ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ЦИТРУСОВЫЕ

Метод определения массовой концентрации гесперидина и нарингина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности (ВНИИКОП)

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки плодов и овощей»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 582-ст

3 Стандарт гармонизирован с европейским стандартом ЕН 12148:1996 «Соки фруктовые и овощные. Определение гесперидина и нарингина в цитрусовых соках. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

© ИПК Издательство стандартов, 2000
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2008
Переиздание (по состоянию на апрель 2008 г.)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ЦИТРУСОВЫЕ

Метод определения массовой концентрации гесперидина и нарингина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Citrus juices. Method for determination of hesperidin and naringin mass concentration using high performance liquid chromatography

Дата введения 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на цитрусовые соки и устанавливает метод определения массовой концентрации гесперидина и нарингина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Диапазон определения массовой концентрации гесперидина и нарингина — от 300 до 2000 мг/дм^3.

2 Нормативные ссылки[1)]

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 61—75 Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 5712—78 Аммоний щавелевокислый 1-водный. Технические условия

ГОСТ 20289—74 Диметилформамид. Технические условия

ГОСТ 24104—88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

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

ГОСТ 26313—84 Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб

ГОСТ 26671—85 Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

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

ГОСТ Р 51431—99 Соки фруктовые и овощные. Метод определения относительной плотности

ИСО 3696—87* Вода для лабораторного анализа. Технические условия и методы испытаний

3 Сущность метода

Метод основан на экстракции гесперидина и нарингина из пробы сока раствором диметилформамида при нагревании и количественном определении их массовых концентраций в экстракте с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с применением обращенно-фазовой колонки и спектрофотометрического детектора в ультрафиолетовой области спектра.

* Действует до введения в действие ГОСТ Р, разработанного на основе стандарта ИСО.

Издание официальное

[1)] См. примечание ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 6).

4 Средства измерений, лабораторное оборудование, реактивы и материалы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 20 г, 2-го класса точности.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г, 2-го класса точности.

Жидкостный хроматограф, состоящий из:

- насоса высокого давления с верхним пределом давления не менее 25 МПа и диапазоном регулирования подачи растворителя от 0,1 до 5 $см^3$/мин;
- петлевого устройства ввода пробы (инжектора) с рабочим объемом петли 0,020 $см^3$;
- спектрофотометрического детектора с переменной длиной волны, позволяющего проводить измерение оптической плотности при длине волны 287 нм, или детектора с фиксированной длиной волны, позволяющего проводить измерения оптической плотности при длине волны 280 нм, снабженного проточной кварцевой кюветой вместимостью не более 0,01 $см^3$, с относительной погрешностью измерения оптической плотности не более 2 %;
- регистрирующего устройства (самописца или интегратора), позволяющего проводить измерения при чувствительности 0,2 мВ/см, с погрешностью записи в рабочих условиях не более 0,5 %;
- колонки длиной 250 мм, внутренним диаметром 4 или 4,6 мм, заполненной обращенно-фазовым сорбентом с привитыми октадецильными группами размером частиц 5 мкм.

Микрошприц вместимостью, обеспечивающей полное заполнение петли инжектора.

Баня водяная, пригодная для поддержания температуры (90±2) °С.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 вместимостью 50, 100 и 1000 $см^3$.

Цилиндры по ГОСТ 1770 вместимостью 250 и 1000 $см^3$.

Фильтры мембранные размером пор не более 0,5 мкм.

Пипетка по ГОСТ 29227 типа 2 исполнения 1, 1-го класса точности вместимостью 2 и 10 $см^3$.

Аммоний щавелевокислый 1-водный (оксалат аммония) по ГОСТ 5712, х.ч.

Ацетонитрил для жидкостной хроматографии [1], х.ч.

Диметилформамид по ГОСТ 20289, х.ч.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, х.ч.

Вода для лабораторного анализа по ИСО 3696 категории 1.

Нарингин (нарингенин-7-неогесперидозид).

Гесперидин (гесперидин-7-рутинозид).

Допускается использование других средств измерений, лабораторного оборудования и реактивов, по метрологическим и техническим характеристикам не уступающих перечисленным выше.

5 Отбор и подготовка проб

5.1 Отбор проб — по ГОСТ 26313.

5.2 Подготовка проб к испытаниям — по ГОСТ 26671.

Концентрированные продукты разводят водой до заданного значения относительной плотности в соответствии с нормативным или техническим документом на конкретный вид продукта. Относительную плотность разбавленной пробы определяют по ГОСТ Р 51431 и найденное значение указывают в протоколе испытаний.

6 Подготовка к проведению испытаний

Для приготовления растворов, используемых при проведении испытания, и подвижной фазы для ВЭЖХ используют только воду для лабораторного анализа категории 1 по ИСО 3696.

6.1 Приготовление стандартных растворов гесперидина и нарингина

Навески гесперидина и нарингина массой 120 мг каждая переносят в мерные колбы вместимостью 100 $см^3$. В колбы вносят по 20 $см^3$ диметилформамида. Содержимое колб перемешивают до полного растворения кристаллов гесперидина и нарингина, затем объем содержимого в колбах доводят до отметки раствором уксусной кислоты концентрации $c(CH_3COOH)$ = 0,01 моль/$дм^3$, содержимое колб тщательно перемешивают. Из полученных основных растворов гесперидина и нарингина массовой концентрации 1200 мг/$дм^3$ готовят рабочие растворы гесперидина и нарингина массовой концентрации 120, 60, 30 и 15 мг/$дм^3$ точным разведением основных растворов в соответствующее количество раз смесью раствора уксусной кислоты концентрации $c(CH_3COOH)$ = = 0,01 моль/$дм^3$ и диметилформамида (8:2 по объему). Срок годности основных и рабочих растворов гесперидина и нарингина — 30 сут при хранении при температуре около 4 °С.

6.2 Приготовление раствора оксалата аммония концентрации $c[(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O]$ = 0,025 моль/$дм^3$

Навеску оксалата аммония массой 3,55 г переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, растворяют в 100 — 200 см³ воды, объем содержимого в колбе доводят водой до отметки.

6.3 Приготовление подвижной фазы для ВЭЖХ

Подвижную фазу для ВЭЖХ готовят смешиванием 200 см³ ацетонитрила, 800 см³ воды и 0,5 см³ уксусной кислоты.

7 Проведение испытаний

7.1 Экстракция гесперидина и нарингина из пробы сока

Проводят два параллельных определения.

В мерную колбу вместимостью 50 см³ пипеткой вносят 10 см³ исследуемой пробы, 10 см³ раствора оксалата аммония концентрации 0,025 моль/дм³ и 10 см³ диметилформамида. Объем содержимого в колбе доводят водой до отметки, содержимое колбы тщательно перемешивают. После этого колбу с раствором выдерживают на водяной бане при температуре 90 °С в течение 10 мин, затем колбу с раствором охлаждают до комнатной температуры и содержимое колбы фильтруют через мембранный фильтр. Фильтрат используют для хроматографического анализа.

7.2 Хроматографический анализ

Хроматографический анализ рабочих стандартных растворов гесперидина и нарингина и экстрактов из пробы, приготовленных по 7.1, проводят при следующих условиях:

Состав подвижной фазы — по 6.4;

Скорость потока подвижной фазы — 1,0 см³/мин;

Длина волны детектора — 287 нм для детектора с переменной длиной волны;
280 нм для детектора с фиксированной длиной волны;

Чувствительность детектора — 0,05 — 0,2 единиц оптической плотности на полную шкалу;

Объем анализируемого раствора — полное заполнение петли инжектора.

Анализ рабочих стандартных растворов проводят непосредственно перед анализом каждой серии экстрактов.

Регистрируют площади пиков и время удерживания гесперидина и нарингина.

Если площадь пика анализируемого вещества в экстракте из пробы превышает площадь пика этого вещества в рабочем стандартном растворе наибольшей концентрации, экстракт из пробы разводят водой, используя пипетку и мерную колбу подходящей вместимости, и проводят его повторный хроматографический анализ.

Из-за ограниченной стабильности экстрактов продолжительность проведения испытания не должна превышать 24 ч.

8 Обработка и оформление результатов

Обработку результатов испытания проводят по методу внешнего стандарта, исходя из линейной зависимости площади пика от концентрации гесперидина и нарингина.

Массовую концентрацию гесперидина или нарингина x, мг/дм³, вычисляют по формуле

$$x = \frac{S \cdot V_1}{V_2 \cdot k}, \qquad (1)$$

где S — площадь пика гесперидина или нарингина при анализе экстракта из пробы, ед. площ.;

V_1 — объем, до которого доведена проба при приготовлении экстракта, см³;

V_2 — объем пробы, взятый для приготовления экстракта, см³;

k — градуировочный коэффициент соответственно для нарингина или гесперидина, ед. площ. × × дм³/мг, рассчитываемый по формуле

$$k = \frac{S_1}{c}, \qquad (2)$$

где S_1 — площадь пика гесперидина или нарингина при анализе рабочего стандартного раствора, ед. площ.;

c — концентрация гесперидина или нарингина в рабочем стандартном растворе, мг/дм³.

Примечание — При необходимости определения нарингина и гесперидина в навеске массовую долю этих веществ в продукте x_1, мг/кг, вычисляют по формуле

$$x_1 = \frac{S \cdot V_1}{m \cdot k}, \qquad (3)$$

где m — масса навески, г.

Вычисления проводят до первого десятичного знака.

Относительное расхождение между результатами двух определений, выполненных одним оператором при анализе одной и той же пробы, с использованием одних и тех же средств измерений и реактивов, в течение возможно минимального интервала времени, не должно превышать норматива оперативного контроля сходимости 6 % ($P = 0,95$). При соблюдении этого условия за окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, округленное до целого значения.

Относительное расхождение между результатами двух определений, выполненных в двух лабораториях при анализе одной и той же пробы, не должно превышать норматива оперативного контроля воспроизводимости, 16 % ($P = 0,95$).

Пределы относительной погрешности определения массовой концентрации гесперидина и нарингина при соблюдении условий, регламентируемых настоящим стандартом, не превышают ±11 % ($P = 0,95$).

В протоколе испытаний указывают:

- информацию, необходимую для идентификации исследуемого продукта (вид продукта, происхождение, шифр);
- ссылку на настоящий стандарт;
- дату и способ отбора проб (по возможности);
- дату получения пробы для испытаний;
- дату проведения испытаний;
- результат испытаний с указанием погрешности и единицы измерений;
- соблюдение норматива контроля сходимости результатов;
- особенности проведения испытаний (разведение концентрированной пробы, относительную плотность разведенной пробы и пр.);
- отклонения условий проведения испытаний от описанных в стандарте, которые могли повлиять на результат.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Библиография

[1] ТУ 6-09-06-1092—83 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии

УДК 664.863.001.4:006.354 ОКС 67.160.20 Н59 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: цитрусовые соки, гесперидин, нарингин, массовая концентрация, метод определения, высокоэффективная жидкостная хроматография

ПРИМЕЧАНИЕ ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

Указанный в разделе 2 «Нормативные ссылки» к ГОСТ Р 51427—99:

ГОСТ 24104—88 заменен на ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

Редактор *Р.Г. Говердовская*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *А.С. Черноусова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Подписано в печать 27.05.2008. Формат 60x84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,67. Тираж 104 экз. Зак. 616.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062, Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru