МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОКСИМЕТИЛФУРФУРОЛА

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

УДК 664.841/851.001.4:006.354 Группа Н59

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

Методы определения оксиметилфурфурола

ГОСТ 29032—91

Fruit and vegetable products.
Methods for determination of hydroxymethylfurfural

МКС 67.080.01
ОКСТУ 9109

Дата введения 01.07.92

Настоящий стандарт распространяется на продукты переработки плодов и овощей и устанавливает методы определения оксиметилфурфурола, образующегося при тепловой обработке плодов и овощей.

Требования стандарта являются обязательными.

1. ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

1.1. Сущность метода

Метод основан на измерении интенсивности окраски производного оксиметилфурфурола с *п*-толуидином и барбитуровой кислотой в водной вытяжке из пробы продукта. Нижний предел определения оксиметилфурфурола — 2 мг/кг.

Метод не распространяется на продукты переработки цитрусовых плодов.

1.2. Отбор и подготовка проб

Отбор проб — по ГОСТ 26313, подготовка их к испытаниям — ГОСТ 26671.

1.3. Аппаратура, материалы, реактивы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104* с наибольшим пределом взвешивания до 20 г не ниже 3-го класса точности.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104* с наибольшим пределом взвешивания до 500 г 4-го класса точности.

Колориметр фотоэлектрический лабораторный по НТД с пределами измерений оптической плотности от 0 до 2 и пределом допускаемой основной абсолютной погрешности при измерении коэффициента пропускания не более ±1 %, со светофильтром с длиной волны, (540±10) нм и кюветами рабочей длины 30 мм.

Стаканы по ГОСТ 25336 исполнения 1 типа В вместимостью 50 и 150 см^3.

Колба плоскодонная по ГОСТ 25336 исполнения 2 вместимостью 250 см^3.

Воронка лабораторная по ГОСТ 25336 типа В диаметром 56 мм и высотой 80 мм.

Пипетка по НТД исполнения 6 или 7 вместимостью 10 см^3.

Пипетка по НТД исполнения 4 или 5 вместимостью 2 см^3.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 исполнения 2 вместимостью 50, 100 или 250 см^3.

Цилиндр мерный по ГОСТ 1770 вместимостью 25 или 50 см^3.

Баня водяная.

Электроплитка по ГОСТ 14919.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с пределом допускаемой погрешности ±1 °С в диапазоне измерений 0—100 °С.

Фильтры бумажные обеззоленные марки ФОМ по ГОСТ 12026.

Оксиметилфурфурол кристаллический, перекристаллизованный при температуре (115±3) °С и давлении 1,3 Па.

* С 1 июля 2002 г. действует ГОСТ 24104—2001. С 1 января 2010 г. на территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

Издание официальное ★ Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1991
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

Калий железистосинеродистый 3-водный по ГОСТ 4207, х. ч., раствор концентрацией 150 г/дм^3 (раствор Карреза I).

Цинк уксуснокислый 2-водный по ГОСТ 5823, ч. д. а., раствор концентрацией 300 г/дм^3 (раствор Карреза II).

п-Толуидин, ч.

Кислота барбитуровая, ч.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, х. ч.

Спирт изопропиловый (2-пропанол) по ГОСТ 9805, ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

1.4. Подготовка к испытанию

1.4.1. *Приготовление основного раствора оксиметилфурфурола*

0,1000 г кристаллического оксиметилфурфурола количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. 1 см^3 полученного раствора переносят пипеткой в другую колбу вместимостью 100 см^3, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Получают раствор оксиметилфурфурола концентрацией 10 мкг/см^3. Раствор хранят в холодильнике при температуре не выше 5 °С в сосуде с притертой пробкой, завернутой в алюминиевую фольгу, не более 2 мес.

1.4.2. *Приготовление реактивов для проведения цветной реакции*

Реактив 1. 10,00 г *п*-толуидина растворяют в 60—70 см^3 изопропилового спирта при нагревании на водяной бане при температуре 45—50 °С, добавляют 10 см^3 уксусной кислоты, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, охлаждают до 20 °С и доводят до метки изопропиловым спиртом.

Реактив 2. 0,50 г барбитуровой кислоты растворяют в 60—70 см^3 дистиллированной воды при нагревании на водяной бане при температуре 45—50 °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, охлаждают до 20 °С и доводят до метки дистиллированной водой.

Реактивы 1 и 2 хранят в холодильнике при температуре не выше 5 °С в плотно закрытых сосудах, завернутых в алюминиевую фольгу. Срок годности реактивов 1 и 2 при этих условиях — 1 мес.

1.4.3. *Построение градуировочного графика*

1.4.3.1. *Приготовление контрольного раствора*

В стакан вместимостью 50 см^3 вносят пипеткой 4,5 см^3 дистиллированной воды и 7,5 см^3 реактива 1, перемешивают.

1.4.3.2. *Приготовление рабочих растворов*

В 6 стаканов вместимостью 50 см^3 вносят пипеткой 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 3,0 см^3 основного раствора оксиметилфурфурола. Дистиллированной водой с помощью пипетки доводят объем содержимого до 3,0 см^3. Масса оксиметилфурфурола в каждом растворе равна соответственно 5, 10, 15, 20, 25 и 30 мкг.

1.4.3.3. *Проведение цветной реакции и фотометрирование*

В стаканы с рабочими растворами добавляют по 7,5 см^3 реактива 1, перемешивают. С содержимым каждого стакана поочередно проводят следующие операции. В стакан пипеткой вносят 1,5 см^3 реактива 2, перемешивают, переносят в кювету фотоэлектроколориметра и наблюдают изменение оптической плотности в течение 3—4 мин от момента внесения реактива 2 при светофильтре с длиной волны, соответствующей максимуму пропускания, (540±10) нм против контрольного раствора. Отмечают максимальное значение оптической плотности.

1.4.3.4. По полученным данным строят график зависимости оптической плотности от количества оксиметилфурфурола в микрограммах.

1.5. Проведение испытания

1.5.1. *Приготовление водной вытяжки из образца*

Навеску продукта массой 40,0—60,0 г (в зависимости от предполагаемого содержания оксиметилфурфурола) помещают в стакан вместимостью 150 см^3, смешивают с небольшим количеством дистиллированной воды и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3. Цилиндром добавляют 15 см^3 раствора Карреза I и 15 см^3 раствора Карреза II. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают и фильтруют в плоскодонную колбу через бумажный складчатый фильтр.

1.5.2. *Проведение цветной реакции и фотометрирование*

В два стакана вместимостью 50 см^3 вносят пипеткой 3 см^3 водной вытяжки из образца и 7,5 см^3 реактива 1, перемешивают. В один из стаканов добавляют 1,5 см^3 дистиллированной воды, перемешивают, переносят в кювету фотоэлектроколориметра (контрольный раствор). В другой стакан

добавляют 1,5 $см^3$ реактива 2, перемешивают, переносят в кювету фотоэлектроколориметра и наблюдают изменение оптической плотности в течение 3—4 мин от момента внесения реактива 2 при светофильтре с длиной волны, соответствующей максимуму пропускания, (540±10) нм против контрольного раствора. Отмечают максимальное значение оптической плотности.

1.6. Обработка результатов

Массовую долю оксиметилфурфурола (X), $млн^{-1}$ (мг/кг), вычисляют по формуле

$$X = \frac{m_1 \cdot V_0}{V_1 \cdot m_0},$$

где m_1 — масса оксиметилфурфурола в испытуемом растворе, найденная по градуировочному графику, мкг;

V_0 — объем водной вытяжки из пробы продукта, $см^3$;

V_1 — объем вытяжки, используемой для проведения цветной реакции, $см^3$;

m_0 — масса навески продукта, г.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемое относительное расхождение между которыми не должно превышать 5 % ($P = 0{,}95$).

2. МЕТОД ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

2.1. Сущность метода

Метод основан на экстракции оксиметилфурфурола из продукта органическим растворителем и определении оксиметилфурфурола с помощью метода тонкослойной хроматографии. Нижний предел определения оксиметилфурфурола — 8 мг/кг.

Метод распространяется на продукты переработки цитрусовых плодов.

2.2. Отбор и подготовка проб

Отбор проб и подготовка их к испытаниям — по п. 1.2.

2.3. Аппаратура, материалы, реактивы

При проведении испытания используют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 1.3, за исключением фотоэлектроколориметра, *п*-толуидина, барбитуровой и уксусной кислот со следующими дополнениями:

- микрошприц МШ-10 вместимостью 0,01 $см^3$;
- камеру для тонкослойной хроматографии с притертой крышкой;
- колбу круглодонную по ГОСТ 25336 исполнения 2 с взаимозаменяемым конусом 14/23 вместимостью 50 $см^3$;
- распылитель стеклянный с грушей;
- вату медицинскую гигроскопическую по ГОСТ 5556;
- пластинки для тонкослойной хроматографии «Силуфол» 15 × 15 см фирмы Кавалиер, ЧССР;
- эфир этиловый технический по НТД, не содержащий перекисей;
- эфир этиловый уксусной кислоты по ГОСТ 22300, ч. д. а. (этилацетат);
- кислоту муравьиную по ГОСТ 5848;
- бензидин, раствор в муравьиной кислоте концентрацией 5 $г/дм^3$;
- натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, х. ч., прокаленный.

2.4. Подготовка к испытанию

2.4.1. *Приготовление основного раствора оксиметилфурфурола*

0,1000 г кристаллического оксиметилфурфурола количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки этилацетатом и тщательно перемешивают. 1 $см^3$ полученного раствора переносят пипеткой в другую мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки этилацетатом и тщательно перемешивают. Получают раствор оксиметилфурфурола концентрацией 10 $мкг/см^3$. Раствор хранят в холодильнике при температуре не выше 5 °С в сосуде с притертой пробкой, плотно завернутой в алюминиевую фольгу, не более 6 мес.

2.5. Проведение испытания

2.5.1. *Приготовление водной вытяжки из образца*

Водную вытяжку из образца готовят по п. 1.5.1.

2.5.2. *Экстрагирование оксиметилфурфурола из водной вытяжки*

В стакан вместимостью 50 $см^3$ пипетками вносят 1,0 $см^3$ водной вытяжки из образца и 10,0 $см^3$ этилового эфира. Содержимое перемешивают в течение 1 мин, затем в стакан добавляют около 5 г

сернокислого натрия. Содержимое стакана перемешивают стеклянной палочкой, разрушая крупные комки соли. Смеси дают отстояться, после чего эфир декантируют через ватный тампон в круглодонную колбу. Остаток в стакане промывают еще два раза свежими порциями эфира, каждый раз тщательно перемешивая содержимое стакана. Эфирный экстракт упаривают досуха на водяной бане при температуре 35—40 °С. Остаток в круглодонной колбе перерастворяют в 0,5 см^3 этилацетата.

2.5.3. *Хроматографическое разделение*

На пластинку «Силуфол» снизу и сверху наносят две тонкие карандашные линии на расстоянии 2 см от краев. На нижней линии отмечают 12 точек на расстоянии 8—10 мм друг от друга, при этом расстояние от крайних точек до краев пластины должно быть не менее 1 см. В шесть точек микрошприцем наносят различные объемы основного раствора оксиметилфурфурола, чередуя пятна со свободными точками. Количество оксиметилфурфурола в пятнах должно быть от 0,025 до 0,150 мкг. В оставшиеся точки микрошприцем наносят этилацетатные экстракты из исследуемых образцов (от одного до шести), объемом 0,001—0,020 см^3 в зависимости от ожидаемого содержания оксиметилфурфурола. Пластинку стартовой линией вниз помещают в камеру для тонкослойной хроматографии, предварительно заполненную этилацетатом на высоту около 1 см. Развитие хроматограммы проводят до достижения фронтом растворителя верхней карандашной линии. Пластинку извлекают из камеры и сушат в вытяжном шкафу до исчезновения запаха растворителя.

2.5.4. *Обнаружение оксиметилфурфурола*

Пластинку опрыскивают из распылителя раствором бензидина, затем сушат в вытяжном шкафу в течение 5—10 мин. Оксиметилфурфурол обнаруживают в виде желтых пятен. Обнаружение на пластинке пятна, соответствующего по цвету и хроматографической подвижности пятнам основного раствора оксиметилфурфурола, свидетельствует о наличии оксиметилфурфурола в продукте. Количество оксиметилфурфурола определяют, сравнивая размер и интенсивность окраски пятен основного раствора оксиметилфурфурола и пятна оксиметилфурфурола в анализируемой пробе.

2.6. Обработка результатов

Массовую долю оксиметилфурфурола (X), млн$^{-1}$ (мг/кг), вычисляют по формуле

$$X = \frac{m_1 \cdot V_1 \cdot V_3}{m \cdot V_2 \cdot V_4},$$

где m_1 — количество оксиметилфурфурола, обнаруженное в пятне, мкг;

V_1 — объем водной вытяжки из пробы продукта, см^3;

V_3 — общий объем этилацетатного экстракта, см^3;

m — масса навески продукта, г;

V_2 — объем водной вытяжки, используемый для экстрагирования оксиметилфурфурола, см^3;

V_4 — объем этилацетатного экстракта, наносимого на пластинку, см^3.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемое относительное расхождение между которыми не должно превышать 20 % ($P = 0{,}95$).

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Всесоюзным научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности, Всесоюзным научно-исследовательским и конструкторско-технологическим институтом по переработке фруктов и винограда и ТК 93 «Продукты переработки плодов и овощей»**

РАЗРАБОТЧИКИ

В.И. Рогачев, д-р техн. наук; **С.Ю. Гельфанд,** канд. техн. наук; **Т.Н. Медведева,** канд. техн. наук; **А.И. Погосян,** канд. техн. наук; **Э.В. Дьяконова,** канд. техн. наук; **А.Э. Мельник; С.Р. Цимбалаев; Е.В. Йорга;** канд. техн. наук; **И.М. Соболева**

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 17.06.91 № 882**

3. **Раздел I настоящего стандарта «Фотометрический метод» подготовлен с учетом требований международного стандарта ИСО 7466—86 «Продукты переработки плодов и овощей. Определение содержания 5—оксиметилфурфурола» с изменениями, отражающими потребности народного хозяйства**

4. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

5. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 61—75	1.3	ГОСТ 12026—76	1.3
ГОСТ 1770—74	1.3	ГОСТ 14919—83	1.3
ГОСТ 4166—76	2.3	ГОСТ 22300—76	2.3
ГОСТ 4207—75	1.3	ГОСТ 24104—88	1.3
ГОСТ 5556—81	2.3	ГОСТ 25336—82	1.3, 2.3
ГОСТ 5823—78	1.3	ГОСТ 26313—84	1.2
ГОСТ 5848—73	2.3	ГОСТ 26671—85	1.2
ГОСТ 6709—72	1.3	ГОСТ 28498—90	1.3
ГОСТ 9805—84	1.3		

6. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2010 г.**