ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 51435— 99 (ИСО 8128-1—93)

СОК ЯБЛОЧНЫЙ, СОК ЯБЛОЧНЫЙ КОНЦЕНТРИРОВАННЫЙ И НАПИТКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ЯБЛОЧНЫЙ СОК

Метод определения содержания патулина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

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

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 590-ст

4 Настоящий стандарт содержит аутентичный текст международного стандарта ИСО 8128-1—93 «Сок яблочный, сок яблочный концентрированный и напитки, содержащие яблочный сок. Определение содержания патулина. Часть 1. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии», кроме приложения «Библиография»

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Август, 2018 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2018

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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОК ЯБЛОЧНЫЙ, СОК ЯБЛОЧНЫЙ КОНЦЕНТРИРОВАННЫЙ И НАПИТКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ЯБЛОЧНЫЙ СОК

Метод определения содержания патулина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Apple juice, apple juice concentrates and drinks containing apple juice.
Method for determination of patulin content using high performance liquid chromatography

Дата введения — 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания патулина в яблочном соке, концентрированных яблочных соках и напитках, содержащих яблочный сок, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Предел обнаружения патулина настоящим методом составляет 10 мкг/дм^3 при условии, что взятый для анализа объем пробы готового к употреблению сока составляет 5 см^3.

2 Сущность метода

Метод основан на экстракции патулина из исследуемой пробы этилацетатом, очистке экстракта перераспределением в водный раствор карбоната натрия и количественном и качественном анализе экстракта с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием спектрофотометрического детектора в ультрафиолетовой области.

3 Реактивы

Используют реактивы аналитической чистоты и воду квалификации «для ВЭЖХ».

3.1 Растворитель: этилацетат.

3.2 Подвижная фаза — раствор ацетонитрила в воде объемной концентрации 10 %.

3.3 Экстрагирующий раствор — водный раствор безводного карбоната натрия концентрации 14 г/дм^3.

3.4 Ацетатный буфер, pH 4.

Смешивают 16,4 см^3 уксусной кислоты [c (CH_3COOH) = 0,2 моль/дм^3] с 3,6 см^3 раствора ацетата натрия [c (CH_3COONa) = 0,2 моль/дм^3].

3.5 Уксусная кислота, ледяная.

3.6 Стандартный раствор патулина ($C_7H_6O_4$).

3.6.1 Приготовление стандартного раствора

Навеску патулина массой 10,0 мг, взятую с точностью до 0,1 мг, растворяют в мерной колбе с одной отметкой вместимостью 100 см^3 в ацетатном буфере (3.4). Объем содержимого в колбе доводят до метки ацетатным буфером.

Пипеткой переносят 10,0 см^3 приготовленного раствора в другую мерную колбу с одной отметкой вместимостью 100 см^3, объем содержимого в колбе доводят до метки ацетатным буфером. Массовая концентрация патулина в приготовленном стандартном растворе составляет около 10 мкг/см^3.

Измеряют оптическую плотность стандартного раствора при длине волны 276 мм на подходящем спектрофотометре с использованием кварцевых кювет рабочей длиной 10 мм.

Издание официальное

3.6.2 Расчет концентрации стандартного раствора патулина

Концентрацию стандартного раствора патулина (3.6.1) ρ_{ps}, мкг/см^3, вычисляют по формуле

$$\rho_{ps} = \frac{AM\,1000\,C}{A_{276}}, \qquad (1)$$

где A — оптическая плотность стандартного раствора патулина;

A_{276} — молярный показатель поглощения раствора патулина при длине волны 276 нм, дм$^3 \cdot$моль$^{-1} \cdot$см$^{-1}$ (A_{276} = 14600);

M — молярная масса патулина, г/моль;

C — постоянная прибора (обычно C = 1).

4 Приборы и лабораторное оборудование

Перед использованием лабораторное оборудование промывают раствором гипохлорита натрия концентрации 10 г/дм^3.

Обычное лабораторное оборудование, в частности следующее:

4.1 Жидкостный хроматограф, снабженный спектрофотометрическим детектором в ультрафиолетовой области (пригодным для работы при длине волны 276 нм) и самописцем или интегратором.

4.2 Обращенно-фазовая колонка ODS[1)] или другая аналогичная колонка со следующими параметрами:

- эффективность не менее 35000 теоретических тарелок на метр;
- длина 250 мм;
- внутренний диаметр 4,6 мм;
- неподвижная фаза размером частиц 5 мкм.

5 Отбор проб

Проба, поступающая в лабораторию, должна быть представительной и без следов порчи или изменения свойств продукта при транспортировании и хранении.

6 Проведение испытаний

6.1 Приготовление испытуемого раствора

При испытаниях концентрированных яблочных соков их разводят водой 1:5 по объему. Дальнейшую процедуру проводят для всех продуктов одинаково, как описано ниже.

6.1.1 Пробу объемом 5,0 см^3 экстрагируют порцией этилацетата объемом 5,0 см^3 (3.1) в течение не менее 1 мин. Экстракцию повторяют еще два раза новыми порциями этилацетата объемом по 5,0 см^3. Этилацетатные фазы объединяют и экстрагируют раствором карбоната натрия (3.3) объемом 2,0 см^3.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Экстракцию раствором карбоната натрия проводят как можно быстрее, например в течение 1—2 мин, из-за нестабильности патулина в щелочной среде.

6.1.2 Карбонатную фазу (6.1.1) экстрагируют свежей порцией этилацетата объемом 5,0 см^3, экстракт объединяют с предыдущими порциями. Карбонатную фазу отбрасывают. К экстракту добавляют 5 капель уксусной кислоты (3.5), смесь перемешивают и упаривают на ротационном испарителе до объема 1—2 см^3.

6.1.3 Полученный таким образом раствор количественно переносят во флакон вместимостью около 5 см^3 с помощью нескольких порций этилацетата объемом около 1 см^3 каждая. Раствор упаривают досуха в токе азота при температуре 40 °С. Остаток растворяют в 0,5 см^3 подвижной фазы (3.2) или ацетатного буфера (3.4).

6.2 Построение градуировочного графика

Порции стандартного раствора патулина (3.6.1) объемом 1,0; 2,0; 3,0; 5,0 и 7,5 см^3 переносят пипеткой в пять мерных колб с одной отметкой вместимостью 10 см^3, объем содержимого в колбах доводят до метки ацетатным буфером (3.4); получают градуировочные растворы.

---

1) ODS — октадецилсилан.

Устанавливают скорость потока подвижной фазы через колонку жидкостного хроматографа около 1 см^3/мин. Чувствительность детектора хроматографа устанавливают таким образом, чтобы оптической плотности 0,01 соответствовал сигнал величиной на полную шкалу регистрирующего устройства.

В хроматограф (4.1) вводят от 0,010 до 0,030 см^3 каждого градуировочного раствора.

Градуировочный график строят, откладывая по оси абсцисс концентрацию патулина в микрограммах на кубический сантиметр, по оси ординат — соответствующие величины высоты или площади пиков.

6.3 Проведение определения

В хроматограф вводят от 0,010 см^3 до 0,030 см^3 испытуемого раствора (6.1.3) при тех же условиях, что и при построении градуировочного графика.

Идентификацию пика патулина в испытуемом растворе проводят сравнением с пиками патулина в градуировочных растворах. Следует отличать пик патулина от пика оксиметилфурфурола (ОМФ).

7 Обработка результатов

Концентрацию патулина в испытуемом растворе определяют непосредственно по градуировочному графику (6.2). Содержание патулина в продукте ρ_p, мкг/дм^3, вычисляют по формуле

$$\rho_p = \frac{\rho_{pt} V_1}{V_2} \cdot 10^3, \qquad (2)$$

где ρ_{pt} — концентрация патулина в испытуемом растворе, определенная по градуировочному графику, мкг/см^3.

V_1 — объем, из которого сконцентрирован этилацетатный экстракт, см^3;

V_2 — объем пробы продукта, взятый для экстракции, см^3.

8 Точность метода

8.1 Сходимость результатов

$$r = 41{,}9 \text{ мкг/дм}^3; \quad s_r = 14{,}9 \text{ мкг/дм}^3,$$

где r — предел сходимости;

s_r — среднеквадратическое отклонение сходимости.

8.2 Воспроизводимость результатов

$$R = 47{,}5 \text{ мкг/дм}^3; \quad S_R = 22{,}6 \text{ мкг/дм}^3,$$

где R — предел воспроизводимости;

S_R — среднеквадратическое отклонение воспроизводимости.

9 Протокол испытаний

В протоколе испытаний указывают.

- метод испытаний;
- результат испытаний;
- окончательный результат с оценкой сходимости, если была проверена сходимость результатов.

Также следует отметить особенности проведения испытаний, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как несущественные, с побочными обстоятельствами, способными повлиять на результат испытаний.

Протокол испытаний должен содержать информацию, необходимую для полной идентификации образца.

УДК 664.863.001.4:006.354 ОКС 67.160.20 Н59 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: яблочный сок, концентрированный яблочный сок, напитки, содержащие яблочный сок, патулин, определение содержания, высокоэффективная жидкостная хроматография

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 15.08.2018. Подписано в печать 04.09.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,74.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru