МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ EN 16155— 2015

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение сукралозы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(EN 16155:2012, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным бюджетным государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования» (ФБГНУ «ВНИИТеК») на основе аутентичного перевода на русский язык европейского регионального стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 29 мая 2015 г. № 77-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	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 сентября 2015 г. № 1288-ст межгосударственный стандарт ГОСТ EN 16155—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен европейскому региональному стандарту EN 16155:2012 Foodstuffs – Determination of sucralose – High performance liquid chromatographic method (Продукты пищевые. Определение сукралозы. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии)

Международный стандарт разработан техническим комитетом CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы», секретариатом которого считается DIN (Германия).

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры европейского регионального стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и европейского регионального стандарта, на который дана ссылка, имеются в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным европейским региональным стандартам приведены в дополнительном приложении ДА.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

6 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

© Стандартинформ, 2016

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

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 ПИЩЕВЫЕ

Определение сукралозы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Foodstuffs. Determination of sucralose by high performance liquid chromatographic method

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения сукралозы в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием колонки с обращенно-фазовым сорбентом, водного раствора метанола в качестве подвижной фазы и рефрактометрического детектирования. Метод прошел валидацию путем двух межлабораторных испытаний, при этом анализ сукралозы проводили в пробах кетчупа, майонеза, бисквита, йогурта, растворимых сухих напитков и конфет с добавлением сукралозы от 83 мг/кг (млн$^{-1}$) до 737 мг/кг (млн$^{-1}$).

Подробная информация о результатах валидации метода содержится в приложении А.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходим следующий ссылочный документ. В случае датированной ссылки применяют только указанное издание.

EN ISO 3696:1995, Water for analytical laboratory use – Specification and test methods (ISO 3696:1987) (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний).

3 Сущность метода

Пробы в зависимости от консистенции либо растворяют в воде, либо разбавляют водой и при необходимости фильтруют или осветляют модифицированными растворами Карреза. Затем их подвергают очистке методом твердофазной экстракции, элюирование проводят смесью метанола с водой.

Содержание сукралозы определяют с помощью ВЭЖХ с использованием колонки с обращенно-фазовым сорбентом, водного раствора метанола в качестве подвижной фазы и последующего рефрактометрического детектирования.

В качестве альтернативы может быть использован испарительный детектор по светорассеянию. Для количественного определения применяют метод внешнего стандарта. За содержание сукралозы в пищевом продукте принимают содержание 1,6-дихлор-1,6-дидезокси-β-D-фруктофуранозил-4-хлор-4-дезокси-α-D-галактопиранозида, определенное в соответствии с методом, приведенным в настоящем стандарте.

4 Реактивы

Для проведения испытания при отсутствии особо оговоренных условий используют только реактивы гарантированной аналитической чистоты и воду, не ниже первой степени чистоты по EN ISO 3696. Используемые растворители по степени чистоты должны быть пригодны для применения в анализе с помощью ВЭЖХ, если не оговорены другие условия. Допускается использование доступных для приобретения готовых растворов при условии, что их характеристики не отличаются от приведенных ниже.

4.1 Сукралоза, $C_{12}H_{19}Cl_3O_8$, M = 397,63 г/моль.

4.2 Калий железистосинеродистый (II), $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3\,H_2O$.

4.3 Цинк азотнокислый, $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$.

4.4 Метанол для ВЭЖХ.

Издание официальное

4.5 Основной раствор сукралозы ρ_{Suc} массовой концентрации приблизительно 1000 мг/дм^3

Навеску сукралозы массой приблизительно 100 мг, взвешенную с точностью до 0,1 мг, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в небольшом количестве воды и доводят содержимое до метки водой. Свежий раствор готовят ежедневно. Следует учитывать содержание влаги и чистоту стандартного вещества, из которого готовят раствор.

4.6 Градуировочные растворы массовой концентрации (ρ_{Suc}) от 20 мг/дм^3 до 100 мг/дм^3

Концентрации градуировочных растворов, приведенные ниже, носят рекомендательный характер и могут быть изменены в зависимости от чувствительности прибора и диапазона определяемых концентраций. Следует стараться не заходить за линейную область системы детектора.

Готовят не менее пяти градуировочных растворов из основного раствора сукралозы по 4.5 разбавлением его таким образом, чтобы получились растворы с концентрацией сукралозы, например, 20, 40, 60, 80 и 100 мг/дм^3. Готовят свежие растворы ежедневно в день анализа.

4.7 Модифицированные растворы Карреза

4.7.1 Раствор А [калий железистосинеродистый (II)]

Разбавляют 53,45 г калия железистосинеродистого (II) по 4.2 водой до 500 см^3.

4.7.2 Раствор В (цинк азотнокислый)

148,75 г цинка азотнокислого по 4.3 разбавляют водой до 500 см^3.

4.8 Подвижная фаза для ВЭЖХ

Смешивают одну объемную часть метанола по 4.4 с тремя объемными частями воды.

5 Основное и вспомогательное оборудование

При проведении испытания используют обычное оборудование, в частности, перечисленное ниже.

5.1 Мембранный фильтр для фильтрования пробы с диаметром пор не более 0,45 мкм.

5.2 Фильтр складчатый.

5.3 Колонка (патрон) для твердофазной экстракции, заполненная обращенно-фазовым сорбентом с привитыми октадецильными группами С-18, массой 500 мг.

5.4 Система для ВЭЖХ в указанной ниже комплектации:

- насос для подачи подвижной фазы;
- устройство для ввода проб;
- рефрактометрический детектор с кюветой с контролируемой температурой или как альтернатива испарительный детектор по светорассеянию;
- термостат колоночный;
- система обработки данных.

5.5 Колонка для ВЭЖХ аналитическая, длиной 250 мм с внутренним диаметром 4 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом (С18) с привитыми октадецильными группами, например Lichrospher®[1)] 100 RP-18, диаметром частиц 5 мкм, либо аналогичная им колонка.

Для защиты аналитической колонки используют предколонку, заполненную тем же сорбентом.

6 Процедура проведения испытания

6.1 Подготовка пробы

Гомогенизируют испытуемую пробу подходящим способом. Например, пробы жидких продуктов перемешивают, пробы твердых продуктов, таких как конфеты, измельчают, а пробы продуктов, таких как жевательная резинка, подвергают глубокому замораживанию и затем измельчают. Пробы густых жидких продуктов, таких как йогурт или кетчуп, гомогенизируют перемешиванием и при необходимости осветляют модифицированными растворами Карреза по 4.7.

[1)] Lichrospher® 100 RP-18 приведена как пример подходящей колонки, имеющейся в продаже. Эта информация дана для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой CEN данного продукта.

Некоторые пробы требуют предварительной подготовки с использованием патрона для твердофазной экстракции.

6.2 Приготовление растворов пробы для анализа

6.2.1 Растворимые в воде продукты (например, карамель и аналогичные продукты)

Измельченную пробу для анализа массой 5 г, взвешенную с точностью до 1 мг, растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 50 $см^3$ и доводят содержимое водой до метки. Если раствор мутный, фильтруют через мембранный фильтр.

6.2.2 Продукты, не полностью растворимые в воде (например, пирожные, жевательная резинка, йогурт, кетчуп, майонез)

Измельченную пробу массой 5 г, взвешенную с точностью до 1 мг, помещают в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$. В колбу добавляют около 25 $см^3$ воды, после чего содержимое в колбе перемешивают в течение 30 мин при помощи магнитной мешалки при температуре от 40 °С до 60 °С либо обрабатывают в ультразвуковой бане. В растворы проб, содержащих белок, вносят по 1 $см^3$ каждого из модифицированных растворов Карреза (4.7.1 и 4.7.2). Колбы с содержимым встряхивают после добавления каждого раствора. Затем полученные растворы охлаждают до комнатной температуры, и объем раствора в колбе доводят водой до метки. Полученный раствор фильтруют сначала через складчатый фильтр, а затем, если раствор остается мутным, фильтруют через мембранный фильтр.

6.2.3 Проведение твердофазной экстракции

Колонку для твердофазной экстракции по 5.3 кондиционируют путем пропускания через нее метилового спирта и воды порциями по 5 $см^3$ каждая. Вводят по 5 $см^3$ раствора пробы по 6.2.1 или 6.2.2 в кондиционированные колонки. Затем патроны промывают водой тремя порциями по 5 $см^3$ каждая, не допуская при этом попадания воздуха в патрон. Далее сукралозу элюируют из патрона 5 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ по 4.8 в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ до полного освобождения патрона от растворителя, водой доводят объем в колбе до метки. Фильтруют элюат через мембранный фильтр по 5.1 во флаконы для ВЭЖХ.

6.3 Анализ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Приведенные ниже параметры обеспечивают удовлетворительное качество хроматографического анализа при использовании колонки по 5.5:

- объем инжекции до 100 $мм^3$;
- подвижная фаза по 4.8;
- температура термостата колонки 35 °С;
- температура рефрактометрического детектора 30 °С;
- скорость потока подвижной фазы около 1,2 $см^3$/мин.

6.4 Идентификация

Вводят аликвоту анализируемого раствора в систему ВЭЖХ и проводят хроматографический анализ, соблюдая параметры, рекомендованные в 6.3. Пик сукралозы на хроматограмме раствора пробы идентифицируют по совпадению его времени удерживания со временем удерживания пика аналита на хроматограмме градуировочного раствора сукралозы. Кроме того, идентификацию пика аналита можно также проводить путем сравнения хроматограмм раствора пробы с добавлением и без добавления стандартного раствора аналита.

6.5 Количественное определение

Массовую концентрацию анализируемого вещества в растворе пробы рассчитывают, исходя из интегрированной площади пика сукралозы на хроматограмме раствора пробы и соотношения между площадью пика и массовой концентрацией аналита в стандартном растворе, используя градуировочную функцию.

В системе координат строят градуировочную функцию, откладывая полученные площади пиков против соответствующих значений концентраций градуировочных растворов аналита. Получают прямую линию, отвечающую уравнению вида: $y = a + bx$ (b – величина наклона линейной функции; a – координата точки пересечения оси ординат градуировочной функцией).

Полученную функцию проверяют на соответствие требованиям линейности.

7 Обработка результатов

Массовую концентрацию сукралозы ρ_{suc}, мг/дм^3, или массовую долю сукралозы w_{suc}, мг/кг (млн$^{-1}$), в анализируемом растворе пробы определяют путем интегрирования площади пика R, полученного при анализе введенного раствора пробы. Количество сукралозы в пробе затем вычисляют, используя градуировочную функцию, по формуле

$$\rho_{suc} \text{или } w_{suc} = \frac{(R-a)V}{b \cdot m}, \quad (1)$$

где R – площадь пика сукралозы, полученного при анализе раствора анализируемой пробы;
a – координата точки пересечения оси ординат градуировочной линией по 6.5;
b – значение наклона градуировочной линии по 6.5;
V – общий объем раствора пробы (например, 50 см^3);
m – масса анализируемой пробы (например, 5 г).
Результат выражают целым числом.

8 Прецизионность

8.1 Общие положения

Данные по прецизионности методики определения сукралозы получены в 2007, 2008 гг. в результате двух межлабораторных испытаний на пробах продуктов: кетчупа, майонеза с высоким и низким содержанием сукралозы, бисквита, йогурта, двух видов растворимых сухих напитков и двух видов конфет (прессованные таблетки) различного вкуса и с различным содержанием подсластителя. Значения метрологических характеристик, полученные в результате межлабораторных испытаний, могут быть не применимы к другим содержаниям аналита и другим типам матриц, чем те, что указаны в приложении А.

8.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте испытаний в одной лаборатории одним оператором с использованием одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени, не должно превышать предел повторяемости r более чем в 5 % случаев.

Предел повторяемости зависит от уровня концентрации аналита в образце:

- кетчуп:

$\overline{x}$ = 128,83 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 8,38 мг/кг (млн$^{-1}$);

- майонез 1:

$\overline{x}$ = 463,03 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 38,58 мг/кг (млн$^{-1}$);

- майонез 2:

$\overline{x}$ = 175,84 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 27,87 мг/кг (млн$^{-1}$);

- бисквит:

$\overline{x}$ = 737,30 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 31,12 мг/кг (млн$^{-1}$);

- йогурт:

$\overline{x}$ = 87,53 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 7,88 мг/кг (млн$^{-1}$);

- растворимый сухой напиток 1:

$\overline{x}$ = 249,52 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 24,61 мг/кг (млн$^{-1}$);

- растворимый сухой напиток 2:

$\overline{x}$ = 225,21 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 16,88 мг/кг (млн$^{-1}$);

- конфеты 1:

$\overline{x}$ = 471,14 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 25,30 мг/кг (млн$^{-1}$);

- конфеты 2:

$\bar{x}$ = 139,35 мг/кг (млн$^{-1}$), r = 10,73 мг/кг (млн$^{-1}$).

8.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте испытаний в разных лабораториях разными операторами с использованием разного оборудования, не должно превышать предел воспроизводимости R более чем в 5 % случаев.

При проведении испытаний предел воспроизводимости равен следующим значениям:

- кетчуп:

$\bar{x}$ = 128,83 мг/кг (млн$^{-1}$), R= 18,16 мг/кг (млн$^{-1}$);

- майонез 1:

$\bar{x}$ = 463,03 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 69,92 мг/кг (млн$^{-1}$);

- майонез 2:

$\bar{x}$ = 175,84 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 53,55 мг/кг (млн$^{-1}$);

- бисквит:

$\bar{x}$ = 737,30 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 130,89 мг/кг (млн$^{-1}$);

- йогурт:

$\bar{x}$ = 87,53 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 22,18 мг/кг (млн$^{-1}$);

- растворимый сухой напиток 1:

$\bar{x}$ = 249,52 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 64,44 мг/кг (млн$^{-1}$);

- растворимый сухой напиток 2:

$\bar{x}$ = 225,21 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 48,89 мг/кг (млн$^{-1}$);

- конфеты 1:

$\bar{x}$ = 471,14 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 43,64 мг/кг (млн$^{-1}$);

- конфеты 2:

$\bar{x}$ = 139,35 мг/кг (млн$^{-1}$), R = 25,40 мг/кг (млн$^{-1}$).

9 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать как минимум следующие сведения:

a) всю информацию, необходимую для идентификации пробы;

b) ссылку на настоящий стандарт или на другой используемый метод;

c) дату и время отбора пробы (если они известны);

d) дату поступления пробы в лабораторию;

e) дату проведения испытания;

f) результаты испытания с указанием единиц измерения;

g) все особенности, наблюдавшиеся при проведении испытания;

h) все операции, не оговоренные в настоящем методе или рассматриваемые как необязательные, которые могли повлиять на результаты испытания.

Приложение А
(справочное)

Данные по прецизионности методики

Приведенные в таблице А.1 данные получены в результате двух межлабораторных испытаний, в которых участвовали 10 и 9 участников, соответственно. Метод подготовлен рабочей группой «Подсластители» Федерального бюро защиты прав потребителей и безопасности пищевых продуктов Германии [2].

Таблица А.1 – Данные по прецизионности методики

Проба	Кетчуп	Майонез 1	Майонез 2	Бисквит	Йогурт	Растворимый сухой напиток (Персик-Холодный чай)	Растворимый сухой напиток (Яблоко)	Конфеты (Апельсин)[a]	Конфеты (Мятная)[a]
Год проведения испытаний	2007/2008	2007/2008	2007/2008	2007/2008	2007/2008	2007/2008	2007/2008	2007/2008	2007/2008
Лабораторий-участников	10	7	7	10	10	10	9	9	9
Число принятых результатов	5	5	5	5	5	5	6	6	6
Лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	7	7	9	9	9	8	8	8
Выбросов (лабораторий)	1	0	0	1	1	1	1	1	1
Среднее значение $\bar{x}$, мг/кг (млн$^{-1}$)	128,83	463,03	175,84	737,30	87,53	249,52	225,21	471,14	139,35
Стандартное отклонение повторяемости s_r, мг/кг	2,99	13,78	9,95	11,11	2,81	8,79	6,03	9,04	3,83
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	2,32	2,98	5,66	1,51	3,21	3,52	2,68	1,92	2,75
Предел повторяемости r, мг/кг	8,38	38,58	27,87	31,12	7,88	24,61	16,88	25,30	10,73
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R, мг/кг	6,48	24,97	19,12	46,75	7,92	23,05	17,46	15,59	9,07
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	5,03	5,39	10,88	6,34	9,05	9,24	7,75	3,31	6,51
Предел воспроизводимости R, мг/кг	18,16	69,92	53,55	130,89	22,18	64,55	48,89	43,64	25,40
Относительное стандартное отклонение по Горвицу, H	7,70	6,35	7,35	5,92	8,16	6,97	7,08	6,33	7,61
Значение индекса Горвица, RSD_R/H	0,65	0,85	1,48	1,07	1,11	1,33	1,09	0,52	0,86

[a] Межлабораторное испытание 2.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным европейским региональным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование европейского регионального стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
EN ISO 3696:1995 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний	–	*
* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать перевод на русский язык данного европейского регионального стандарта. Перевод данного европейского регионального стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.		

Библиография

[1] Quinlan, M.E., Jenner, M.R., Analysis and Stability of the Sweetener Sucralose in Beverages. Journal of Food Science, 1990, 55, 244-246

[2] Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Gehaltes an Sucralose in Lebensmitteln L 00.00-126, Januar 2010 (Food Analysis: Determination of sucralose content in foodstuffs L 00.00-126, 2010-01) in: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB: Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen/Bundesgesundheitsamt (In: Collection of official methods under article 64; Methods of sampling and analysis of foods, tobacco products, cosmetics and commodity goods/Federal Health Office) Loseblattausgabe, Stand Jan. 2010 Bd. 1 (Loose leaf edition, as of 2010-01 Vol. 1.) Berlin, Köln: Beuth Verlag GmbH

УДК 664.16:543.544.5.068.7:006.354 МКС 67.050 IDT

Ключевые слова: пищевые продукты, определение сукралозы, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, очистка экстракта на твердофазной колонке, рефрактометрическое детектирование, обращенно-фазовый сорбент, твердофазная экстракция

Редактор *К.В. Дудко*
Корректор *Ю.М. Прокофьева*
Компьютерная верстка *А.В. Балвановича*

Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,40. Тираж 41 экз. Зак. 3695.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru