

## Sorbiinhappe määramine HPLC meetodil

Meetod baseerub Põhjamaade Toiduanalüüsi Komitee (Nordic Committee of Food Analyses) standardil nr. 124(87)

KASUTUSALA: Bensoehappe ja sorbiinhappe määramine, mis on lisatud toiduainetele konservandina. Meetodika on valideeritud konservantide määramisel mahlas, margariinis, ketõupis ja majoneesis.

PÕHIMÕTE: Konservandid ekstraheeritakse toiduainetest metanooli ja veega. Proovid filtreeritakse ning saadud lahuses sisalduvad konservandid lahutatakse kolonni Supelco C18 abil ja määratakse vedelikkromatograafi Shimadzu ja UV detektoriga lainepikkusel 235 nm. Väikseim määratav kogus on 5 mg/kg.

### Model Equation:

{ Põhivõrrand }

$$C = (A_{\text{proov}} - b_0) / b_1 * L / R;$$

{ Kromatograafilised mõõtmised }

eeldame, et kõikide mõõtmiste määramatus koosneb kolmest komponendist (proovi piigi pindala  $A_{\text{proov}}$  näitel):

- Korduvuse määramatus (sisaldub  $A_{\text{sample\_rep}}$ );
- Määramatus, mis põhjustatud detektori triivist ( $A_{\text{sample\_drift}}$ )
- Määramatus, mis põhjustatud integreerimise ebaoptimaalsusest ( $A_{\text{sample\_integr}}$ )

}

{ Proovi piigi pindala }

$$A_{\text{proov}} = A_{\text{proov\_rep}} + A_{\text{proov\_drift}} + A_{\text{proov\_integr}};$$

{ Saagis }

$$R = R_0 * f_{\text{ebahomog}};$$

{ Kalibreerimisgraafiku piikide pindalad }

$$A_1 = A_{1\text{rep}} + A_{1\text{drift}} + A_{1\text{integr}};$$

$$A_2 = A_{2\text{rep}} + A_{2\text{drift}} + A_{2\text{integr}};$$

$$A_3 = A_{3\text{rep}} + A_{3\text{drift}} + A_{3\text{integr}};$$

$$A_4 = A_{4\text{rep}} + A_{4\text{drift}} + A_{4\text{integr}};$$

$$A_5 = A_{5\text{rep}} + A_{5\text{drift}} + A_{5\text{integr}};$$

{ Regressioonisirge võrrandid }

$$\Sigma AC = C_1 \cdot A_1 + C_2 \cdot A_2 + C_3 \cdot A_3 + C_4 \cdot A_4 + C_5 \cdot A_5;$$

$$\text{AvgC} = (C_1 + C_2 + C_3 + C_4 + C_5) / n;$$

$$\text{AvgA} = (A_1 + A_2 + A_3 + A_4 + A_5) / n;$$

$$\Sigma CC = C_1 \cdot C_1 + C_2 \cdot C_2 + C_3 \cdot C_3 + C_4 \cdot C_4 + C_5 \cdot C_5;$$

$$b_1 = (\Sigma AC - n \cdot \text{AvgC} \cdot \text{AvgA}) / (\Sigma CC - n \cdot \text{AvgC} \cdot \text{AvgC});$$

$$b_0 = \text{AvgA} - b_1 \cdot \text{AvgC}$$

### List of Quantities:

Quantity	Unit	Definition
C	mg/kg	Sorbiinhappe kontsentratsioon proovis
A <sub>proov</sub>	AU	Proovi lahuse piigi pindala
b <sub>0</sub>	AU	Regressioonisirge vabaliige
b <sub>1</sub>	AU*l/mg	Regressioonisirge tõus
L	l/kg	Lahjendusfaktor
R	ühikuta	Saagis (Recovery)
A <sub>proov_rep</sub>	AU	proovi lahuse piigi pindala koos korduvusest tingitud määramatuse komponendiga
A <sub>proov_drift</sub>	AU	proovi lahuse piigi pindala korduvusest tingitud määramatuse komponent
A <sub>proov_integr</sub>	AU	proovi lahuse piigi pindala ümardamisest tingitud määramatuse komponent
R <sub>0</sub>	ühikuta	Saagis ise
f <sub>ebahomog</sub>	ühikuta	Ebahomogeensusfaktor, mis võtab arvesse seda, et spaikimisel ei satu lisatav analüüt proovi sisse täpselt samasse olekusse, mis seal juba oelv analüüt
A <sub>1</sub>	AU	1. kalibreerimislahuse piigi pindala
A <sub>1rep</sub>	AU	1. kalibreerimislahuse piigi pindala väärtus koos korduvusest tingitud määramatuse komponendiga
A <sub>1drift</sub>	AU	1. kalibreerimislahuse piigi pindala triivist tingitud määramatuse komponent
A <sub>1integr</sub>	AU	1. kalibreerimislahuse piigi pindala integreerimisest tingitud määramatuse komponent
A <sub>2</sub>	AU	2. kalibreerimislahuse piigi pindala
A <sub>2rep</sub>	AU	2. kalibreerimislahuse piigi pindala väärtus koos korduvusest tingitud määramatuse komponendiga
A <sub>2drift</sub>	AU	2. kalibreerimislahuse piigi pindala triivist tingitud määramatuse komponent

Quantity	Unit	Definition
$A_{2integr}$	AU	2. kalibreerimislahuse piigi pindala integreerimisest tingitud määramatuse komponent
$A_3$	AU	3. kalibreerimislahuse piigi pindala
$A_{3rep}$	AU	3. kalibreerimislahuse piigi pindala väärtus koos korduvusest tingitud määramatuse komponendiga
$A_{3drift}$	AU	3. kalibreerimislahuse piigi pindala triivist tingitud määramatuse komponent
$A_{3integr}$	AU	3. kalibreerimislahuse piigi pindala integreerimisest tingitud määramatuse komponent
$A_4$	AU	4. kalibreerimislahuse piigi pindala
$A_{4rep}$	AU	4. kalibreerimislahuse piigi pindala väärtus koos korduvusest tingitud määramatuse komponendiga
$A_{4drift}$	AU	4. kalibreerimislahuse piigi pindala triivist tingitud määramatuse komponent
$A_{4integr}$	AU	4. kalibreerimislahuse piigi pindala integreerimisest tingitud määramatuse komponent
$A_5$	AU	5. kalibreerimislahuse piigi pindala
$A_{5rep}$	AU	5. kalibreerimislahuse piigi pindala väärtus koos korduvusest tingitud määramatuse komponendiga
$A_{5drift}$	AU	5. kalibreerimislahuse piigi pindala triivist tingitud määramatuse komponent
$A_{5integr}$	AU	5. kalibreerimislahuse piigi pindala integreerimisest tingitud määramatuse komponent
$\Sigma AC$	AU*mg/l	abisuurus regressiooni jaoks
$C_1$	mg/l	1. kalibreerimislahuse kontsentratsioon
$C_2$	mg/l	2. kalibreerimislahuse kontsentratsioon
$C_3$	mg/l	3. kalibreerimislahuse kontsentratsioon
$C_4$	mg/l	4. kalibreerimislahuse kontsentratsioon
$C_5$	mg/l	5. kalibreerimislahuse kontsentratsioon
AvgC	mg/l	abisuurus regressiooni jaoks
n	ühikuta	punktide arv regressioonisirgel
AvgA	AU	abisuurus regressiooni jaoks
$\Sigma CC$	mg <sup>2</sup> /l <sup>2</sup>	abisuurus regressiooni jaoks

**C:** Result  
**A<sub>prov</sub>:** Interim Result  
**b<sub>0</sub>:** Interim Result  
**b<sub>1</sub>:** Interim Result

**L:** Type B rectangular distribution  
Value: 20 l/kg  
Halfwidth of Limits: 0.2 l/kg

**R:** Interim Result

**A<sub>proov\_rep</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 200 AU  
Halfwidth of Limits: 2 AU

On eeldatud, et pindala korduvuse määramatus on ca ± 1% pindalast

**A<sub>proov\_drift</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 2 AU

On eeldatud, et triivis tingitud määramatus pole üle 1% pindalast

**A<sub>proov\_integr</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 4 AU

On eeldatud, et proovi lahuse puhul on see määramatus suurem, kui kalibreerimislahuse puhul: ca ± 6 pindalaühikut (samuti pindalast ca sõltumatu)

**R<sub>0</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0.93 ühikuta  
Halfwidth of Limits: 0.07 ühikuta

Saagise R<sub>0</sub> määramatus kujutab endast proovi ettevalmistamise määramatust ja sellisena sisaldab ka suuremat osa meetodi summaarsest korratavuse määramatusest

**f<sub>ebahomog</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 1 ühikuta  
Halfwidth of Limits: 0.03 ühikuta

Ebahomogeensusfaktori määramatus võtab arvesse seda, et spaikimisel ei satu lisatav analüüt proovi sisse täpselt samasse olekusse, mis seal juba oelv analüüt

**A<sub>1</sub>:** Interim Result

**A<sub>1rep</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 50 AU  
Halfwidth of Limits: 0.5 AU

On eeldatud, et pindala korduvuse määramatus on ca ± 1% pindalast

**A<sub>1drift</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: .5 AU

On eeldatud, et triivis tingitud määramatus pole üle 1% pindalast

**A<sub>1integr</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 2 AU

On eeldatud, et kalibreerimislahuste puhul on see määramatus pindalast sõltumatu ja ca ± 2 pindalaühikut

**A<sub>2</sub>:** Interim Result

**A<sub>2rep</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 100 AU  
Halfwidth of Limits: 1 AU

On eeldatud, et pindala korduvuse määramatus on ca ± 1% pindalast

**A<sub>2drift</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 1 AU

On eeldatud, et triivis tingitud määramatus pole üle 1% pindalast

**A<sub>2integr</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 2 AU

On eeldatud, et kalibreerimislahuste puhul on see määramatus pindalast sõltumatu ja ca ± 2 pindalaühikut

**A<sub>3</sub>:** Interim Result

**A<sub>3rep</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 250 AU  
Halfwidth of Limits: 2.5 AU

On eeldatud, et pindala korduvuse määramatus on ca ± 1% pindalast

**A<sub>3drift</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 2.5 AU

On eeldatud, et triivis tingitud määramatus pole üle 1% pindalast

**A<sub>3integr</sub>:** Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 2 AU

On eeldatud, et kalibreerimislahuste puhul on see määramatus pindalast sõltumatu ja ca ± 2 pindalaühikut

**A<sub>4</sub>:** Interim Result

**A<sub>4rep</sub>**: Type B rectangular distribution  
Value: 500 AU  
Halfwidth of Limits: 5 AU

On eeldatud, et pindala korduvuse määramatus on ca ± 1% pindalast

**A<sub>4drift</sub>**: Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 5 AU

On eeldatud, et triivis tingitud määramatus pole üle 1% pindalast

**A<sub>4integr</sub>**: Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 2 AU

On eeldatud, et kalibreerimislahuste puhul on see määramatus pindalast sõltumatu ja ca ± 2 pindalaühikut

**A<sub>5</sub>**: Interim Result

**A<sub>5rep</sub>**: Type B rectangular distribution  
Value: 750 AU  
Halfwidth of Limits: 7.5 AU

On eeldatud, et pindala korduvuse määramatus on ca ± 1% pindalast

**A<sub>5drift</sub>**: Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 7.5 AU

On eeldatud, et triivis tingitud määramatus pole üle 1% pindalast

**A<sub>5integr</sub>**: Type B rectangular distribution  
Value: 0 AU  
Halfwidth of Limits: 2 AU

On eeldatud, et kalibreerimislahuste puhul on see määramatus pindalast sõltumatu ja ca ± 2 pindalaühikut

**ΣAC**: Interim Result

**C<sub>1</sub>**: Type B normal distribution  
Value: 5 mg/l  
Expanded Uncertainty: 0.05 mg/l  
Coverage Factor: 1

**C<sub>2</sub>**: Type B normal distribution  
Value: 10 mg/l  
Expanded Uncertainty: 0.1 mg/l  
Coverage Factor: 1

**C<sub>3</sub>:** Type B normal distribution  
Value: 25 mg/l  
Expanded Uncertainty: 0.25 mg/l  
Coverage Factor: 1

**C<sub>4</sub>:** Type B normal distribution  
Value: 50 mg/l  
Expanded Uncertainty: 0.5 mg/l  
Coverage Factor: 1

**C<sub>5</sub>:** Type B normal distribution  
Value: 75 mg/l  
Expanded Uncertainty: 0.75 mg/l  
Coverage Factor: 1

**AvgC:** Interim Result

**n:** Constant  
Value: 5 ühikuta

**AvgA:** Interim Result

**ΣCC:** Interim Result

**Uncertainty Budget:**

Quantity	Value	Standard Uncertainty	Distribution	Sensitivity Coefficient	Uncertainty Contribution	Index
L	20.000 l/kg	0.115 l/kg	rectangular	22	2.5 mg/kg	1.3 %
A <sub>proov_rep</sub>	200.00 AU	1.15 AU	rectangular	2.2	2.5 mg/kg	1.3 %
A <sub>proov_drift</sub>	0.0 AU	1.15 AU	rectangular	2.2	2.5 mg/kg	1.3 %
A <sub>proov_integr</sub>	0.0 AU	2.31 AU	rectangular	2.2	5.0 mg/kg	5.4 %
R <sub>0</sub>	0.9300 ühikuta	0.0404 ühikuta	rectangular	-460	-19 mg/kg	76.5 %
f <sub>ebahomog</sub>	1.0000 ühikuta	0.0173 ühikuta	rectangular	-430	-7.5 mg/kg	12.1 %
A <sub>1rep</sub>	50.000 AU	0.289 AU	rectangular	-0.66	-0.19 mg/kg	0.0 %
A <sub>1drift</sub>	0.0 AU	0.289 AU	rectangular	-0.66	-0.19 mg/kg	0.0 %
A <sub>1integr</sub>	0.0 AU	1.15 AU	rectangular	-0.66	-0.76 mg/kg	0.1 %
A <sub>2rep</sub>	100.000 AU	0.577 AU	rectangular	-0.62	-0.36 mg/kg	0.0 %
A <sub>2drift</sub>	0.0 AU	0.577 AU	rectangular	-0.62	-0.36 mg/kg	0.0 %
A <sub>2integr</sub>	0.0 AU	1.15 AU	rectangular	-0.62	-0.71 mg/kg	0.1 %
A <sub>3rep</sub>	250.00 AU	1.44 AU	rectangular	-0.50	-0.71 mg/kg	0.1 %
A <sub>3drift</sub>	0.0 AU	1.44 AU	rectangular	-0.50	-0.71 mg/kg	0.1 %
A <sub>3integr</sub>	0.0 AU	1.15 AU	rectangular	-0.50	-0.57 mg/kg	0.0 %
A <sub>4rep</sub>	500.00 AU	2.89 AU	rectangular	-0.29	-0.84 mg/kg	0.2 %
A <sub>4drift</sub>	0.0 AU	2.89 AU	rectangular	-0.29	-0.84 mg/kg	0.2 %
A <sub>4integr</sub>	0.0 AU	1.15 AU	rectangular	-0.29	-0.34 mg/kg	0.0 %
A <sub>5rep</sub>	750.00 AU	4.33 AU	rectangular	-0.088	-0.38 mg/kg	0.0 %
A <sub>5drift</sub>	0.0 AU	4.33 AU	rectangular	-0.088	-0.38 mg/kg	0.0 %
A <sub>5integr</sub>	0.0 AU	1.15 AU	rectangular	-0.088	-0.10 mg/kg	0.0 %
C <sub>1</sub>	5.0000 mg/l	0.0500 mg/l	normal	6.6	0.33 mg/kg	0.0 %
C <sub>2</sub>	10.000 mg/l	0.100 mg/l	normal	6.2	0.62 mg/kg	0.0 %
C <sub>3</sub>	25.000 mg/l	0.250 mg/l	normal	5.0	1.2 mg/kg	0.3 %
C <sub>4</sub>	50.000 mg/l	0.500 mg/l	normal	2.9	1.5 mg/kg	0.5 %
C <sub>5</sub>	75.000 mg/l	0.750 mg/l	normal	0.88	0.66 mg/kg	0.0 %
n	5.0 ühikuta					
C	430.1 mg/kg	21.4 mg/kg				

**Result:** Quantity: C  
Value: 430 mg/kg  
Expanded Uncertainty:  $\pm 43$  mg/kg  
Coverage Factor: 2.00  
Coverage: manual