ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 52841— 2007

ПРОДУКЦИЯ ВИНОДЕЛЬЧЕСКАЯ

Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза

Издание официальное

БЗ 12—2007/468

Москва
Стандартинформ
2008

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства» Россельхозакадемии (ГНУ «СКЗНИИСиВ» Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 декабря 2007 г. № 470-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «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

© Стандартинформ, 2008

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Требования безопасности . . . 2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы . . . 2
5 Отбор проб . . . 2
6 Сущность метода . . . 3
7 Метрологические характеристики . . . 3
7.1 Диапазон измерения . . . 3
7.2 Прецизионность метода . . . 3
8 Требования к условиям выполнения измерений . . . 3
9 Подготовка к выполнению измерений . . . 3
9.1 Приготовление буферных и вспомогательных растворов . . . 3
9.2 Подготовка прибора и порядок проведения анализа . . . 4
9.3 Приготовление градуировочных растворов . . . 4
10 Проведение измерений . . . 5
11 Обработка и оформление результатов измерений . . . 5
Приложение А (справочное) Электрофореграммы стандартного раствора органических кислот и образца винопродукции . . . 6

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКЦИЯ ВИНОДЕЛЬЧЕСКАЯ

Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза

Wine production.
Determination of organic acids by capillary electrophoresis method

Дата введения — 2009—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на винодельческую продукцию и устанавливает метод определения содержания органических кислот — винной, яблочной, янтарной, лимонной и молочной в диапазоне измерений с учетом разбавления от 0,001 до 0,050 г/дм^3 на основе измерения их массовых концентраций посредством капиллярного электрофореза.

Требования к контролируемым показателям по массовой концентрации лимонной кислоты установлены в ГОСТ Р 52404, ГОСТ Р 52523 и ГОСТ Р 52558.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ Р ИСО 5725-3—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 3. Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений

ГОСТ Р 51144—98 Продукты винодельческой промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 52404—2005 Вина специальные и виноматериалы специальные

ГОСТ Р 52523—2006 Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия

ГОСТ Р 52558—2006 Вина газированные и вина газированные жемчужные. Общие технические условия

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

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

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет, который опубликован по

Издание официальное

состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Требования безопасности

3.1 Требования электробезопасности при работе с приборами — по ГОСТ 12.1.019.

3.2 При выполнении анализов необходимо выполнять требования безопасности при работе с химическими реактивами согласно ГОСТ 12.1.007.

3.3 К выполнению измерений методом капиллярного электрофореза допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера, прошедшие соответствующий курс обучения, или лица, имеющие удостоверения на право работы методом газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы

Прибор (система) капиллярного электрофореза, оснащенный кварцевым капилляром длиной не менее 50 см до детектора, внутренним диаметром 75 мкм, фотометрическим детектором, работающим на длине волны 254 нм, или спектрофотометрическим детектором в интервале длин волн от 200 до 300 нм и электронно-вычислительной машиной (компьютером) с программным обеспечением для обработки электрофореграмм, например система капиллярного электрофореза «Капель» (НПФ Люмэкс).

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,0002 г.

Пипетки мерные 2-го класса точности по ГОСТ 29227.

Колбы мерные 2-го класса точности по ГОСТ 1770.

Пробирки одноразовые (типа Эппендорфа) вместимостью 1,5 $см^3$.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота соляная по ГОСТ 3118.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Кислота винная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %[1)].

Кислота яблочная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %[2)].

Кислота янтарная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %[3)].

Кислота лимонная с содержанием основного вещества не менее 99,0 %[4)].

Лактат лития с содержанием основного вещества не менее 95,0 %[5)].

Кислота дипиколиновая с содержанием основного вещества не менее 99,0 %[6)].

Тетраметилэтилендиамин с содержанием основного вещества не менее 99,5 %[7)].

Этилендиаминдиуксусная кислота с содержанием основного вещества не менее 99,0 %[8)].

Примечание — Средства измерений должны быть поверены в установленные сроки. Допускается использовать средства измерений, вспомогательное оборудование и реактивы с аналогичными или лучшими метрологическими характеристиками.

5 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ Р 51144.

---

1) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу T206-25G, D-tartaric acid, 99 %).

2) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 112577-25G, L-malic acid, 99 %).

3) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 27616-250G , Succinic acid, 99 %).

4) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу C1857-100G , Citric acid anhydrous, 99 %).

5) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 440469-50G, Lithium lactate, 95 %).

6) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу D0759-25G, Dipicolinic acid, 99 %).

7) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 411019-100ML, N,N,N`,N`-tetramethylethylenediamine, 99,5 %).

8) Например, производства фирмы Sigma (наименование по каталогу 03575-5G, Ethylenediamine-N,N`-diacetic acid, 99 %).

6 Сущность метода

Метод капиллярного электрофореза определения массовой концентрации органических кислот основан на миграции и разделении анионных форм анализируемых компонентов под действием электрического поля вследствие их различной электрофоретической подвижности. Для детектирования кислот используют косвенный метод, регистрируя поглощение в ультрафиолетовой области спектра при 254 или 270 нм.

7 Метрологические характеристики

7.1 Диапазон измерения

Диапазон измеряемых концентраций с учетом разбавления — от 0,001 до 0,050 г/дм^3.

7.2 Прецизионность метода

Показатели прецизионности метода определены в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-2, ГОСТ Р ИСО 5725-3 и представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Показатели прецизионности метода определения массовых концентраций органических кислот

Наименование показателя	Значение показателя
Диапазон измерений, г/дм^3	0,001—0,05
Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, %	4
Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, %	10
Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений) r, %, P = 0,95, n = 2	12
Предел воспроизводимости R, %, P = 0,95, n = 2	28
Границы относительной погрешности при вероятности $\pm \delta$, %, P = 0,95, n = 2	20

8 Требования к условиям выполнения измерений

Подготовку проб и измерения проводят в лабораторных условиях при температуре окружающего воздуха (23 ± 5) °С, атмосферном давлении от 87 до 107 кПа, относительной влажности воздуха не более 80 % при температуре 25 °С, частоте переменного тока (50,0 ± 0,4) Гц, напряжении в сети 220 В.

9 Подготовка к выполнению измерений

9.1 Приготовление буферных и вспомогательных растворов

9.1.1 Раствор гидроксида натрия массовой долей 4 %

В 50 — 60 см^3 дистиллированной воды растворяют 4 г гидроксида натрия. По окончании растворения разбавляют дистиллированной водой до объема 100 см^3 . Срок хранения в сосуде из полиэтилена с плотно завинчивающейся крышкой — 2 мес.

9.1.2 Раствор соляной кислоты массовой долей 3,5 %

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 8,3 см^3 соляной кислоты плотностью 1,18 г/см^3, затем добавляют дистиллированную воду до метки и перемешивают. Срок хранения не ограничен.

9.1.3 Раствор дипиколиновой кислоты массовой долей 0,21 %

В стакан вместимостью 50 см^3 отбирают навеску 0,105 г дипиколиновой кислоты с точностью 0,001 г. В стакан добавляют 40 см^3 горячей (температурой не более 90 °С) дистиллированной воды (хранившейся с момента приготовления не более 4 сут) и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Для интенсификации растворения допускается выдерживание раствора в стакане на водяной бане при температуре не более 90 °С. Затем раствор охлаждают до 20 °С, количественно переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см^3, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

9.1.4 Раствор тетраметилэтилендиамина массовой долей 2,32 %

В стакан вместимостью 25 см³ отбирают навеску 0,580 г тетраметилэтилендиамина с точностью 0,001 г. В стакан добавляют 10 см³ дистиллированной воды (хранившейся с момента приготовления не более 4 сут) и перемешивают стеклянной палочкой. Затем раствор переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 25 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

9.1.5 Раствор этилендиаминдиуксусной кислоты массовой долей 0,176 %

В стакан вместимостью 25 см³ отбирают навеску 0,044 г этилендиаминдиуксусной кислоты с точностью 0,001 г. В стакан добавляют 10 см³ горячей (температурой не более 90 °С) дистиллированной воды (хранившейся с момента приготовления не более 4 сут) и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Для интенсификации растворения допускается выдерживание раствора в стакане на водяной бане при температуре не более 90 °С. Затем раствор охлаждают до 20 °С, переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 25 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

9.1.6 Рабочий буферный раствор

Раствор дипиколиновой кислоты по 9.1.3, раствор тетраметилэтилендиамина по 9.1.4, раствор этилендиаминдиуксусной кислоты по 9.1.5 смешивают в объемном соотношении 8:1:1. Полученный рабочий буферный раствор помещают в пробирки Эппендорфа в количестве 0,8 см³ и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин; не допускают хранение рабочего буферного раствора более 2 сут с момента приготовления при нормальных условиях. Исходные растворы (по 9.1.3, 9.1.4, 9.1.5) хранят при комнатной температуре в плотно закрытых стеклянных емкостях не более 10 сут с момента приготовления.

9.2 Подготовка прибора и порядок проведения анализа

Прибор подготавливают к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации и устанавливают следующие рабочие параметры:

- длина волны спектрофотометрического детектора — 270 нм, фотометрического — 254 нм;
- напряжение «минус 25 кВ»;
- дозирование пробы — пневматическое при 30 мБар в течение 5 с при напряжении 0 кВ;
- время анализа — 15 мин;
- рекомендуется термостатирование капилляра при температуре 20 °С.

Перед измерением подготавливают капилляр к работе, промывая его 3,5 %-ным раствором соляной кислоты (см. 9.1.2) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой — 3 мин, затем 4 %-ным раствором гидроокиси натрия (см. 9.1.1) в течение 3 мин, затем дистиллированной водой в течение 3 мин и далее рабочим буферным раствором (см. 9.1.6) в течение 3 мин.

Капилляр промывают каждый раз при включении прибора. Результаты первого измерения отбрасывают. Содержимое одной пробирки с рабочим буферным раствором можно использовать для выполнения не более пяти измерений.

9.3 Приготовление градуировочных растворов

9.3.1 Основной градуировочный раствор смеси кислот концентрацией 1 г/дм³

Отбирают навески винной, яблочной, янтарной, лимонной кислот массой 0,100 г каждую (для моногидрата лимонной кислоты навеска составляет 0,109 г), лактата лития массой 0,117 г с точностью 0,001 г и вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, добавляют 50—70 см³ дистиллированной воды, растворяют содержимое и затем доводят до метки. Срок хранения основного градуировочного раствора — не более 1 мес в стеклянной таре с пришлифованной пробкой при температуре 2 °С—8 °С.

9.3.2 Рабочие градуировочные растворы (массовой концентрацией 0,001, 0,005, 0,010, 0,025 и 0,050 г/дм³) готовят из основного градуировочного раствора по 9.3.1. Для этого вносят в пять мерных колб (с пришлифованными пробками) вместимостью 1000 см³ пипетками 1, 5, 10, 25 и 50 см³ основного градуировочного раствора, соответственно, затем доводят объемы растворов в колбах до метки дистиллированной водой, закрывают колбы пробками и тщательно перемешивают. Срок хранения растворов не более двух суток в стеклянной таре с пришлифованной пробкой при температуре 2 °С—8 °С.

9.3.3 Градуировочные растворы концентрацией 0,001, 0,005, 0,010, 0,025, 0,050 г/дм³ отбирают мерной пипеткой в объеме 0,8 см³ в пробирку Эппендорфа и центрифугируют 4 мин при 6000 об/мин для удаления растворенного воздуха. Проводят измерение по 9.2. На основе полученных данных строят градуировочные зависимости. Градуировка признается удовлетворительной, если коэффициент корреляции, рассчитанный программой, будет не менее 0,99. Градуировка системы обязательно проводится заново в следующих случаях:

при замене капилляра;

при замене хотя бы одного из компонентов буферного раствора;

при изменении рабочего напряжения;

при изменении времени ввода пробы и давления ввода;

при отрицательных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.

Примеры электрофореграмм приведены в приложении А.

9.3.4 Приготовление раствора для контроля стабильности градуировочной характеристики

В мерную колбу вместимостью 1000 см³ вносят навески винной и лимонной кислот по 0,05 г каждой, разбавляют до метки дистиллированной водой и перемешивают. Массовая концентрация винной и лимонной кислот — 0,05 г/дм³. Срок хранения раствора — 1 мес при температуре 2 °С—8 °С. Контрольный раствор используют для проверки работоспособности прибора и контроля стабильности градуировочной характеристики.

10 Проведение измерений

Перед проведением измерений по 9.2 исследуемые пробы разбавляют в 50—100 раз дистиллированной водой до концентрации анализируемых кислот не более 0,050 г/дм³ и центрифугируют. В случае необходимости идентификации какой-либо из кислот следует добавить эту кислоту в анализируемый образец и выполнить измерение повторно.

11 Обработка и оформление результатов измерений

11.1 Используя электрофореграмму, зарегистрированную при помощи программного обеспечения к прибору, рассчитывают массовую концентрацию соответствующих кислот по установленным градуировочным характеристикам (см. 9.3.3).

Массовую концентрацию органических кислот в исследуемой пробе X, г/дм³, вычисляют по формуле

$$X = k \cdot C, \tag{1}$$

где k — коэффициент разбавления пробы (см. раздел 9);

C — концентрация кислоты, найденная по градуировочному графику, г/дм³.

11.2 За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение $X_{ср}$, г/дм³, двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{X_1 - X_2}{X_{ср}} 100 \le r, \tag{2}$$

где X_1, X_2 — результаты двух параллельных измерений массовой концентрации кислоты в пробе, г/дм³;

$X_{ср}$ — среднее значение двух параллельных измерений массовой концентрации кислоты в пробе, г/дм³;

r — значение предела повторяемости (см. таблицу 1), %.

11.3 Результат анализа представляют в виде: $X_{ср} \pm \Delta$ г/дм³,

где $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение двух определений массовой концентрации кислоты в пробе, признанных приемлемыми, г/дм³;

Δ — граница абсолютной погрешности определения, г/дм³, при доверительной вероятности $P = 0,95$.

11.4 Границу абсолютной погрешности Δ вычисляют по формуле

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X}{100}, \tag{3}$$

где δ — граница относительной погрешности измерения (см. таблицу 1), %.

Числовое значение результата определения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границы абсолютной погрешности.

Приложение А
(справочное)

Электрофореграммы стандартного раствора органических кислот и образца винопродукции

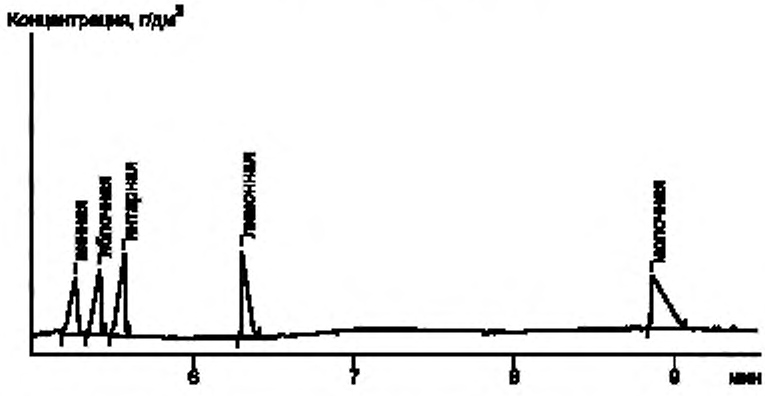

Рисунок А.1 — Электрофореграмма стандартного раствора кислот, с концентрацией 0,05 г/дм^3

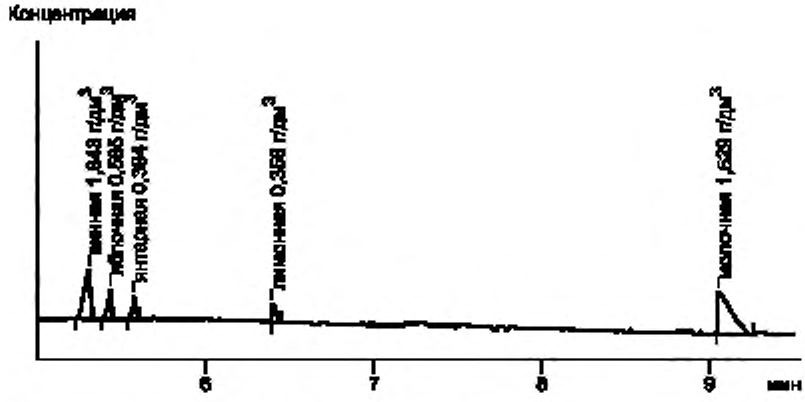

Рисунок А.2 — Электрофореграмма образца винопродукции

Примечание — На электрофореграммах возможно появление пиков неидентифицированных кислот, не мешающих проведению количественного анализа.

УДК 663.2.001.4:006.354 ОКС 67.160.10 Н79

Ключевые слова: продукция винодельческая, органические кислоты, буферный раствор, капиллярный электрофорез, электрофореграмма

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 03.03.2008. Подписано в печать 19.03.2008. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усп. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,95. Тираж 283 экз. Зак. 271.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru