, \quad (7)$$

где $r_{отн}$ — предел повторяемости (см. таблицу 6), %.

При невыполнении условий (5) и (7) получают еще два результата измерений в соответствии с разделом 7 и затем используют методы проверки приемлемости четырех результатов параллельных измерении и установления результата измерений согласно ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

8.3 При получении результатов измерений в двух лабораториях за результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов измерений, полученных в этих лабораториях $\bar{C}_{1лаб}$ и $\bar{C}_{2лаб}$, мг/дм^3, или $\bar{X}_{1лаб}$ и $\bar{X}_{2лаб}$, млн$^{-1}$, при выполнении условий

$$200 \cdot |\bar{C}_{1лаб} - \bar{C}_{2лаб}| \le CD_{0,95} \cdot (\bar{C}_{1лаб} + \bar{C}_{2лаб}), \quad (8)$$

или

$$200 \cdot |\bar{X}_{1лаб} - \bar{X}_{2лаб}| \le CD_{0,95} \cdot (\bar{X}_{1лаб} + \bar{X}_{2лаб}), \quad (9)$$

где $CD_{0,95}$ — значение предела воспроизводимости.

Значение $CD_{0,95}$ вычисляют с использованием пределов повторяемости ($r_{отн}$, %) и воспроизводимости ($R_{отн}$, %), приведенных в таблице 6, по формуле

$$CD_{0,95} = \sqrt{R_{отн}^2 - r_{отн}^2 \cdot \left(1 - \frac{1}{2 \cdot n_1} - \frac{1}{2 \cdot n_2}\right)}, \quad (10)$$

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

При невыполнении условия (8) или (9) для проверки приемлемости в условиях воспроизводимости каждая лаборатория должна выполнить процедуры согласно ГОСТ ИСО 5725-6 (пункты 5.3.3, 5.3.4).

Таблица 6 — Пределы повторяемости и воспроизводимости

Определяемый консервант	Диапазон измерения массовой концентрации (массовой доли), мг/дм^3 (млн$^{-1}$)	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных измерений) $r_{отн}$, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами единичных измерений, полученных в двух лабораториях) $R_{отн}$, %
4-гидроксибензойная кислота	10—320	5	10
Бензойная кислота			
Сорбиновая кислота			
Метил-4-гидроксибензоата			
Этил-4-гидроксибензоата			
н-пропил-4-гидроксибензоата			
н-бутил-4-гидроксибензоата			

8.4 Результаты измерений регистрируют в протоколе испытаний, который оформляют в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО/МЭК 17025. При этом протокол испытаний должен содержать ссылку на настоящий стандарт с указанием метода подготовки пробы.

Результаты измерений массовой концентрации консервантов представляют в виде

$$\bar{C} \pm \Delta_C, \quad (11)$$

где $\bar{C}$ — результат измерений массовой концентрации консервантов (см. 8.1), мг/дм^3;

Δ_C — границы абсолютной погрешности измерений массовой концентрации консервантов при доверительной вероятности P = 0,95, мг/дм^3, вычисляемые по формуле

$$\Delta_C = 0{,}01 \cdot \delta \cdot \bar{C}, \quad (12)$$

где δ — границы относительной погрешности измерений массовой концентрации консервантов (см. таблицу 7), %.

Результаты измерений массовой доли консервантов представляют в виде

$$\bar{X} \pm \Delta_X, \quad (13)$$

где $\bar{X}$ — результат измерений массовой доли консервантов (см. 8.2), млн$^{-1}$;

Δ_X — границы абсолютной погрешности измерений массовой доли консервантов при доверительной вероятности P = 0,95, млн$^{-1}$, вычисляемые по формуле

$$\Delta_X = 0{,}01 \cdot \delta \cdot \bar{X}, \quad (14)$$

где δ — границы относительной погрешности измерений массовой доли консервантов (см. таблицу 7), %.

Численное значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и абсолютное значение показателя точности измерений, вычисленное по формуле (12) или (14). Абсолютное значение показателя точности измерений представляют двумя значащими цифрами, если первая цифра не превышает трех. В остальных случаях оставляют одну значащую цифру.

Таблица 7 — Диапазон измерений, относительные значения показателей повторяемости, воспроизводимости, точности методики при доверительной вероятности $P = 0,95$

Определяемый консервант	Диапазон измерения массовой концентрации, (массовой доли), мг/дм^3 (млн$^{-1}$)	Относительное стандартное отклонение сходимости (повторяемости) σ_r, %	Относительное стандартное отклонение воспроизводимости σ_R, %	Показатель точности измерений (границы относительной погрешности измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$*) $\pm \delta$, %
4-гидроксибензойная кислота	10—320	2	4	9
Бензойная кислота				
Сорбиновая кислота				
Метил-4-гидроксибензоата				
Этил-4-гидроксибензоата				
н-пропил-4-гидроксибензоата				
н-бутил-4-гидроксибензоата				

* Численные значения границ относительной погрешности соответствуют численным значениям расширенной неопределенности (в относительных единицах) $U_{отн}$ при коэффициенте охвата $k = 2$.

9 Контроль качества результатов измерений

Контроль качества результатов измерений в лаборатории предусматривает проведение контроля стабильности результатов измерений с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6 (раздел 6).

Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025 (пункт 4.2).

10 Требования безопасности

10.1 Условия безопасного проведения работ

При проведении измерений следует соблюдать требования:

- пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004;
- безопасности при работе с вредными веществами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;
- электробезопасности — по ГОСТ 12.1.019 и в соответствии с руководствами по эксплуатации используемого оборудования.

10.2 Требования к квалификации операторов

К выполнению испытаний и обработке результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное образование, опыт работы в химической лаборатории и изучившие инструкцию по эксплуатации жидкостного хроматографа. Первое применение метода в лаборатории должно проводиться под руководством специалиста, владеющего теорией высокоэффективной жидкостной хроматографии и имеющего практические навыки в этой области.

Приложение А
(справочное)

Мониторинг хроматографических характеристик колонки

А.1 Проверку оптимальности хроматографических условий (хроматографических характеристик колонки) проводят по хроматограмме градуировочного раствора № 4 с помощью программного обеспечения или вручную по показателям в соответствии с таблицами А.1 и А.2.

Таблица А.1* — Времена удерживания, число теоретических тарелок и коэффициент асимметрии хроматографических пиков

Компонент	Время удерживания, мин	Число теоретических тарелок N	Коэффициент ассиметрии A_S
4-гидроксибензойная кислота	4,22 ± 0,30	12 638	1,88
Бензойная кислота	5,36 ± 0,25	19 080	1,91
Сорбиновая кислота	6,04 ± 0,25	17 358	1,74
Метил-4-гидроксибензоата	8,07 ± 0,25	15 471	1,55
Этил-4-гидроксибензоата	11,45 ± 0,20	14 071	1,41
н-пропил-4-гидроксибензоата	18,12 ± 0,30	12 829	1,28
н-бутил-4-гидроксибензоата	30,81 ± 0,45	12 520	1,25

Таблица А.2 — Разрешение хроматографических пиков консервантов

Компоненты	Разрешение R_S
4-гидроксибензойная кислота/бензойная кислота	6,36
Бензойная кислота/сорбиновая кислота	3,33
Сорбиновая кислота/метил-4-гидроксибензоат	3,45
Метил-4-гидроксибензоат/этил-4-гидроксибензоат	9,88
Этил-4-гидроксибензоат/*н*-пропил-4-гидроксибензоата	1,28
н-пропил-4-гидроксибензоата/*н*-бутил-4-гидроксибензоат	1,44

А.2 Время удерживания соответствующего компонента определяют непосредственно из хроматограмм двух параллельных измерений одной пробы. В случае обнаружения отклонения времен удерживания более чем на 5 % от ранее установленного для любого консерванта проводят контроль стабильности градуировочной характеристики согласно 6.6.

В случае невыполнения условий неравенства (3) заново устанавливают градуировочную характеристику во всем диапазоне измерений. В случае выполнения условий неравенства (3) допускается программное изменение времен удерживания консервантов.

А.3 Число теоретических тарелок рассчитывают по формуле

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{W_b}\right)^2 = 5{,}545 \cdot \left(\frac{t_R}{W_h}\right)^2, \qquad (А.1)$$

где 16 и 5,545 — множители, вытекающие из свойств кривой нормального распределения;
t_R — время удерживания пика, мин;
W_b — ширина пика у основания, мин;
W_h — ширина пика на его полувысоте, мин.

* Значения получены при использовании хроматографической колонки Zorbax SB C 8 фирмы Agilent. Информация является рекомендуемой, приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

Колонка считается удовлетворительной, если найденное число теоретических тарелок составляет не менее 90 % от приведенного в таблице А.1.

А.4 Разрешение R_s вычисляют по формуле

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{(W_{b1} + W_{b2})}, \quad (A.2)$$

где t_{R2}, t_{R1} — времена удерживания разделяемых полностью или критически (не полностью) компонентов, мин;

W_{b1}, W_{b2} — ширина пиков у основания, мин.

По результатам двух параллельных измерений вычисляют средние значения R_s для пары разделяемых полностью или критически (не полностью) компонентов (n, n + 1). Колонка считается удовлетворительной при значениях R_s n, $n + 1 \geq 1{,}0$.

А.5 Коэффициент асимметрии A_s вычисляют по формуле

$$A_s = \frac{A}{B}, \quad (A.3)$$

где A — «левый» отрезок, образованный на горизонтальной линии, проведенной на высоте 10 % от основания пика и разделенной вертикалью, опущенной из вершины пика, мин;

B — «правый» отрезок, образованный на горизонтальной линии, проведенной на высоте 10 % от основания пика и разделенной вертикалью, опущенной из вершины пика, мин.

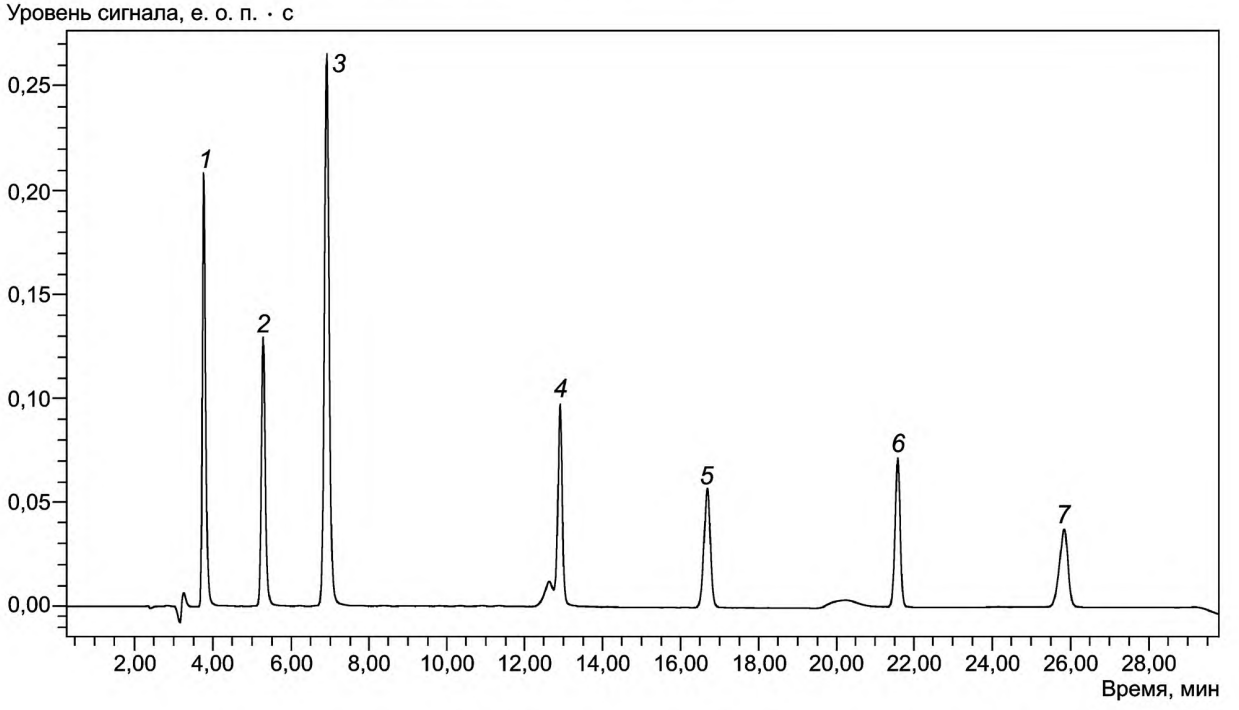
А.6 Колонку считают удовлетворительной при значении коэффициента асимметрии, не превышающем 2,5.

А.7 Контроль стабильности хроматографической колонки в процессе эксплуатации проводят не реже одного раза в две недели.

Приложение Б
(справочное)

Примеры хроматограмм

Б.1 Примеры хроматограмм приведены на рисунках Б.1—Б.3.



1 — 4-гидроксибензойная кислота; *2* — бензойная кислота; *3* — сорбиновая кислота; *4* — метил-4-гидроксибензоат; *5* — этил-4-гидроксибензоат; *6* — *н*-пропил-4-гидроксибензоат; *7* — *н*-бутил-4-гидроксибензоат

Рисунок Б.1 — Хроматограмма градуировочного раствора консервантов (массовая доля каждого консерванта 40 мг/дм^3)

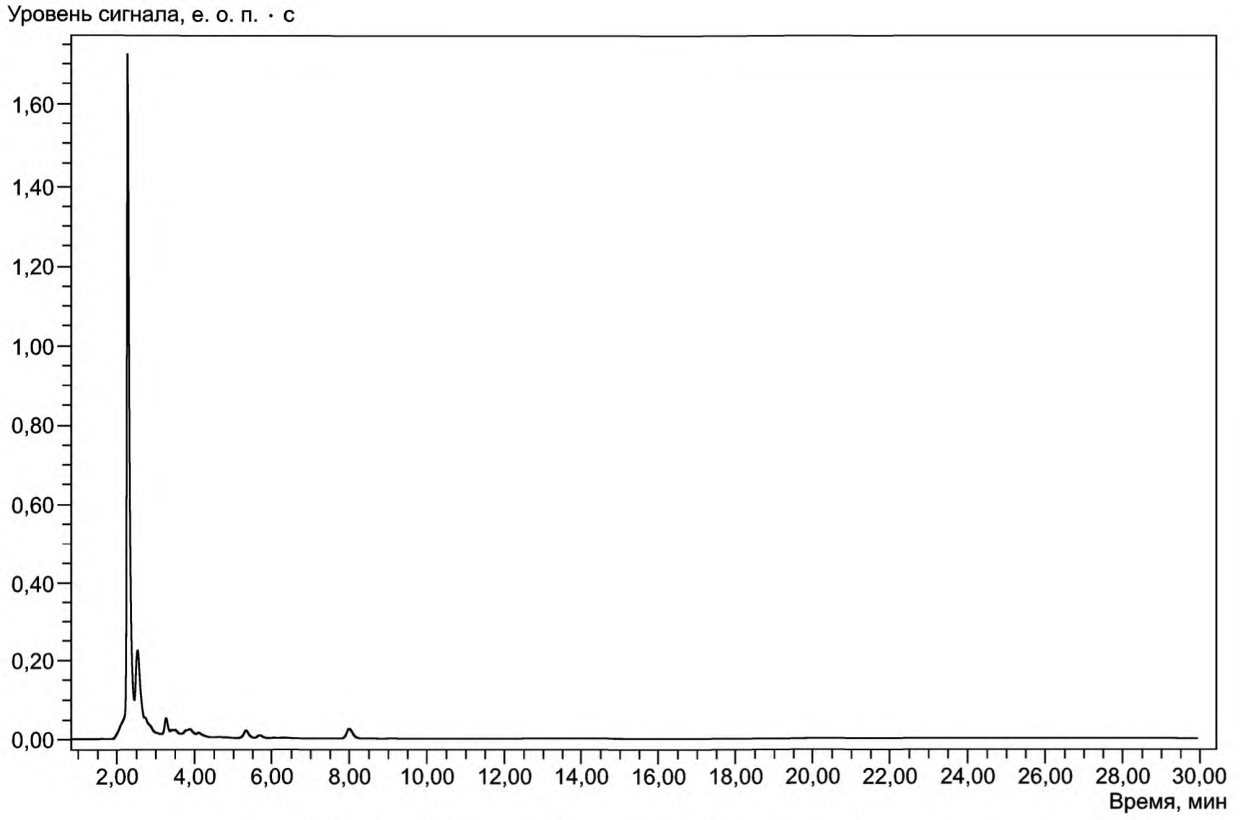
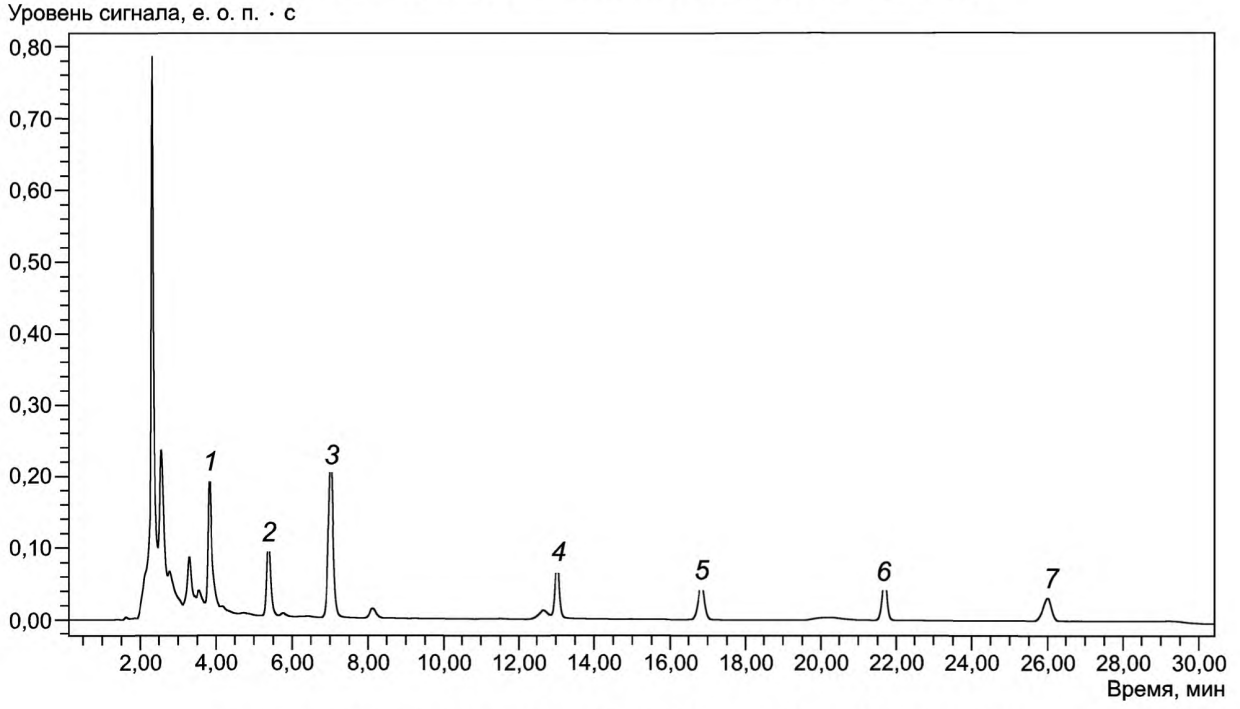


Рисунок Б.2 — Хроматограмма концентрированного яблочного пюре



1 — 4-гидроксибензойная кислота; *2* — бензойная кислота; *3* — сорбиновая кислота;
4 — метил-4-гидроксибензоат; *5* — этил-4-гидроксибензоат; *6* — *н*-пропил-4-гидроксибензоат;
7 — *н*-бутил-4-гидроксибензоат

Рисунок Б.3 — Хроматограмма концентрированного яблочного пюре с добавкой смеси консервантов (массовая доля каждого консерванта 40 мг/кг)

УДК 543.544.52:664.863:006.35 МКС 67.080 67.080.01 Н69

Ключевые слова: продукция соковая, консерванты, высокоэффективная жидкостная хроматография, массовая концентрация, массовая доля

БЗ 9—2017/275

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Л.В. Софейчук*

Сдано в набор 13.12.2017. Подписано в печать 26.01.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,33. Уч.-изд. л. 2,10. Тираж 28 экз. Зак. 2701.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандартов

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001, Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru