

СТАНДАРТНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Научная статья

УДК 543.544.3:546.172.5

<https://doi.org/10.20915/2077-1177-2024-20-4-36-56>



Разработка стандартных образцов состава бензойной и сорбиновой кислот

М. П. Крашенинина  , О. С. Шохина , С. Г. Макарова,
О. С. Голынец , А. С. Сергеева 

Уральский научно-исследовательский институт метрологии – филиал
ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева», г. Екатеринбург, Россия
 krasheninina_m@uniim.ru

Аннотация: Статья знакомит с разработкой стандартных образцов состава бензойной и сорбиновой кислот с аттестованным значением массовой доли основного вещества. Разработка стандартных образцов проведена в несколько этапов: идентификация, характеристика, исследование однородности и стабильности материалов стандартных образцов. Идентификация материалов-кандидатов в стандартные образцы проведена методом ИК Фурье спектроскопии и путем определения температуры плавления методом дифференциального термического анализа. Характеристика материалов-кандидатов в стандартные образцы выполнена косвенным методом «сто минус сумма примесей» с подтверждением результатов измерений прямым методом – методом кислотно-основного титрования. Установлено, что результаты измерений массовой доли основного вещества бензойной и сорбиновой кислот, полученные методом кислотно-основного титрования и методом массового баланса, согласуются между собой с учетом значений расширенных неопределенностей. Работа выполнена с привлечением первичных и вторичных эталонов. Повышение точности результатов измерений массовой доли основного вещества достигнуто путем поиска и подбора оптимальных режимов проведения измерений при определении каждого вида примеси. Определение однородности материалов проведено методом однофакторного дисперсионного анализа, определение стабильности проведено методом регрессионного анализа. Разработанные стандартные образцы состава бензойной и сорбиновой кислот внесены в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений под номерами ГСО 12297–2023 и ГСО 12298–2023. Аттестованное значение массовой доли основного вещества находится в диапазоне от 95,00 до 100,00 %, границы допускаемых значений абсолютной погрешности при $P=0,95$ составляют $\pm 0,5$ %.

Использование ГСО 12297–2023 и ГСО 12298–2023 для аттестации и контроля точности методик, установления и контроля стабильности градуировочных (калибровочных) характеристик средств измерений, поверки, калибровки средств измерений способно повысить качество пищевых продуктов, продовольственного сырья и фармацевтических препаратов.

Ключевые слова: эталон, стандартный образец, газовая хроматография, жидкостная хроматография, прослеживаемость результатов измерений, бензойная кислота, сорбиновая кислота

Ссылка при цитировании: Разработка стандартных образцов состава бензойной и сорбиновой кислот / М. П. Крашенинина [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2024. Т. 20, № 4. С. 36–56. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2024-20-4-36-56>.

Статья поступила в редакцию 23.09.2024; одобрена после рецензирования 13.11.2024; принята к публикации 25.12.2024.

REFERENCE MATERIALS

Research Article

Development of Reference Materials of Benzoic and Sorbic Acids

Maria P. Krasheninina  , Olga S. Shokhina , Svetlana G. Makarova,
Olga S. Golynets , Anna S. Sergeeva 

UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleyev Institute for Metrology, Yekaterinburg, Russia
 krasheninina_m@uniim.ru

Abstract: The article introduces the development of reference materials of benzoic and sorbic acids with a certified value of the mass fraction of the main substance. The development of reference materials was carried out in several stages: identification, characterization, study of homogeneity and stability of reference materials. Identification of candidate materials for reference materials was carried out by IR Fourier spectroscopy and determination of melting point by differential thermal analysis. The candidate materials for reference materials were characterized by the indirect method «one hundred minus the sum of impurities» with confirmation of the measurement results by the direct method – the acid-base titration method. It was established that the measurement results of the mass fraction of the main substance of benzoic and sorbic acids obtained by the acid-base titration method and the mass balance method are consistent with each other taking into account the values of expanded uncertainties. The work was carried out using primary and secondary standards. The accuracy of the measurement results of the mass fraction of the main substance was increased by searching for and selecting optimal measurement modes when determining each type of impurity. The homogeneity of materials was determined using the one-way analysis of variance method; stability was determined using the regression analysis method.

The developed reference materials of benzoic and sorbic acids were included in the Federal Information Fund for Ensuring the Uniformity of Measurements as GSO 12297–2023 and GSO 12298–2023. The certified value of the mass fraction of the main substance is in the range from 95.00 to 100.00%, the limits of the permissible values of the absolute error at $P=0.95$ are $\pm 0.5\%$.

The use of GSO 12297–2023 and GSO 12298–2023 for certification and control of the accuracy of methods, establishment and control of the stability of calibration characteristics of measuring instruments, verification, calibration of measuring instruments can improve the quality of food products, food raw materials and pharmaceuticals.

Keywords: standard, reference material, gas chromatography, liquid chromatography, traceability of measurement results, benzoic acid, sorbic acid

For citation: Krasheninina M. P., Shokhina O. S., Makarova S. G., Golynets O. S., Sergeeva A. S. Development of reference materials of benzoic and sorbic acids. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2024;20(4):36–56. (In Russ.). <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2024-20-4-36-56>.

The article was submitted 23.09.2024; approved after reviewing 13.11.2024;
accepted for publication 25.12.2024.

Введение

Бензойную и сорбиновую кислоты широко применяют в пищевой и фармацевтической промышленности [1–5] как консерванты E200 и E210, допустимое содержание которых регулирует Технический регламент Таможенного Союза ТР ТС 029/2012¹. В соответствии с ТР ТС 021/2011, ТР ТС 034/2013, ТР ЕАЭС 040/2016, ТР ЕАЭС 051/2021² при производстве (изготовлении) пищевой продукции для детского питания запрещено использование бензойной, сорбиновой кислот и их солей.

Количественное определение бензойной и сорбиновой кислот в пищевых продуктах выполняют с использованием титриметрии [6], спектрофотометрии [6–8], хроматографии [9–14], капиллярного электрофореза [15, 16] и других методов анализа.

В Российской Федерации существуют стандартизованные методики измерений содержания бензойной и сорбиновой кислот, основанные на высокоэффективной жидкостной хроматографии (ГОСТ 33332–2015, ГОСТ 33809–2016, ГОСТ 34882–2022, ГОСТ ISO 9231–2015³),

¹ ТР ТС 029/2012 Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств: Технический регламент Таможенного союза от 20 июля 2012 г. № 58 (с изменениями на 29 августа 2023 г.).

² ТР ТС 021/2011 О безопасности пищевой продукции: Технический регламент Таможенного Союза от 9 декабря 2011 г. № 880 (с изменениями на 23 июня 2023 г.). ТР ТС 034/2013 О безопасности мяса и мясной продукции: Технический регламент Таможенного союза от 9 октября 2012 г. № 68 (с изменениями на 27 сентября 2023 г.). ТР ЕАЭС 040/2016 О безопасности рыбы и рыбной продукции: Технический регламент Евразийского экономического союза от 18 октября 2016 г. № 162 (с изменениями на 23 июня 2023 г.). ТР ЕАЭС 051/2021 О безопасности мяса птицы и продукции его переработки: Технический регламент Евразийского экономического союза от 29 октября 2021 г. № 110 (с изменениями на 15 февраля 2023 г.).

³ ГОСТ 33332–2015 Продукты переработки фруктов и овощей. Определение массовой доли сорбиновой и бензойной кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. ГОСТ 33809–2016 Мясо и мясные продукты. Определение сорбиновой и бензойной кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. ГОСТ 34882–2022 Добавки пищевые. Количественное определение консервантов (бензойной и сорбиновой кислот и их солей) в комплексных пищевых добавках хроматографическим методом. ГОСТ ISO 9231–2015 Молоко и молочные продукты. Определение

спектрофотометрии (ГОСТ 33839–2016, ГОСТ Р 50476–93⁴), капиллярном электрофорезе (ГОСТ Р 56373–2015⁵).

Метод титриметрии используется для количественного определения бензойной и сорбиновой кислот в фармацевтических субстанциях согласно ФС.2.1.0066.18, ФС.2.1.0035.15⁶.

Однако все перечисленные стандартизованные методики измерений не являются первичными [17] и требуют проведения градуировки средств измерений. Важно отметить, что для выполнения требований по прослеживаемости результатов измерений до соответствующих Государственных первичных эталонов необходимо наличие стандартных образцов чистых органических кислот.

В области органического анализа ключевую роль в обеспечении единства измерений играют стандартные образцы (далее – СО) состава чистых органических веществ, охарактеризованные по массовой доле основного вещества, с установленной прослеживаемостью до ГЭТ 208⁷ [18, 19]. В настоящее время в соответствии с рекомендациями Международного бюро мер и весов (BIPM) и Консультативного комитета по количеству вещества (CCQM)⁸ и с отчетом IUPAC [20] для оценки чистоты органического соединения необходимо

содержания сорбиновой и бензойной кислот в молоке и молочных продуктах.

⁴ ГОСТ 33839–2016 Изделия кондитерские. Метод определения массовой доли бензойной кислоты. ГОСТ Р 50476–93 Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения содержания сорбиновой и бензойной кислот при их совместном присутствии.

⁵ ГОСТ Р 56373–2015 Корма и кормовые добавки. Определение массовой доли органических кислот методом капиллярного электрофореза.

⁶ ФС.2.1.0066.18 Министерство здравоохранения Российской Федерации. Фармакопейная статья. Бензойная кислота. ФС.2.1.0035.15 Министерство здравоохранения Российской Федерации. Фармакопейная статья. Сорбиновая кислота.

⁷ ГЭТ 208 Государственный первичный эталон единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии.

⁸ Bureau International des Poids et Mesures, BIPM [website]. URL: <https://www.bipm.org/en/> (Accessed: 20.09. 2024).

определить содержание четырех видов примесей: 1) содержание примесей, схожих по строению (родственных примесей); 2) неорганических примесей; 3) воды; 4) летучих примесей, отличных от воды. Этот подход известен как «сто минус сумма примесей» и является косвенным способом оценки чистоты. В то же время, при реализации косвенного способа всегда существует вероятность того, что какая-то из примесей не будет обнаружена. Поэтому требуется проверка полученного результата оценки чистоты органического соединения прямым методом, например, потенциометрическим титрованием.

В реестре⁹ имеются СО состава бензойной кислоты ГСО 11467–2019 и СО состава сорбиновой кислоты ГСО 11468–2019 с интервалом допускаемых аттестованных значений массовой доли основного вещества от 99,5 до 99,9 % включительно и границами допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения СО (при $P=0,95$) ± 2 %. Однако данные СО не отвечают требованиям по прослеживаемости к ГЭТ 208, а также не имеют запаса по точности перед стандартизованными методиками измерений (рутинными методами).

В связи с этим, актуальной является разработка СО состава сорбиновой и бензойной кислот, прослеживаемых к ГЭТ 208, для метрологического обеспечения измерений, выполняемых лабораториями химической, фармацевтической и пищевой промышленности.

Таким образом, целью настоящей работы является проведение исследований по разработке СО состава бензойной и сорбиновой кислот с аттестованным значением массовой доли основного вещества, удовлетворяющим требованиям по прослеживаемости и имеющим запас по точности перед стандартизованными методиками.

Материалы и методы

Реактивы

Материалами-кандидатами в СО выбраны реактивы бензойной кислоты ($C_7H_6O_2$) с массовой долей основного вещества не менее 99,5 %

⁹ Реестр утвержденных типов стандартных образцов, представленный в разделе ФИФ ОЕИ [сайт]. URL: <https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry> (Дата обращения: 20.09. 2024).

и сорбиновой кислоты ($C_6H_8O_2$) с массовой долей основного вещества не менее 99 %. Оба представляют собой белые кристаллические порошки.

Оборудование и методы исследований

Идентификацию материалов СО проводили на Фурье-спектрометре инфракрасном модель Nicolet iS5 с приставкой НПВО Golden Gate с кристаллом алмаз (GS10500). Образец исследуемого вещества помещали непосредственно на поверхность кристалла НПВО. Снимали спектр в режиме пропускания при следующих параметрах:

- источник излучения: высокотемпературный керамический;
- детектор: высокопроизводительный детектированный триглицин-сульфатный (DLaTGS);
- область регистрации спектра 4000–400 cm^{-1} ;
- разрешение 4 cm^{-1} ;
- число сканирований 32.

Определение температуры плавления проводили методом дифференциального термического анализа на термоанализаторе STA 449 F5 Jupiter. Измерения проводили при различных скоростях нагрева с последующей экстраполяцией данных на нулевую скорость, с учетом рекомендации ГОСТ Р 55134–2012¹⁰, при постоянных значениях скоростей потока защитного газа 10 cm^3/min и продувочного газа 50 cm^3/min [21].

Определения массовой доли воды проводили на эталонной установке волюмометрического титрования по Карлу Фишеру из состава ГЭТ 173¹¹ [22, 23].

Измерения проводили при следующих условиях: титр титранта (реактив Фишера) – 2 mg/cm^3 ; максимальный начальный дрейф – 25 mkg/min ; время перемешивания – 5 с; скорость перемешивания – 45 %; ток поляризации – 24 мА; конечная точка титрования – 100 мВ. Конечную точку реакции определяли биамперометрически.

¹⁰ ГОСТ Р 55134–2012 Пластмассы. Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК). Часть 1. Общие принципы.

¹¹ ГЭТ 173-2017 Государственный первичный эталон единиц массовой доли, массовой (молярной) концентрации воды в твердых и жидких веществах и материалах.

Определение массовой доли родственных примесей проводили на эталонной установке на основе метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с детекторами на диодной матрице (далее – ВЭЖХДМД) из состава ГВЭТ 208–1¹² [24]. Разделение проводили в изократическом режиме на колонке Zorbax Eclipse XDB C8 (4,6 × 250 мм, 5 мкм). В качестве элюента использовали смесь ацетонитрил-буферный раствор (90:10). Остальные параметры разделения и детектирования компонентов (длина волны детектора, скорость потока элюента, температура термостата колонок) были установлены в ходе разработки процедуры измерений, описанной далее – в разделе «Результаты и обсуждение».

Идентификацию и определение массовой доли легколетучих примесей, отличных от воды, проводили на эталонной установке хромато-масс-спектрометрической на основе метода газовой хроматографии / масс-спектрометрии (ГХ–МС/МС) из состава ГВЭТ 208–1 [24]. Навески бензойной и сорбиновой кислот в герметично закрытых виалах нагревали в соответствии с условиями, указанными в статье 467 «Остаточные растворители» Фармакопеи США¹³ для растворителей каждого класса токсичности в соответствии со статьей ОФС.1.1.0008.15 Государственной Фармакопеи Российской Федерации [25]. После установления равновесия отбирали 2 мкл газовой равновесной фазы над твердым образцом, которую затем вводили в хроматограф при помощи горячего шприца. Идентификацию компонентов газовой равновесной фазы проводили по временам удерживания и масс-спектрам.

Идентификацию и определение массовой доли неорганических примесей (металлы, их оксиды и соли) проводили на эталонной установке, реализующей метод масс-спектрометрии

¹² ГВЭТ 208-1-2023 Государственный вторичный эталон единиц массовой доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе газовой и жидкостной хроматографии.

¹³ <467> Residual solvents // The United States Pharmacopeial Convention [website]. URL: https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/revisions/gc-467-residual-solvents-ira-20190927.pdf (Accessed: 20.09. 2024).

с индуктивно-связанной плазмой, из состава ГЭТ 176¹⁴ [26].

Деструкцию органической составляющей бензойной и сорбиновой кислот проводили нагреванием с концентрированной азотной кислотой. Для определения неорганических примесей применялся метод добавок, позволяющий корректировать матричные влияния и дрейф прибора.

Измерения проводили методами количественного анализа в стандартном режиме, а также для устранения наложений на некоторые элементы (Ca, K, Fe, Cr, V) использовали режим реакционной ячейки с применением аммиака в качестве реакционного газа. Для устранения влияния мышьяка использовали коллизионный режим с гелием в качестве инертного газа. Метод стандартных добавок был реализован с использованием СО состава растворов ионов металлов утвержденных типов. Контроль точности измерений проводили путем воспроизведения содержания добавки определенного элемента в образце.

Определение массовой доли основного вещества (подтверждающие измерения) проводили методом потенциометрического титрования на эталонной установке из состава ГВЭТ 176–1¹⁵ [27]. В качестве титранта используется 0,1 М раствор гидроксида натрия, стандартизованный по СО состава калия фталевокислого кислого (бифталат калия 1-го разряда) ГСО 2216–81. Остальные параметры титрования были приняты в соответствии с ФС.2.1.0066.18, ФС.2.1.0035.15 [25].

Результаты и обсуждение

Исследования материалов-кандидатов в СО были проведены в несколько этапов:

1. Идентификация материалов-кандидатов в СО;

¹⁴ ГЭТ 176-2019 Государственный первичный эталон единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе кулонометрии.

¹⁵ ГВЭТ 176-1-2010 Государственный вторичный эталон единиц массовой доли, массовой (молярной) концентрации компонентов в твердых и жидких веществах и материалах на основе объемного титриметрического метода анализа.

2. Характеризация материалов-кандидатов в СО по массовой доле основного вещества косвенным методом «сто минус сумма примесей»;

3. Подтверждение значения массовой доли основного вещества прямым методом;

4. Исследование однородности и стабильности материалов-кандидатов в СО.

Далее рассмотрим каждый этап.

1. Идентификация материалов-кандидатов в СО

В качестве примера на рис. 1 представлен ИК-спектр исходного материала для СО состава бензойной кислоты (вверху) и ИК-спектр сравнения бензойной кислоты (внизу)¹⁶.

¹⁶ Benzoic acid – DSC calibration standard // LGC Standards [website]. URL: <https://www.lgcstandards.com/TL/en/Benzoic-acid-DSC-calibration-standard/p/LGC2606> (Accessed: 20.09. 2024).

Положение полос поглощения на ИК спектре исходного материала для СО, установленное с применением программного обеспечения Фурье-спектрометра, совпало с положением полос поглощения на ИК-спектре сравнения бензойной кислоты. Также визуально наблюдается совпадение относительной интенсивности полос поглощения ИК-спектра исходного материала для СО и ИК-спектра сравнения бензойной кислоты.

Аналогично было установлено совпадение по положению и относительной интенсивности полос поглощения ИК спектра исходного материала для СО состава сорбиновой кислоты с ИК-спектром сравнения сорбиновой кислоты, приведенного в LGC 17 Standards.

С целью дополнительной идентификации материалов СО проводили определение их

¹⁷ Там же.

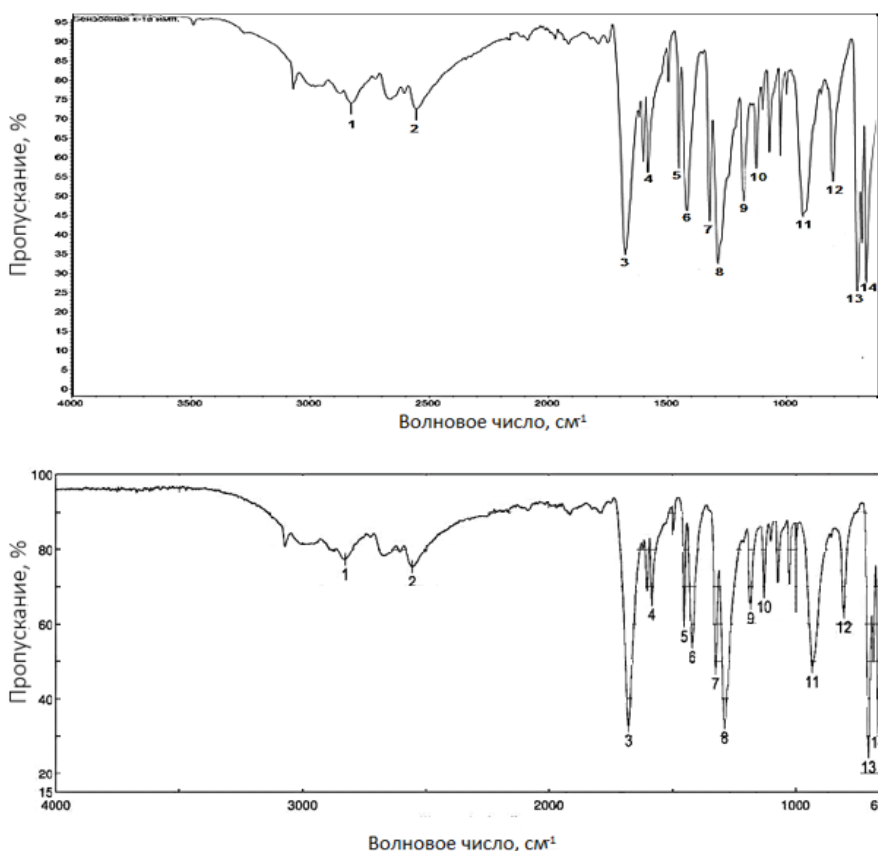


Таблица пиков

№	Полоса, см ⁻¹
1	2828,10
2	2555,50
3	1678,69
4	1582,33
5	1453,06
6	1420,24
7	1323,70
8	1288,35
9	1180,29
10	1127,18
11	931,30
12	805,64
13	703,67
14	666,38

Таблица пиков

№	Полоса, см ⁻¹
1	2827,13
2	2555,22
3	1678,73
4	1582,31
5	1453,1
6	1420,32
7	1323,80
8	1288,22
9	1180,22
10	1127,19
11	931,45
12	805,135
13	703,89
14	666,285

Рис. 1. ИК-спектр исходного материала для СО (вверху) и спектр сравнения бензойной кислоты (Benzoic acid – DSC calibration standard, LGC Standards) (внизу)

Fig. 1. IR spectrum of the initial material for the RM (top) and the reference spectrum of benzoic acid (Benzoic acid – DSC calibration standard, LGC Standards) (below)

температуры плавления методом дифференциального термического анализа при различных скоростях нагрева: 0,5; 1; 2; 5; 10 К/мин. Термограммы бензойной кислоты (рис. 2), сорбиновой кислоты (рис. 3).

В результате экстраполяции данных на значение нулевой скорости нагрева получена зависимость: $y = 0,0070 \cdot x + 121,09$ – для бензойной кислоты; $y = 0,0097 \cdot x + 133,46$ – для сорбиновой кислоты, где y – температура плавления, °С; x – скорость нагрева, К/мин.

Результаты определения температуры плавления бензойной и сорбиновой кислоты приведены в табл. 1.

Установлена экспериментальная температура плавления: 121,1 °С – для бензойной кислоты; 133,5 °С – для сорбиновой кислоты. Таким образом, экспериментально подтверждена близость экспериментальных температур плавления для материалов СО к теоретическим значениям: 122 °С – для бензойной кислоты; 134 °С – для сорбиновой кислоты.

В результате проведенных исследований на основе совокупности выявленных

признаков (сходства спектров, близость температур плавления к теоретическим) установлено, что исследуемые вещества являются бензойной и сорбиновой кислотами, соответственно.

2. Характеризация материалов-кандидатов в СО по массовой доле основного вещества косвенным методом «сто минус сумма примесей»

Массовую долю сорбиновой и бензойной кислот $W_{ОВ}$, %, рассчитывали по формуле

$$W_{ОВ} = 100 - (W_{РП} + W_{ПМПВ} + W_{СЗ} + W_{ЛОС}), \quad (1)$$

где $W_{РП}$ – массовая доля родственных примесей, %; $W_{ПМПВ}$ – массовая доля воды, %; $W_{СЗ}$ – массовая доля суммы неорганических примесей, %; $W_{ЛОС}$ – массовая доля легколетучих компонентов, отличных от воды, %.

Для разработки методик измерений массовой доли каждой группы примесей (родственные примеси, вода, неорганические примеси, легколетучие компоненты, отличные от воды) проводился анализ режимов проведения

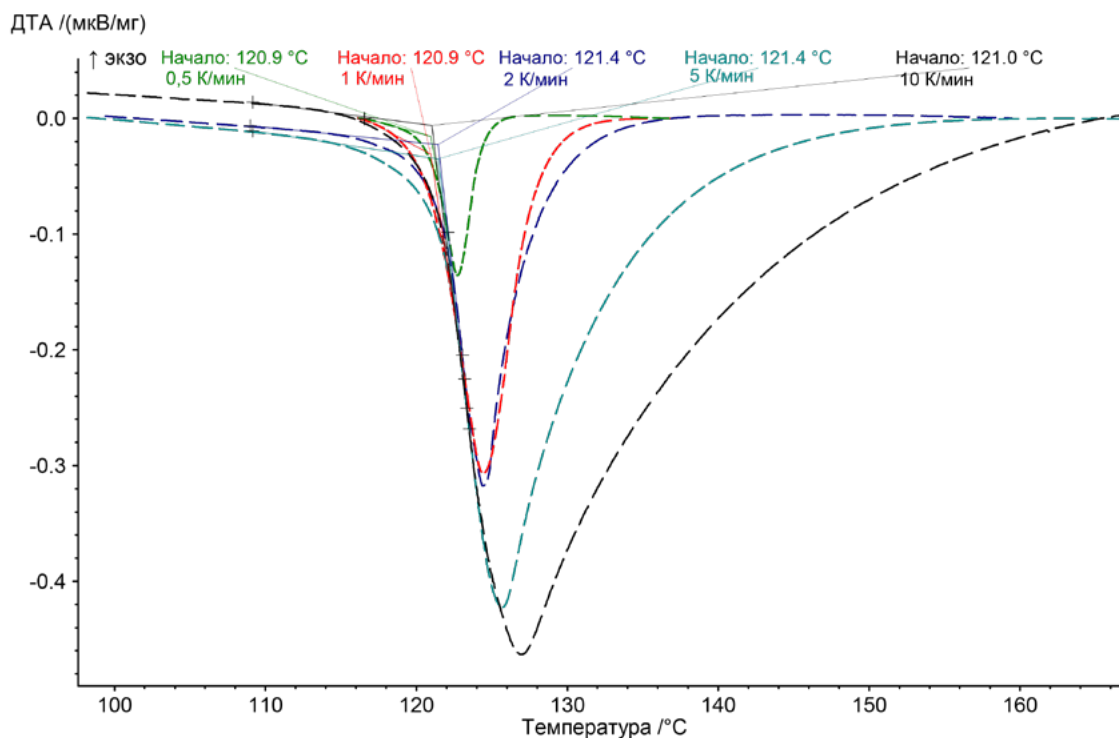


Рис. 2. Результаты определения температуры плавления бензойной кислоты при различных скоростях нагрева

Fig. 2. The results of determination of melting point of benzoic acid at different heating rates

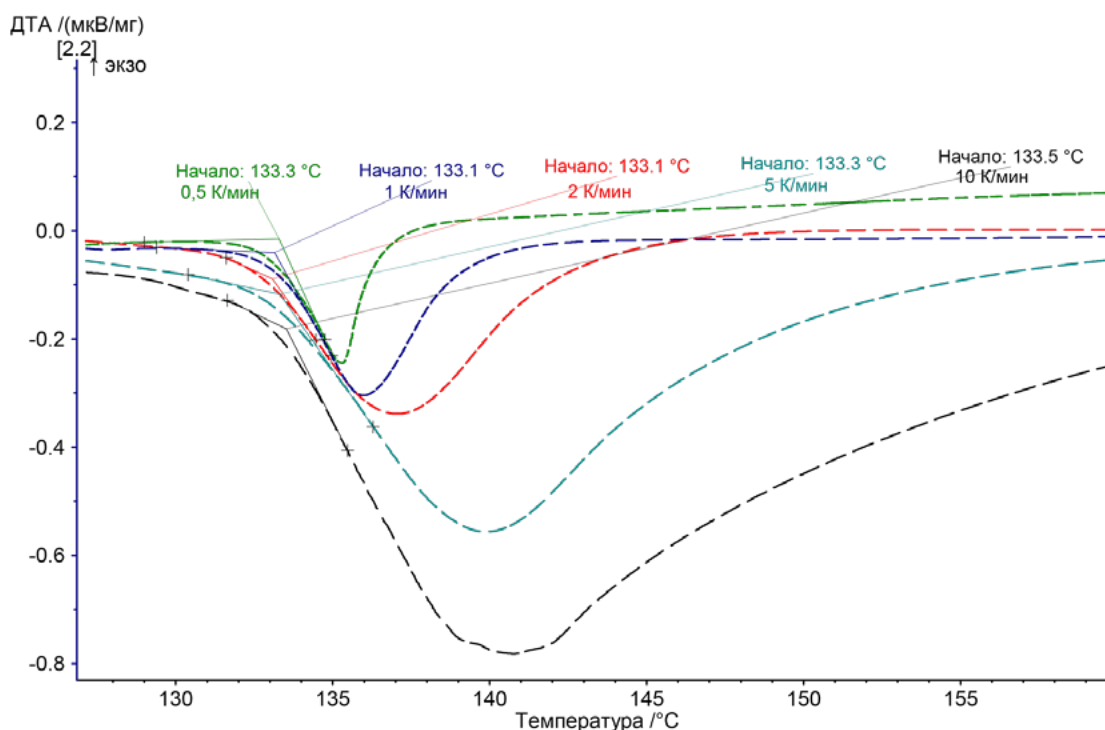


Рис. 3. Результаты определения температуры плавления сорбиновой кислоты при различных скоростях нагрева

Fig. 3. The results of determination of the melting point of sorbic acid at different heating rates

Таблица 1. Результаты определения температуры плавления

Table 1. The results of melting point determination

Наименование кислоты	Температура плавления экспериментальная, °C	Температура плавления теоретическая, °C *
Бензойная кислота	121,1	122
Сорбиновая кислоты	133,5	134

* National Library of Medicine [website]. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (Accessed: 20.09. 2024).

измерений, представленных в стандартизованных методиках измерений, фармакопейных статьях, рекомендациях производителей оборудования и хроматографических колонок. Далее с целью повышения точности результатов измерений проводилась оптимизация параметров измерений.

2.1. Результаты измерений массовой доли воды

Результаты измерений массовой доли воды, полученные волюмометрическим титрованием по Карлу Фишеру на ГЭТ 173, приведены в табл. 2. Расширенная неопределенность

результатов измерений была оценена в соответствии с алгоритмом, приведенным в [22]. Дополнительно в табл. 2 представлены нормативные значения, установленные в фармакопейных статьях: ФС.2.1.0066.18 – для бензойной кислоты; ФС.2.1.0035.15 – для сорбиновой кислоты.

Согласно данным табл. 2, измеренные значения массовой доли воды в материалах СО не превышают значений, установленных в фармакопейных статьях.

Полученные значения массовой доли воды были учтены при расчете массовой доли основного вещества при характеристике СО.

Таблица 2. Результаты измерений массовой доли воды

Table 2. The results of water mass fraction measurements

Наименование кислоты	Массовая доля воды, %	Абсолютная рас- ширенная неопределенность ($k=2$), %	Норматив по фармакопейной статье
Бензойная кислота	0,059	0,009	0,7
Сорбиновая кислота	0,102	0,004	1,0

2.2. Результаты измерений массовой доли родственных примесей

С целью оптимизации параметров хроматографирования перед проведением измерений массовой доли схожих по строению примесей был проведен факторный эксперимент. За основу взят режим хроматографирования измерений, предложенный компанией Agilent для пищевых кислот, однако для адаптации методических параметров на используемом оборудовании необходимо было провести дополнительные исследования. Для этого изучали влияние температуры термостата колонок, скорости потока элюента, а также объема аликвоты, варьируя один из этих параметров при неизменности остальных. Получена серия хроматограмм исследуемой пробы при температуре колонок 20; 30; 40 °С; скорости потока 0,4; 0,6; 0,8 мл/мин; объеме аликвоты 3; 6; 9 мкл. Исследования проводились с целью поиска оптимальной воспроизводимости системы, разделения пиков в соответствии с формулами (2–4).

Полученные хроматограммы приведены на примере бензойной кислоты (рис. 4, 5, 6).

Выбор условий хроматографирования был продиктован необходимостью выполнения следующих требований:

1. прецизионность системы (RSD) $\rightarrow \min$

$$RSD = \frac{100}{\bar{X}} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}; \quad (2)$$

2. асимметричность пиков $S_s \rightarrow 1,5$

$$As = \frac{W_{0,05}}{2 \cdot f}; \quad (3)$$

3. разрешение между пиками $R_s \rightarrow 1,5$

$$R_s = \frac{2 \cdot (t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2}, \quad (4)$$

где $W_{0,05}$ – ширина пика на 5 % высоты; f – расстояние между перпендикуляром, опущенным

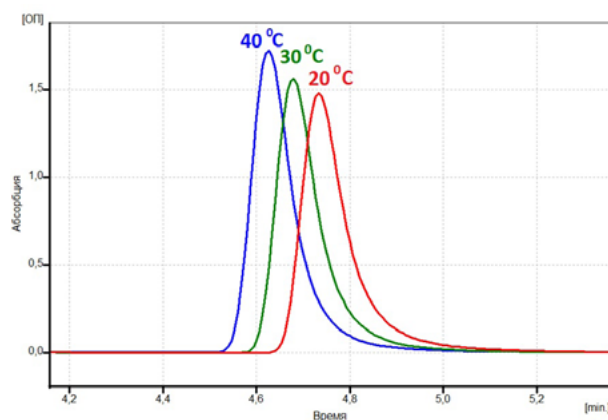


Рис. 4. Результаты варьирования температуры термостата колонок

Fig. 4. The results of varying the temperature of the column thermostat

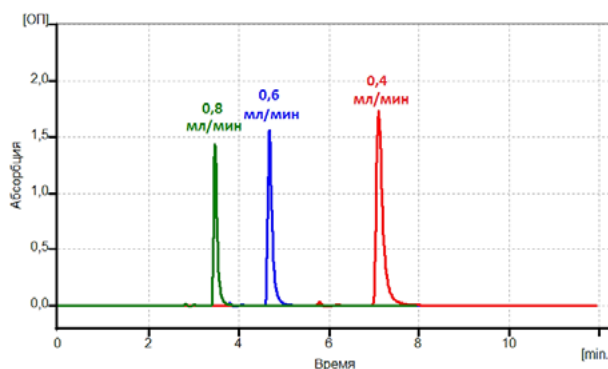


Рис. 5. Результаты варьирования скорости потока элюента

Fig. 5. The results of varying the eluent flow rate

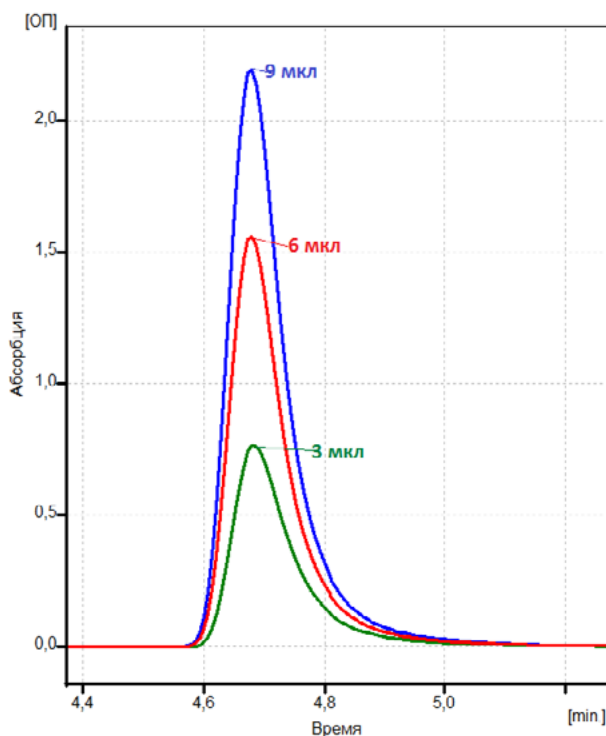


Рис. 6. Результаты варьирования объема аликвоты

Fig. 6. The results of varying the volume of aliquot

из вершины; t_{R1} , t_{R2} – время удерживания; X – результаты измерений площади пиков.

В итоге предложен следующий режим хроматографирования для бензойной и сорбиновой кислот:

колонка – ZORBAX C8 (4,6 × 250) mm 5-мисрон;

подвижная фаза – ацетонитрил-буферный раствор 90:10;

режим элюирования – изократический;

температура термостата колонок – 30 °C;

скорость потока – 0,6 мл/мин;

объем аликвоты – 6 мкл;

детектор – ДМД, 210 нм.

Расчет массовой доли примесей осуществлялся методом внутренней нормализации, поэтому необходимо было проверить диапазон линейности детектора к основному компоненту в пяти порядках, чтобы подтвердить возможность обработки данных, полученных методом внутренней нормализации от 0,001 до 100 %.

С целью подтверждения линейности детектора в пяти порядках проводили хроматографирование растворов бензойной и сорбиновой кислот с массовыми концентрациями 0,000 1; 0,001; 0,01; 0,1; 1,0 мг/см³ (рис. 7).

На примере растворов бензойной кислоты (рис. 7):

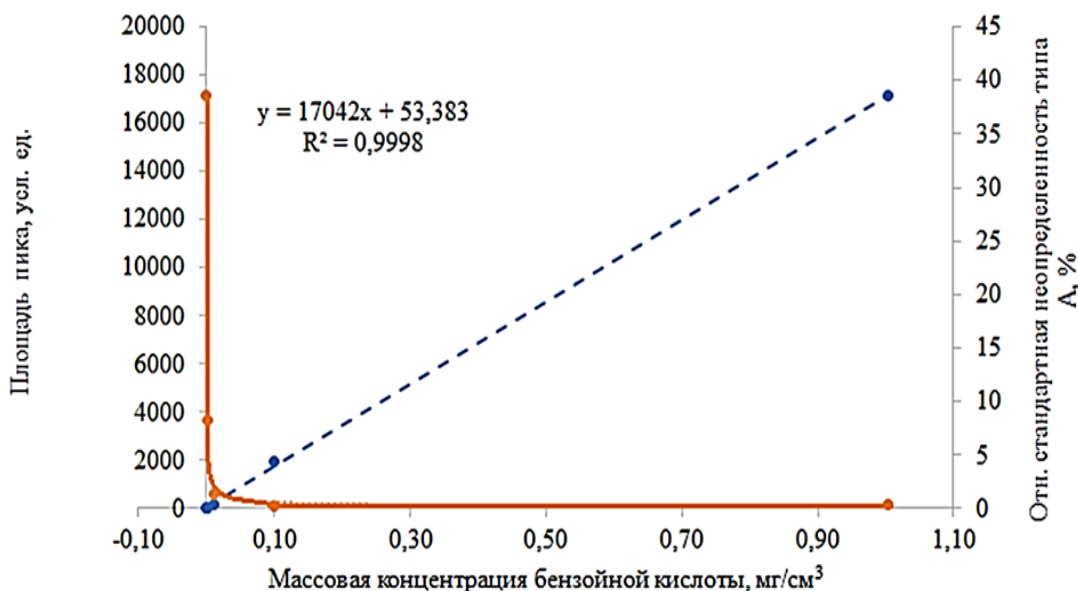


Рис. 7. Зависимость площади пика от массовой концентрации бензойной кислоты (пунктирная линия) и зависимость относительной стандартной неопределенности типа A от массовой концентрации раствора бензойной кислоты (сплошная линия)

Fig. 7. The dependence of the peak area on the mass concentration of benzoic acid (dashed line) and the dependence of the relative standard uncertainty of type A on the mass concentration of the benzoic acid solution (solid line)

а) показана линейность детектора (коэффициент регрессии 0,999 8) при исследовании растворов с концентрациями, различающимися на несколько порядков;

б) отмечено, что при увеличении массовой концентрации уменьшается относительная стандартная неопределенность типа А;

в) выявлено, что резкое уменьшение стандартной неопределенности типа А происходит при концентрации исследуемого раствора 0,1 мг/см³, при этом дальнейшее увеличение массовой концентрации раствора бензойной кислоты не приводит к уменьшению разброса результатов измерений.

Кроме того, было установлено, что при массовых концентрациях исследуемых растворов свыше 0,1 мг/см³ на хроматограммах происходит искажение формы основного пика, повышение его асимметричности. Поэтому в качестве раствора для исследования количественного содержания родственных примесей был выбран раствор с массовой концентрацией, равной 0,1 мг/см³.

Далее приведены: хроматограмма бензойной кислоты (рис. 8); результаты измерений массовой доли родственных примесей (табл. 3); бюджет неопределенности на примере бензойной кислоты (табл. 4).

Таблица 3. Результаты измерений массовой доли родственных примесей бензойной кислоты

Table 3. The measurement results of the mass fraction of related impurities of benzoic acid

Пик 1		Пик 2		Пик 3	
<i>t</i> , мин	<i>S</i> , мОП · с	<i>t</i> , мин	<i>S</i> , мОП · с	<i>t</i> , мин	<i>S</i> , мОП · с
4,673	17 748,838	5,993	0,978 1	6,200 0	3,357 7
4,673	17 206,488	6,007	1,197	6,200 0	3,382 3
4,673	17 676,575	6,000	1,248	6,200 0	3,331 7
4,673	17 089,337 4	6,000	1,099 5	6,193 0	3,210 4

Пик 4		Пик 5		Пик 6		<i>W</i> , %
<i>t</i> , мин	<i>S</i> , мОП · с	<i>t</i> , мин	<i>S</i> , мОП · с	<i>t</i> , мин	<i>S</i> , мОП · с	
6,500 0	0,496 6	6,693 0	3,835 3	7,973 0	20,547 0	0,164 3
6,520 0	0,996 8	6,693 0	4,391 0	7,973 0	20,105 0	0,174 5
6,507 0	0,492 1	6,693 0	3,980 6	7,973 0	20,225 0	0,165 4
6,520 0	0,449 2	6,693 0	3,442 8	7,973 0	20,401 7	0,167 1

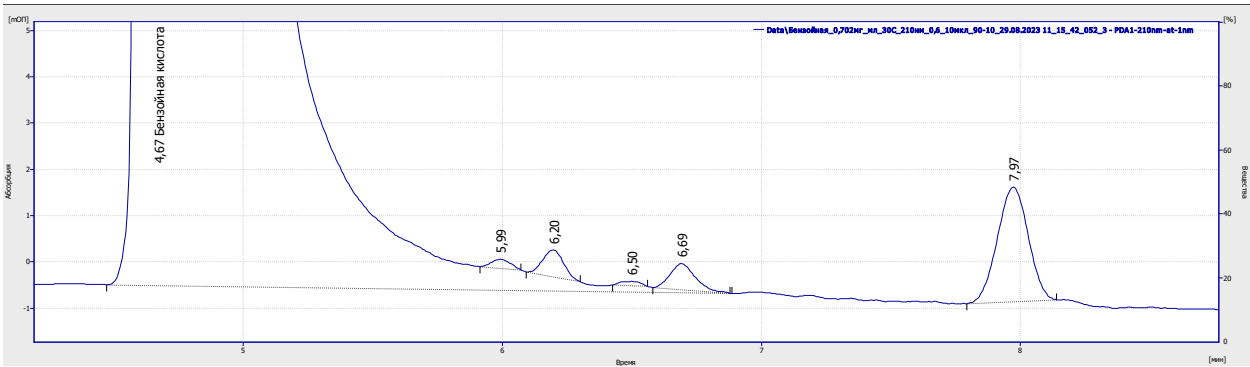


Рис. 8. Пример хроматограммы бензойной кислоты (увеличение)
Fig. 8. An example of a benzoic acid chromatogram (magnification)

Таблица 4. Бюджет неопределенности результатов измерений массовой доли родственных примесей бензойной кислоты

Table 4. Uncertainty budget of the measurement results of the mass fraction of related impurities of benzoic acid

Источник	Оценка	Ед. изм.	u_i	Коэф. чувств. c_i	Закон распр.	Число степ. свободы, ν_i	$c_i u_i$	$c_i^2 u_i^2$
Повтор.	0,168	%	0,002 29	1	N	3	$2,3 \cdot 10^{-3}$	$5,2 \cdot 10^{-6}$
S1	17430,310	мОП · с	330,890 6	$-9,6 \cdot 10^{-6}$	N	3	$-3,2 \cdot 10^{-3}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$
S2	1,131	мОП · с	0,118 8	$5,7 \cdot 10^{-3}$	N	3	$6,8 \cdot 10^{-4}$	$4,6 \cdot 10^{-7}$
S3	3,321	мОП · с	0,076 3	$5,7 \cdot 10^{-3}$	N	3	$4,4 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-7}$
S4	0,609	мОП · с	0,259 6	$5,7 \cdot 10^{-3}$	N	3	$1,5 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$
S5	3,912	мОП · с	0,391 7	$5,7 \cdot 10^{-3}$	N	3	$2,2 \cdot 10^{-3}$	$5,0 \cdot 10^{-6}$
S6	20,320	мОП · с	0,194 5	$5,7 \cdot 10^{-3}$	N	3	$1,1 \cdot 10^{-3}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$
Стандартная неопределенность типа A, u_A , %								0,002 29
Стандартная неопределенность типа B, u_B , %								0,004 38
Суммарная стандартная неопределенность, u_C , %								0,004 95
Расширенная неопределенность при коэффициенте охвата $k=2$, U , %								0,010

По результатам проведенных измерений массовая доля родственных примесей в бензойной кислоте составила $(0,168 \pm 0,010)\%$.

На хроматограмме исследуемого раствора сорбиновой кислоты пиков, соответствующих родственным примесям, в пределах чувствительности используемого метода измерений выявлено не было. Массовая доля родственных примесей в сорбиновой кислоте была принята равной $(0,00 \pm 0,04)\%$.

2.3. Результаты измерений неорганических примесей

Суммарное значение массовых долей всех обнаруженных металлов для бензойной кислоты составляет $(0,000\,71 \pm 0,000\,05)\%$. Суммарное значение массовых долей всех обнаруженных металлов для сорбиновой кислоты составляет $(0,000\,8 \pm 0,000\,5)\%$.

2.4. Результаты идентификации и измерений массовой доли легколетучих примесей, отличных от воды

На хроматограммах равновесного пара над материалами-кандидатами для создания

СО, полученного при различных температурных программах (режимы а, б и с в соответствии со статьей 467 «Остаточные растворители» Фармакопеи США [25]), хроматографических пиков, в том числе пиков, соответствующих остаточным органическим растворителям и другим легколетучим соединениям, в пределах чувствительности используемого метода измерений выявлено не было.

По результатам проведенных измерений массовая доля легколетучих компонентов в бензойной и сорбиновой кислоте принята равной $(0,00 \pm 0,04)\%$.

2.5. Результаты измерений массовой доли основного вещества методом массового баланса

Установлено, что массовая доля основного вещества, полученная косвенным методом «сто минус сумма примесей», составила: $(99,77 \pm 0,04)\%$ – в бензойной кислоте; $(99,89 \pm 0,06)\%$ – в сорбиновой кислоте.

Прослеживаемость результатов измерений массовой доли основного вещества, полученных методом «сто минус сумма примесей»,

реализуются до ГЭТ 208. ГВЭТ 208–1 прошел процедуру первичной аттестации, в результате которой среди прочих получил компетенцию выполнять весь комплекс работ по оценке чистоты органических кислот (сорбиновой, бензойной, лимонной, винной, яблочной, глутаминовой, фумаровой), а также в части аттестации чистых органических веществ с низкой полярностью ($\log K_{ow}$ от минус 8,0 до минус 2,0) и молекулярной массой до 300 а. е. м. [18].

3. Подтверждение значения массовой доли основного вещества прямым методом

Схема получения результатов измерений массовой доли основного вещества и полученные значения прямым методом с указанием прослеживаемости результатов измерений приведена на рис. 9.

Для сравнения результатов измерений, полученных прямым и косвенным методами, использован алгоритм, описанный в [28].

Рассчитывали абсолютное расхождение результатов измерений массовой доли основного вещества, полученных косвенным и прямым методами, по формуле

$$\Delta = W_{OB(ГВЭТ208-1)} - W_{OB(ГВЭТ176-1)} \leq R, \quad (5)$$

где $W_{OB(ГВЭТ208-1)}$ – результат, полученный косвенным методом, %; $W_{OB(ГВЭТ176-1)}$ – результат, полученный прямым методом, %.

Полученное расхождение не превышает норматив R , рассчитанный по формуле

$$R = \sqrt{U_{ГВЭТ208-1}^2 + U_{ГВЭТ176-1}^2}, \quad (6)$$

где $U_{ГВЭТ208-1}$ – расширенная неопределенность результата, полученного косвенным методом, %; $U_{ГВЭТ176-1}$ – расширенная неопределенность результата, полученного прямым методом, %.

Далее рассчитывали отклонение от среднего арифметического значения и его расширенную неопределенность по формулам

$$d_i = W_i - \bar{W}, \quad (7)$$

$$U(d_i) = 2 \cdot \sqrt{u_c^2(W_i) + u_c^2(\bar{W})}, \quad (8)$$

где $\bar{W}$ – среднеарифметическое значение, рассчитанное по результатам, полученным прямым и косвенным методами, %; W_i – результат, полученный каждым методом, %.

Приведем итоги сравнения результатов косвенного и прямого метода (рис. 10).



Рис. 9. Схема получения результатов измерений титриметрическим методом

Fig. 9. The scheme for obtaining measurement results using the titrimetric method

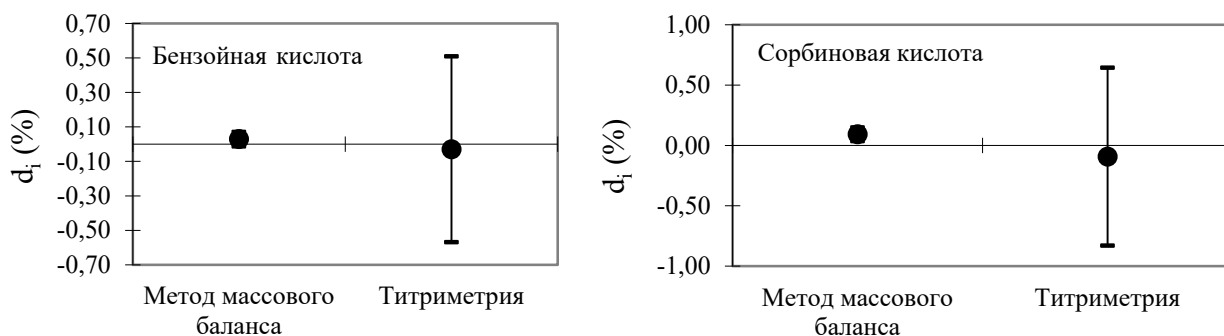


Рис. 10. Сравнение результатов измерений, полученных прямым и косвенным методами измерений

Fig. 10. Comparison of measurement results obtained by direct and indirect measurement methods

По результатам расчета для массовой доли основного вещества в бензойной и сорбиновой кислотах, полученных прямым и косвенным методами, выполняется условие

$$d_i \leq U(d_i). \quad (9)$$

Следовательно, результаты измерений прямым и косвенным методами измерений с учетом соответствующих неопределенностей являются согласованными.

4. Исследование однородности и стабильности материалов-кандидатов в СО

Измерения массовой доли основного вещества при исследовании однородности и стабильности материалов-кандидатов в СО выполнены косвенным методом «сто минус сумма примесей».

4.1. Оценка неоднородности материалов-кандидатов в СО

Проведена методом однофакторного дисперсионного анализа с использованием 6 экземпляров с учетом положений ГОСТ ISO Guide 35–2015¹⁸ (табл. 5).

Установлено, что межэкземплярная неоднородность превышает внутриэкземплярную неоднородность. Следовательно, стандартная неопределенность от неоднородности материалов-кандидатов в СО должна быть учтена при оценке расширенной неопределенности аттестованного значения СО.

¹⁸ ГОСТ ISO Guide 35–2015 Стандартные образцы. Общие и статистические принципы сертификации (аттестации).

4.2. Оценка нестабильности материалов-кандидатов в СО

Проведена методом классического старения с учетом положений ГОСТ ISO Guide 35–2015. Срок исследования нестабильности при температуре окружающего воздуха от 4 до 25 °С, равный половине предполагаемого срока годности, составил 6 месяцев. Результаты обработаны методом регрессионного анализа (табл. 6).

В соответствии с данными табл. 6, неопределенность, связанная с наклоном $s(b_1)$, не превышает доверительный интервал $t_{0,95;(n-2)} \cdot s(b_1)$, т. е. наклон не значим. Следовательно, нестабильность не наблюдается. Однако стандартная неопределенность от нестабильности СО должна быть учтена при оценке расширенной неопределенности аттестованного значения СО.

Выводы

Установленные в ходе работы метрологические характеристики СО объединены в табл. 7.

Разработанные СО внесены в реестр утвержденных типов стандартных образцов под номерами ГСО 12297–2023 (бензойная кислота) и ГСО 12298–2023 (сорбиновая кислота). Далее объединены нормированные метрологические характеристики (табл. 8).

Предназначение СО: а) хранение и передача единицы величины «массовая доля компонента», воспроизводимой ГЭТ 208; б) аттестация методик измерений; в) контроль точности результатов измерений массовой доли бензойной и сорбиновой кислот как основного компонента в сырье и составе пищевых продуктов, продовольственного сырья и фармацевтических препаратов. СО могут использоваться для проверки, калибровки, установления и контроля

Таблица 5. Результаты оценивания неоднородности материалов-кандидатов в СО
Table 5. The assessment results of heterogeneity of candidate materials for RMs

Наименование СО	Аттестуемая характеристика	MSwithin (%)*	MSamong (%)**	Стандартная неопределенность от неоднородности материала СО, %
СО состава бензойной кислоты	Массовая доля бензойной кислоты	0,002 1	0,028	0,081
СО состава сорбиновой кислоты	Массовая доля сорбиновой кислоты	0,002 4	0,030	0,084

Примечания. * MSwithin – средние квадраты отклонений результатов измерений от средних значений внутри одного экземпляра. ** MSamong – средние квадраты отклонений средних результатов между экземплярами.

Таблица 6. Результаты оценивания нестабильности материалов-кандидатов в СО
Table 6. The assessment results of instability of candidate materials for RM

Номер экз. СО	Месяц исследования	Результаты измерений массовой доли бензойной кислоты, %	Результаты измерений массовой доли сорбиновой кислоты, %
1	0	99,74	99,86
2	1	99,78	99,89
3	2	99,71	99,82
4	3	99,81	99,89
5	4	99,69	99,81
6	5	99,73	99,83
7	6	99,71	99,8
Коэффициент b_1		-0,007 9	-0,010 6
Коэффициент b_0		99,76	99,87
Стандартное отклонение точек от линии s		0,047	0,034
Неопределенность, связанная с наклоном $s(b_1)$		0,010 8	0,007 9
Критерий Стьюдента для $n-2$ степеней свободы и $P=0,95$, $t_{0,95;(n-2)}$		2,776	2,776
Доверительный интервал $t_{0,95;(n-2)} \cdot s(b_1)$		0,030	0,022
Заключение		Наклон не значим	Наклон не значим
Стандартная неопределенность от долговременной нестабильности, %		0,13	0,09

Таблица 7. Результаты оценивания метрологических характеристик СО

Table 7. The assessment results of metrological characteristics of RMs

Наименование характеристики	Бензойная кислота	Сорбиновая кислота
Аттестованное значение, %	99,77	99,89
Стандартная неопределенность от характеристики, %	0,06	0,06
Стандартная неопределенность от неоднородности, %	0,081	0,084
Стандартная неопределенность от долговременной нестабильности, %	0,13	0,09
Стандартная неопределенность от кратковременной нестабильности, %	0,04	0,12
Суммарная стандартная неопределенность, %	0,16	0,18
Расширенная неопределенность аттестованного значения ($k=2$, $P=0,95$), %	0,33	0,37

Таблица 8. Нормированные метрологические характеристики ГСО 12297–2023 и ГСО 12298–2023

Table 8. Standardized metrological characteristics of GSO 12297–2023 and GSO 12298–2023

Номер ГСО	Аттестуемая характеристика	Интервал допускаемых аттестованных значений, %	Границы допускаемых значений абсолютной погрешности при $P=0,95$, %	Допускаемое значение абсолютной расширенной неопределенности при $k=2$, $P=0,95$, %
ГСО 12297–2023	Массовая доля бензойной кислоты	от 95,00 до 100,00	$\pm 0,50$	0,50
ГСО 12298–2023	Массовая доля сорбиновой кислоты	от 95,00 до 100,00	$\pm 0,50$	0,50

стабильности градуировочной (калибровочной) характеристики, проведения испытаний в целях утверждения типа средств измерений.

Заключение

Результатом исследований стала разработка СО состава бензойной кислоты ($C_7H_6O_2$ СО УНИИМ) ГСО 12297–2023, СО состава сорбиновой кислоты ($C_6H_8O_2$ СО УНИИМ) ГСО 12298–2023 с аттестованным значением массовой доли основного вещества с установленной прослеживаемостью к ГЭТ 208. Использование для характеристики международно признанного подхода «сто минус сумма примесей», реализованного на оборудовании из состава государственных первичных

и вторичных эталонов ГЭТ 173, ГЭТ 176, ГВЭТ 208–1, оптимизация параметров проведения измерений позволило обеспечить точность разработанных СО в четыре раза по сравнению с существующими аналогами.

Полученная в ходе исследования согласованность результатов измерений прямым и косвенным методами измерений демонстрирует применимость СО для метрологического обеспечения как хроматографических методик измерений (ГОСТ 33332–2015, ГОСТ 33809–2016, ГОСТ ISO 9231–2015, ГОСТ 34882–2022), используемых в пищевой промышленности, так и титриметрических методик, применяемых для оценивания чистоты фармацевтических субстанций ФС.2.1.0066.18, ФС.2.1.0035.15.

В настоящее время продолжают исследования по разработке СО состава органических кислот, требования к которым установлены в технических регламентах Таможенного и Евразийского экономических союзов.

Вклад соавторов: Все авторы внесли свой вклад в концепцию и дизайн исследования. Крашенинина М. П. – разработка замысла исследования, разработка методологии, обработка экспериментальных данных, написание чернового варианта статьи; Шохина О. С. – работа с источниками литературы, проведение исследовательских работ, подготовка визуальных материалов; Макарова С. Г. – проведение исследовательских работ; Голынец О. С. – курирование данных, формулировка выводов; Сергеева А. С. – работа с источниками литературы, проверка и редакция текста статьи.

Contribution of the authors: All authors contributed to the concept and design of the study. Krasheninina M. P. – development of the research concept, development of the methodology, processing of the experimental data, preparation of the draft; Shokhina O. S. – work with literature sources, research work, preparation of visual materials; Makarova S. G. – research work; Golynets O. S. – data curation, formulation of conclusions; Sergeeva A. S. – work with literature sources, revision of the text.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Работа

выполнена в рамках диссертационного исследования «Совершенствование метрологического обеспечения измерений содержания белковых соединений, органических кислот в пищевых продуктах».

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest. The work was carried out as part of the dissertation research «Improvement of the metrological support for measuring the content of protein compounds, organic acids in food products».

Финансирование: Исследование выполнено при финансировании по Государственному контракту № 120–38/2023 на выполнение опытно-конструкторской работы по теме «Разработка и выпуск новых комплексов стандартных образцов и мер для обеспечения единства измерений по приоритетным направлениям в целях технологического суверенитета Российской Федерации» (шифр ОКР «Суверенитет») от 17 мая 2023 г.

Funding: The study was carried out with funding under State Contract No. 120–38/2023 dated May 17, 2023 for the performance of research and development under the following topic: «Development and production of new complexes of reference standards and measures to ensure the uniformity of measurements in the priority areas for the purposes of securing technological sovereignty of the Russian Federation» (R&D code: «Sovereignty»).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Применение подвижных фаз с ион-парными реагентами для разделения смесей бензойной и сорбиновой кислот / А. С. Осипов [и др.] // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2012. № 3. С. 11–13.
2. Olmo A. D., Calzada J., Nuñez M. Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2017. Vol. 57, Iss. 14. P. 3084–3103. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087964>
3. Luca C. D., Passi S., Quattrucci E. Simultaneous determination of sorbic acid, benzoic acid and parabens in foods: a new gas chromatography-mass spectrometry technique adopted in a survey on Italian foods and beverages // Food Additives & Contaminants. 1995. Vol. 12, Iss. 1. P. 1–7. <https://doi.org/10.1080/02652039509374273>
4. Effect of coated-benzoic acid on growth performance, immunity, and intestinal functions in weaned pigs challenged by enterotoxigenic Escherichia coli / J. Qi [et al.] // Frontiers in Veterinary Science. 2024. Vol. 11. P. 1430696. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1430696>
5. Determining food safety in canned food using fuzzy logic based on sulphur dioxide, benzoic acid and sorbic acid concentration / N. R. Mavani [et al.] // Heliyon. 2024. Vol. 10, Iss. 4. P. e26273. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26273>
6. Morgan M. E., Lui K., Anderson B. D. Microscale titrimetric and spectrophotometric methods for determination of ionization constants and partition coefficients of new drug candidates // Journal of Pharmaceutical Science. 1998. Vol. 87, Iss. 2. P. 238–245. <https://doi.org/10.1021/js970057s>

7. Simultaneous 2nd order derivative spectrophotometric determination of sorbic and benzoic acids in soft drinks // *J. C. Castro* [et al.] // *Analytical Letter*. 1992. Vol. 25, Iss. 12. P. 2357–2376.
8. *Maxstadt J. J., Karasz A. B.* Rapid spectrophotometric method for the determination of sorbic acid in fresh dairy products // *Association of Official Analytical Chemists*. 1972. Vol. 55, Iss. 1. P. 7–8.
9. *Bui L. V., Cooper C.* Reverse-phase liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acids in foods // *Association of Official Analytical Chemists*. 1987. Vol. 70, Iss. 5. P. 892–896.
10. *Elsayed M. G. M. H., Gomaa A. M., Elhassan A. E. F. A.* Determination of sorbic acid and benzoic acid using reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) in different food commodities // *Pharm Analysis & Quality Assurance*. 2017. № 3. P. 1–5.
11. Simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in commercial juices using the PLS-2 multivariate calibration method and validation by high performance liquid chromatography / *V. A. Lozano* [et al.] // *Talanta*. 2007. Vol. 73, Iss. 2. P. 282–286. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.03.041>
12. *Destanoğlu O.* Simultaneous determination of benzoic acid and sorbic acid in non-alcoholic beverages by a validated HS-GC-MS method with reduced waste // *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2023. Vol. 40, Iss. 7. P. 812–823. <https://doi.org/10.1080/19440049.2023.2224891>
13. Simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, and propionic acid in fermented food by headspace solid-phase microextraction followed by GC-FID / *N. Tungkijanansin* [et al.] // *Food Chem*. 2020. Vol. 329. P. 127161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127161>
14. Simultaneous determination of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and ethylparaben in foods by high-performance liquid chromatography / *J. S. So* [et al.] // *Food Science and Biotechnology*. 2023. Vol. 32, Iss. 9. P. 1173–1183. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01264-7>
15. Determination of sorbate and benzoate in beverage samples by capillary electrophoresis. Optimization of the method with inspection of ionic mobilities / *A. C. O. Costa* [et al.] // *Journal of Chromatography*. 2008. Vol. 1204, Iss. 1. P. 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.07.075>
16. Online preconcentration in capillary electrophore with contactless conductivity detection for sensitive determination of sorbic and benzoic acids in soy sauce / *R. Wei* [et al.] // *Talanta*. 2011. Vol. 83, Iss. 5. P. 1487–1490. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.11.036>
17. Minutes from the fifth meeting (February 1998) of the Consultative Committee on the Quantity of Material (CCQM) of the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM). Sèvres: France, 1998.
18. *Мухеева А. Ю., Крылов А. И.* Прослеживаемость в органическом анализе. Часть 1. Эквивалентность национальных и международных эталонов // *Эталоны. Стандартные образцы*. 2020. Т. 16, № 3. С. 5–21. <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2020-16-3-5-21>
19. *Мухеева А. Ю., Ткаченко И. Ю., Крылов А. И.* Прослеживаемость в органическом анализе. Часть 2. Государственный первичный эталон в области органического анализа ГЭТ 208: границы компетенции и сферы применения // *Эталоны. Стандартные образцы*. 2023. Т. 19, № 5. С. 7–33. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-5-7-33>
20. Methods for the SI-traceable value assignment of the purity of organic compounds (IUPAC Technical Report) / *S. Westwood* [et al.] // *Pure and applied Chemistry*. 2023. Vol. 95, Iss. 1. P. 1–77. <https://doi.org/10.1515/pac-2020-0804>
21. Эталонная установка на основе термогравиметрического анализа с масс-спектрометрическим детектированием в составе государственного первичного эталона ГЭТ 173 / *М. Ю. Медведевских* [и др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2018. Т. 84, № 6. С. 63–69. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2018-84-6-63-68>
22. Создание эталонов сравнения для реализации Государственной поверочной схемы средств измерений содержания воды / *М. Ю. Медведевских* [и др.] // *Измерительная техника*. 2019. № 6. С. 3–10. <https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2019-6-3-10>
23. *Шохина О. С., Медведевских М. Ю., Сергеева А. С.* Альтернативные способы определения воды и остаточных органических растворителей в фармацевтических субстанциях // *Аналитика*. 2022. Т. 12, № 5. С. 360–369. <https://doi.org/10.22184/2227-572X.2022.12.5.360.369>
24. Разработка Государственного вторичного эталона и стандартных образцов состава на основе жидкостной и газовой хроматографии / *О. С. Шохина* [и др.] // *Стандартные образцы*. 2017. Т. 13, № 1. С. 9–26. <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2017-13-1-9-26>
25. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том III. М.: ФЭМБ, 2018. 1924 с.
26. Создание стандартного образца состава аскорбиновой кислоты / *М. П. Крашенинина* [и др.] // *Измерительная техника*. 2020. № 4. С. 57–65. <https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2020-4-57-65>
27. *Крашенинина М. П.* Разработка государственного вторичного эталона и стандартных образцов для повышения достоверности контроля азота в пищевых продуктах и активного хлора в питьевой воде : спец. 05.11.15. «Метрология и метрологическое обеспечение» : автореферат дисс. на соискание степени канд. техн. наук / М. П. Крашенинина; ФГУП «УНИИМ», ФГАОУ «УрФУ им. первого Президента России Б. Н. Ельцина».

Екатеринбург, 2015. Место защиты: ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева».

URL: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01006645465?page=1&rotate=0&theme=white> (дата обращения: 20.09.2024).

28. CCQM Guidance note: Estimation of a consensus KCRV and associated Degrees of Equivalence. Version: 10. Date: 2013-04-12 // Bureau International des Poids et Mesures.

URL: <https://www.bipm.org/documents/20126/28430045/working-document-ID-5794/49d366bc-295f-18ca-c4d3-d68aa54077b5>

REFERENCES

1. Osipov A. S., Nechaeva E. B., Pobedin O. A., Truhacheva L. A. The use of mobile phases with ion-pairing reagents for separation of mixtures of benzoic and sorbic acids. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2012;(3):11–13. (In Russ.).
2. Olmo A. D., Calzada J., Nuñez M. Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(14):3084–3103. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087964>
3. Luca C. D., Passi S., Quattrucci E. Simultaneous determination of sorbic acid, benzoic acid and parabens in foods: a new gas chromatography-mass spectrometry technique adopted in a survey on Italian foods and beverages. *Food Additives & Contaminants*. 1995;12(1):1–7. <https://doi.org/10.1080/02652039509374273>
4. Qi J., Yu B., Hu Y., Luo Y., Zheng P., Mao X. et al. Effect of coated-benzoic acid on growth performance, immunity, and intestinal functions in weaned pigs challenged by enterotoxigenic Escherichia coli. *Frontiers in Veterinary Science*. 2024;11:1430696. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1430696>
5. Mavani N. R., Ali J. M., Hussain M. A., Rahman N. Abd., Hashim H. Determining food safety in canned food using fuzzy logic based on sulphur dioxide, benzoic acid and sorbic acid concentration. *Heliyon*. 2024;10(4):e26273. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26273>
6. Morgan M. E., Lui K., Anderson B. D. Microscale titrimetric and spectrophotometric methods for determination of ionization constants and partition coefficients of new drug candidates. *Journal of Pharmaceutical Science*. 1998;87(2):238–245. <https://doi.org/10.1021/js970057s>
7. Castro J. C., Delgado M. A., Sanchez M. J., Montelongo F. G. Simultaneous 2nd order derivative spectrophotometric determination of sorbic and benzoic acids in soft drinks. *Analytical letter*. 1992;25(12):2357–2376.
8. Maxstadt J. J., Karasz A. B. Rapid spectrophotometric method for the determination of sorbic acid in fresh dairy products. *Association of Official Analytical Chemists*. 1972;55(1):7–8.
9. Bui L. V., Cooper C. Reverse-phase liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acids in foods. *Association of Official Analytical Chemists*. 1987;70(5):892–896.
10. Elsayed M. G. M. H., Gomaa A. M., Elhassan A. E. F. A. Determination of sorbic acid and benzoic acid using reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) in different food commodities. *Pharm Analysis & Quality Assurance*. 2017;(3):1–5.
11. Lozano V. A., Camina J. M., Boeris M. S., Marchevsky E. J. Simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in commercial juices using the PLS-2 multivariate calibration method and validation by high performance liquid chromatography. *Talanta*. 2007;73(2):282–286. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.03.041>
12. Destanoğlu O. Simultaneous determination of benzoic acid and sorbic acid in non-alcoholic beverages by a validated HS-GC-MS method with reduced waste. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2023;40(7):812–823. <https://doi.org/10.1080/19440049.2023.2224891>
13. Tungkijansin N., Alahmad W., Nhujak T., Varanusupakul P. Simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, and propionic acid in fermented food by headspace solid-phase microextraction followed by GC-FID. *Food Chem*. 2020;329:127161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127161>
14. So J. S., Lee S. B., Lee J. H., Nam H. S., Lee J. K. Simultaneous determination of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and ethylparaben in foods by high-performance liquid chromatography. *Food Science and Biotechnology*. 2023;32(9):1173–1183. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01264-7>
15. Costa A. C. O., Perfeito L. D. S., Tavares M. F. M., Micke G. A. Determination of sorbate and benzoate in beverage samples by capillary electrophoresis. Optimization of the method with inspection of ionic mobilities. *Journal of Chromatography*. 2008;1204(1):123–127. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.07.075>
16. Wei R., Li W., Yang L., Jiang Y., Xie T. Online preconcentration in capillary electrophore with contactless conductivity detection for sensitive determination of sorbic and benzoic acids in soy sauce. *Talanta*. 2011;83(5):1487–1490. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.11.036>
17. Minutes from the fifth meeting (February 1998) of the Consultative Committee on the Quantity of Material (CCQM) of the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM). Sèvres. France: 1998.
18. Mikheeva A. Yu., Krylov A. I. Traceability in organic analysis. Report 1: Equivalence of the national and international measurement standards. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2020;16(3):5–21. (In Russ.). <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2020-16-3-5-21>

19. Mikheeva A. Yu., Tkachenko I. Yu., Krylov A. I. Traceability in organic analysis. Report 2. State primary standard in the field of organic analysis GET 208: limits of competence and scope of application. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2023;19(5):7–33. (In Russ.). <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2023-19-5-7-33>
20. Westwood S., Lippa K., Shimuzu Y., Lalerle B., Saito T., Duewer D. L. et al. Methods for the SI-traceable value assignment of the purity of organic compounds (IUPAC Technical Report). *Pure and applied Chemistry*. 2023;95(1):1–77. <https://doi.org/10.1515/pac-2020-0804>
21. Medvedevskikh M. Yu., Krasheninina M. P., Sergeeva A. S., Shokhina O. S. A reference installation based on thermo-gravimetric analysis with mass-spectrometric detection as a part of the state primary standard GET 173. *Industrial laboratory. Diagnostics of materials*. 2018;84(6):63–70. (In Russ.). <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2018-84-6-63-68>
22. Medvedevskikh M. Y., Sergeeva A. S., Krasheninina M. P., Shokhina O. S. Creating reference standards for the implementation of the state verification scheme for water content measurement. *Measurement Techniques*. 2019;6:3–10. (In Russ.). <https://doi.org/10.1007/s11018-019-01649-3>
23. Shokhina O. S., Medvedevskikh M. Yu., Sergeeva A. S. Alternative methods for determination of water and residual organic solvents in pharmaceutical substances. *Analytics*. 2022;12(5):360–369. (In Russ.). <https://doi.org/10.22184/2227-572X.2022.12.5.360.369>
24. Shokhina O. S., Medvedevskikh M. Yu., Krasheninina M. P., Makarova S. G., Krylov A. I., Tkachenko I. Yu. et al. Development of the state secondary measurement standard and certified reference materials for composition on the basis of liquid and gas chromatography. *Measurement Standards. Reference Materials*. 2017;13(1):9–26. (In Russ.). <https://doi.org/10.20915/2077-1177-2017-13-1-9-26>
25. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed. Vol. III. Moscow: FEMB, 2018. 1924 p. (In Russ.).
26. Krasheninina M. P., Shokhina O. S., Sergeeva A. S., Tabatchikova T. N., Baranovskaya V. B., Karpov Y. A. Creation of certified reference material of ascorbic acid composition. *Izmeritel'naya Tekhnika*. 2020;4(4):57–65. (In Russ.). <https://doi.org/10.32446/0368-1025it.2020-4-57-65>
27. Krasheninina M. P. Development of state secondary measurement standard and reference materials to increase the reliability of nitrogen control in food products and active chlorine in drinking water. PhD (Eng.). sci. diss., FSUP UNIIM, FGAOU UrFU named after the first President of Russia B. N. Yeltsin. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01006645465?page=1&rotate=0&theme=white> [Accessed 20 September 2024]. (In Russ.).
28. CCQM Guidance note: Estimation of a consensus KCRV and associated Degrees of Equivalence. Version: 10. Date: 2013-04-12.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Крашенинина Мария Павловна – канд. техн. наук, ученый-хранитель ГЭТ 173, ученый-хранитель ГВЭТ 208–1, старший научный сотрудник лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»
620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, д. 4
e-mail: krasheninina_m@uniim.ru
Researcher ID: B-8302–2019
<https://orcid.org/0000-0003-3691-1124>

Шохина Ольга Сергеевна – помощник ученого-хранителя ГВЭТ 208–1, научный сотрудник лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»
620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, д. 4
e-mail: shokhinaos@uniim.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8008-1669>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maria P. Krasheninina – Cand. Sci. (Eng.), Scientific Custodian of the GET 173, Scientific Custodian of the GVET 208–1, Senior Researcher of the laboratory for metrological support of moisture measurement and reference materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleyev Institute for Metrology
4 Krasnoarmeyskaya st., Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: krasheninina_m@uniim.ru
Researcher ID: B-8302–2019
<https://orcid.org/0000-0003-3691-1124>

Olga S. Shokhina – Assistant Scientific Custodian of the GVET 208–1, Researcher of the laboratory for metrological support of moisture measurement and reference materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleyev Institute for Metrology
4 Krasnoarmeyskaya st., Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: shokhinaos@uniim.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8008-1669>

Макарова Светлана Германовна – помощник ученого-хранителя ГВЭТ 176–1, инженер лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»
620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, д. 4
e-mail: makarovasg@uniim.ru

Голынец Ольга Станиславовна – ученый-хранитель ГВЭТ 176–1, и. о. заведующего лабораторией метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, д. 4
e-mail: golynets_olga@uniim.ru
Researcher ID: ABD-7662–2021
<https://orcid.org/0000-0002-6975-7744>

Сергеева Анна Сергеевна – канд. хим. наук, старший научный сотрудник лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»
620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская, д. 4
e-mail: sergeevaas@uniim.ru
Researcher ID: AAE-7942–2021
<https://orcid.org/0000-0001-8347-2633>

Svetlana G. Makarova – Assistant Scientific Custodian of the GVET 176–1, Engineer of the laboratory for metrological support of moisture measurement and reference materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleyev Institute for Metrology
4 Krasnoarmeyskaya st., Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: makarovasg@uniim.ru

Olga S. Golynets – Scientific Custodian of the GVET 176–1, Acting Head of the laboratory for metrological support of moisture measurement and reference materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleyev Institute for Metrology
4 Krasnoarmeyskaya st., Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: golynets_olga@uniim.ru
Researcher ID: ABD-7662–2021
<https://orcid.org/0000-0002-6975-7744>

Anna S. Sergeeva – Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher of the laboratory for metrological support of moisture measurement and reference materials, UNIIM – Affiliated Branch of the D. I. Mendeleyev Institute for Metrology
4 Krasnoarmeyskaya st., Yekaterinburg, 620075, Russia
e-mail: sergeevaas@uniim.ru
Researcher ID: AAE-7942–2021
<https://orcid.org/0000-0001-8347-2633>