ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53693— 2009

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное

БЗ 12—2009/985

Москва
Стандартинформ
2010

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 Некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (НО «РСПС») при участии НИИ питания Российской Академии медицинских наук (НИИ питания РАМН), Закрытого акционерного общества «Мултон» и ВНИИ консервной и овощесушильной промышленности (ГНУ «ВНИИКОП»)

2 ВНЕСЕН Подкомитетом «Соки фруктовые и овощные, нектары, сокосодержащие напитки и морсы» Технического комитета по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки фруктов, овощей и грибов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 декабря 2009 г. № 1093-ст

4 В настоящем стандарте учтены основные положения международного стандарта CODEX-STAN 247—2005 «Общий стандарт на фруктовые соки и нектары» (CODEX-STAN 247—2005 «Codex general standard for fruit juices and nectars») в части методов анализа и отбора проб соковой продукции:

основные нормативные положения документа IFU «Метод 17a (Rev. 2005) "Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии"» (Международная федерация производителей фруктовых соков) [IFU Analyses No. 17a (Rev. 2005) «Determination of ascorbic acid by HPLC» (International Federation of Fruit Juice Produces)]

5 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, 2010

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

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Juice products. Determination of ascorbic acid by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method

Дата введения — 2011 —01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, нектары, морсы и сокосодержащие напитки, фруктовые и овощные концентрированные соки, пюре и концентрированные пюре, морсы и концентрированные морсы, соковую продукцию из фруктов и овощей обогащенную и для детского питания (далее — соковая продукция) и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты.

Диапазон измерения массовой концентрации (массовой доли) аскорбиновой кислоты от 5 до 1000 мг/дм^3 (млн$^{-1}$) включительно.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

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 52501—2005 (ИСО 3696:1987) Вода для лабораторного анализа. Технические условия

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

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

ГОСТ 245—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 6552—80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 22967—90 (СТ СЭВ 2486—80, СТ СЭВ 3399—82) Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытания

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

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

Примечание — При использовании настоящего стандарта целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по 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 Сущность метода определения

Метод основан на применении обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Массовую концентрацию или массовую долю аскорбиновой кислоты в соковой продукции определяют спектрофотометрическим детектором в ультрафиолетовой области спектра при длине волны 243 нм.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы, материалы

4.1 Хроматограф жидкостный высокоэффективный со спектрофотометрическим детектором (рабочий диапазон длин волн поглощения от 200 до 600 нм) и программно-аппаратным комплексом сбора и обработки результатов типа «Millenium 2000».

4.2 Спектрофотометр со значениями характеристик не ниже следующих:

спектральный рабочий диапазон — 200 — 800 нм;

пределы допускаемой абсолютной погрешности измерений по шкале длин волн ± 0,2 нм;

пределы допускаемой воспроизводимости измерений по шкале длин волн ± 0,08 нм (λ = 656 нм);

пределы допускаемой абсолютной погрешности измерений по фотометрической шкале ± 0,002 е.о.п.[1)] при оптической плотности 0,3 е.о.п. и ± 0,003 е.о.п. при оптической плотности 1 е.о.п.;

пределы допускаемой воспроизводимости измерений по фотометрической шкале ± 0,0008 е.о.п. при оптической плотности 1 е.о.п.,

предел допускаемого СКО[2)] случайной составляющей погрешности измерений по фотометрической шкале ± 0,0001 е.о.п. при оптической плотности 0 е.о.п., λ = 500 нм и ± 0,0006 е.о.п. при оптической плотности 1 е.о.п., λ = 500 нм;

уровень мешающего излучения 1,0 % (λ = 200 нм) и 0,05 % (λ = 220 и 340 нм).

4.3 Колонка аналитическая длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная октадецилсиликагелем, размер частиц 5 мкм (RP 18).

4.4 Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,1 мг.

4.5 Пипетки градуированные 1-2-1, 1-2-2, 1-2-5, 1-2-1 и 1-2-25 2-го класса точности по ГОСТ 29227.

4.6 Микрошприцы для ВЭЖХ, вместимостью 25, 100 и 250 мкл.

4.7 Посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности по ГОСТ 1770:

цилиндры вместимостью 50 и 1000 см^3,

колбы мерные с притертой пробкой вместимостью 25, 50, 100, 500 и 1000 см^3,

пробирки стеклянные вместимостью 10 и 20 см^3.

[1)] е.о.п. — единица оптической плотности.

[2)] СКО — среднеквадратическое отклонение.

4.8 Емкости для жидких проб (виалы) вместимостью 2 — 6 см³.

4.9 Установка для дегазации элюента.

4.10 Фильтры мембранные с диаметром пор 0,20 или 0,45 мкм для фильтрования подвижной фазы и проб.

4.11 Фильтры обеззоленные по [1].

4.12 Шприц медицинский вместимостью 5 см³ по ГОСТ 22967.

4.13 Центрифуга лабораторная с величиной фактора разделения (g-фактор) 800 —1000.

4.14 Мини-насос лабораторный (к установке для дегазации элюента).

4.15 Иономер (pH-метр) с погрешностью измерения ± 0,01 ед. pH.

4.16 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

4.17 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

4.18 Вода для лабораторного анализа первой степени чистоты по ГОСТ Р 52501.

4.19 Кислота аскорбиновая с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.

4.20 Натрий фосфорнокислый однозамещенный (дигидрофосфат) двуводный по ГОСТ 245, ч.д.а.

4.21 Кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552.

4.22 Посуда лабораторная стеклянная по ГОСТ 25336:

воронки лабораторные,

стаканы вместимостью 50, 100 и 1000 см³.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

5 Отбор и подготовка проб

Отбор проб — по ГОСТ 26313, подготовка проб — по ГОСТ 26671.

6 Подготовка к проведению определения

6.1 Приготовление подвижной фазы для жидкостной хроматографии

В стакане по ГОСТ 25336 вместимостью 100 см³ взвешивают 15,6 г дигидрофосфата натрия по ГОСТ 245 с записью результата до третьего знака после запятой, растворяют приблизительно в 80 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709, количественно переносят в мерную колбу по ГОСТ 1770 вместимостью 1000 см³, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Полученный раствор переносят в стакан вместимостью 1000 см³, доводят pH концентрированной ортофосфорной кислотой по ГОСТ 6552 до 2,5, регистрируя показания иономера по 4.15. Затем раствор дегазируют на установке для дегазации элюента по 4.9 в течение 15 мин, с одновременной фильтрацией через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — 3 сут.

6.2 Подготовка проб для измерений

6.2.1 Определение массовой концентрации аскорбиновой кислоты в осветленных соках и сокосодержащих напитках, не содержащих нерастворимые в воде вещества, проводят без разбавления пробы дистиллированной водой.

Определение массовой концентрации аскорбиновой кислоты в осветленных соках и сокосодержащих напитках, содержащих нерастворимые в дистиллированной воде вещества, проводят после фильтрования пробы через обеззоленный фильтр «белая лента» [1] или ее центрифугирования по 4.13 с фактором разделения не менее 990 g в течение 15 мин.

Затем 1 — 2 см³ пробы отбирают в медицинский шприц по 4.12 через иглу, после этого заменяют иглу на фильтр с диаметром пор 0,45 или 0,20 мкм и отфильтровывают в виалу по 4.8.

6.2.2 Определение массовой концентрации аскорбиновой кислоты в соках и сокосодержащих напитках с объемной долей мякоти до 10,0 % включительно (соки и нектары из цитрусовых, ананаса, персика, абрикоса и др.) или содержащих нерастворимые в воде вещества проводят после тщательного перемешивания пробы стеклянной палочкой, а затем ее центрифугирования по 4.13 с фактором разделения не менее 990 g в течение 15 мин.

Соки и сокосодержащие напитки с объемной долей мякоти свыше 10,0 % и более (из манго, томата, банана и др.) предварительно разбавляют дистиллированной водой в соотношении 1:5 для осветления раствора. Для этого в мерную колбу по ГОСТ 1770 вместимостью 50 см³ мерным цилиндром по

ГОСТ 1770 отбирают 10 см³ пробы и доводят дистиллированной водой до метки. После этого пробу гомогенизируют, тщательно перемешивая содержимое стеклянной палочкой, и центрифугируют с фактором разделения не менее 990 g в течение 15 мин. В случае неполного осаждения нерастворимых в дистиллированной воде частиц пробу вновь фильтруют через обеззоленный фильтр «белая лента» или центрифугируют с фактором разделения не менее 990 g в течение 15 мин.

Затем 1 — 2 см³ пробы с осветленным раствором отбирают в медицинский шприц через иглу, заменяют иглу на фильтр с диаметром пор 0,45 или 0,20 мкм и отфильтровывают в виалу.

6.2.3 Определение массовой доли аскорбиновой кислоты в концентрированных соках проводят после предварительного разбавления пробы дистиллированной водой весовым методом в соотношении 1:5.

Для этого на лабораторных весах по ГОСТ 24104 в стакане вместимостью 50 см³ по 4.7 взвешивают 5 — 7 г концентрированного сока с записью результата до третьего знака после запятой, прибавляют дистиллированную воду до получения общей массы пробы 25 — 35 г с записью результата до третьего знака после запятой. Делением общей массы пробы на массу концентрированного сока до разбавления водой вычисляют величину разбавления (разведения), которую учитывают при обработке результатов. В случае если концентрированный сок представляет собой пюре, при разбавлении которого образуются нерастворимые в дистиллированной воде вещества, пробу дополнительно центрифугируют в соответствии с аналогичными требованиями 6.2.2.

Затем 1 — 2 см³ пробы с осветленным раствором отбирают в медицинский шприц через иглу, заменяют иглу на фильтр с диаметром пор 0,45 или 0,20 мкм и отфильтровывают в виалу.

6.2.4 Подготовку проб по 6.2.1, 6.2.2 проводят с целью определения массовой концентрации аскорбиновой кислоты, а по 6.2.3 — с целью определения ее массовой доли.

6.3 Приготовление стандартных градуировочных растворов аскорбиновой кислоты

Стандартные градуировочные растворы аскорбиновой кислоты готовят для построения градуировочной зависимости по четырем точкам, от меньшей массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты к большей, из основного стандартного раствора № 1 в соответствии с таблицей 1.

Стандартные градуировочные растворы аскорбиновой кислоты готовят непосредственно перед проведением измерений.

Таблица 1 — Приготовление стандартных градуировочных растворов аскорбиновой кислоты

№ п/п	№ стандартного раствора	Компонент	Вместимость мерной колбы, см³	Способ приготовления	Массовая концентрация (массовая доля), мг/дм³ (млн⁻¹)
1	1 (основной)	Аскорбиновая кислота	100	Взвешивают 0,030 г аскорбиновой кислоты в мерном стакане вместимостью 50 см³ с записью результата до четвертого знака после запятой, растворяют в 40 см³ дистиллированной воды, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают	300
4	2	Аскорбиновая кислота	50	Отбирают 1,67 см³ раствора № 1, переносят в мерную колбу, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают	10
3	3	Аскорбиновая кислота	50	Отбирают 8,34 см³ раствора № 1, переносят в мерную колбу, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают	50
2	4	Аскорбиновая кислота	50	Отбирают 16,7 см³ раствора № 1, переносят в мерную колбу, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают	100

7 Проведение измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

7.1 Условия хроматографического анализа

Колонка аналитическая длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная октадецилсиликагелем, размер частиц 5 мкм (RP 18) по 4.3.

Элюент: раствор дигидрофосфата натрия 0,1 моль/дм^3 по 4.20.

Температура колонки: комнатная.

Длина волны детектора 243 нм (для спектрофотометра) или диапазон 200 — 350 нм (для фотодиодной матрицы).

Скорость потока подачи элюента: 0,65 см^3/мин (ориентировочное значение).

Объем вводимой пробы: 10 — 20 мкл.

7.2 Условия проведения измерений

Измерения проводят при следующих лабораторных условиях:

температура окружающего воздуха . . . . . (25 ± 5) °С;

атмосферное давление . . . . . (97 ± 10) кПа;

относительная влажность . . . . . (65 ± 15) %;

частота переменного тока . . . . . (50 ± 5) Гц;

напряжение в сети . . . . . (220 ± 10) В.

7.3 Построение градуировочной зависимости

Проводят хроматографический анализ всех градуировочных растворов.

Регистрируют площади пиков аскорбиновой кислоты и строят градуировочный график — зависимость площади пика от массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты в градуировочном растворе.

Процедуры построения градуировочной зависимости выполняют в соответствии с руководством по эксплуатации оборудования и руководством пользователя программным обеспечением.

Градуировочную зависимость выражают линейным уравнением

$$y = kx. \qquad (1)$$

Правильность построения градуировочной зависимости контролируется значением достоверности аппроксимации (R^2):

$R^2 \geq 0{,}9997$.

Из уравнения (1) следует, что площадь пиков стандартных растворов аскорбиновой кислоты S (mAU · с или AU · с) и их массовая концентрация c (мг/дм^3) или массовая доля c (млн$^{-1}$) находятся в соответствующей функциональной зависимости

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

где k — градуировочный коэффициент, [мг/дм^3/mAU · с]$^{-1}$, вычисляемый по формуле

$$k = \frac{\Sigma (S_i \cdot c_i)}{\Sigma c_i^2}, \qquad (3)$$

где S_i — площадь пика аскорбиновой кислоты при анализе i-го стандартного раствора;

c_i — массовая концентрация или массовая доля аскорбиновой кислоты при анализе i-го стандартного раствора, мг/дм^3 (млн$^{-1}$).

Градуировочную зависимость строят при замене оборудования, колонок, реактивов, условий хроматографического анализа или при выявлении несоответствия метрологическим требованиям результатов оперативного контроля или внутреннего аудита.

7.4 Анализ проб

Проводят хроматографический анализ проб, подготовленных по 6.2. Каждую пробу анализируют два раза в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-1 (подраздел 3.14) и ГОСТ Р ИСО 5725-2. Регистрируют площадь пиков аскорбиновой кислоты. В случае если

массовая концентрация или массовая доля аскорбиновой кислоты в пробе настолько максимальна, что площадь соответствующего пика выходит за верхнюю границу диапазона градуировки хроматографа, то подготавливают новую пробу с большим разбавлением и измерение повторяют.

Примеры хроматограмм и спектров поглощения для стандартного раствора и раствора L-аскорбиновой кислоты в апельсиновом соке приведены в приложении А.

8 Обработка и оформление результатов определения

Массовую концентрацию или массовую долю аскорбиновой кислоты рассчитывают по градуировочным зависимостям с учетом степени разведения пробы. Вычисления массовой концентрации или массовой доли проводят до третьего десятичного знака.

Обработку хроматограмм и определение массовой концентрации (массовой доли) аскорбиновой кислоты $c(X)$, мг/дм^3 (млн$^{-1}$), проводят с помощью программно-аппаратного комплекса сбора и обработки данных, с использованием градуировочной зависимости

$$c\,(X) = \frac{S_x \cdot V_2}{k \cdot V_1} \quad \text{или} \quad c\,(X) = \frac{S_x \cdot m_{общ}}{k \cdot m\,(x)} \tag{4}$$

или по формулам с использованием стандартного раствора массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты, наиболее близкой к ожидаемой в анализируемой пробе

$$c\,(X) = \frac{c_{ст} \cdot S_x \cdot V_2}{S_{ст} \cdot V_1} \quad \text{или} \quad c\,(X) = \frac{c_{ст} \cdot S_x \cdot m_{общ}}{S_{ст} \cdot m\,(x)}, \tag{5}$$

где S_x — площадь пика аскорбиновой кислоты, mAU · с или U · с;

V_2 — вместимость мерной колбы, взятой для разбавления, см^3;

k — градуировочный коэффициент, [мг/дм^3/mAU · с]$^{-1}$;

V_1 — объем пробы, отобранный для анализа, см^3;

$m_{общ}$ — масса анализируемой пробы после разбавления, г;

$m(x)$ — масса анализируемой пробы до разбавления, г;

$c_{ст}$ — массовая концентрация или массовая доля аскорбиновой кислоты в стандартном растворе, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

$S_{ст}$ — площадь пика аскорбиновой кислоты в стандартном растворе, mAU · с или U · с.

Все результаты обработки (с помощью программно-аппаратного комплекса или расчетные) должны сходиться.

Расхождение между двумя параллельными определениями (в процентах от среднего значения), выполненными в условиях повторяемости, не должно превышать предела повторяемости (сходимости) $r_{отн}$, приведенного в таблице 2, при вероятности $P = 0{,}95$.

При соблюдении этого условия за окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений $X_{ср}$, округленное до второго десятичного знака.

Границы относительной погрешности определения массовой концентрации (массовой доли) аскорбиновой кислоты $\pm\,\delta$, %, при соблюдении условий, регламентированных настоящим методом, при вероятности $P = 0{,}95$ не должны превышать значений, приведенных в таблице 2.

Таблица 2 — Основные метрологические характеристики метода определения массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты

Наименование показателя ($P = 0{,}95$, $n = 2$)	Значение показателя при диапазонах измерения массовой концентрации, мг/дм^3, или массовой доли, млн$^{-1}$	
	От 5,0 до 100,0 включ.	Св. 100,1 до 1000 включ.
Предел повторяемости (сходимости) $r_{отн}$, %	6	3
Предел воспроизводимости $R_{отн}$, %	28	14

Окончание таблицы 2

Наименование показателя (P = 0,95, n = 2)	Значение показателя при диапазонах измерений массовой концентрации, мг/дм^3, или массовой доли, млн$^{-1}$	
	От 5,0 до 100,0 включ.	Св. 100,1 до 1000 включ.
Граница относительной погрешности ± δ, %	20	10
Предел обнаружения метода, мг/дм^3 (млн$^{-1}$)	1,0	

Окончательный результат определения массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты представляют в следующем виде:

$$X_{ср} \pm \Delta, \quad (5)$$

где $X_{ср}$ — среднее значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

Δ — границы абсолютной погрешности определений массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты, мг/дм^3 (млн$^{-1}$), рассчитанные по формуле

$$\Delta = \frac{\delta \cdot X_{ср}}{100}. \quad (6)$$

9 Контроль точности результатов определения

9.1 Оперативный контроль повторяемости результатов определения

Оперативный контроль повторяемости результатов определения массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты проводят при получении каждого результата определения путем сравнения расхождения между результатами двух параллельных определений (в процентах от среднего значения) с пределом повторяемости (сходимости), приведенным в таблице 2.

Повторяемость результатов признают удовлетворительной при условии

$$|X_1 - X_2| \le 0{,}01 r_{отн} X_{ср}. \quad (7)$$

При превышении предела повторяемости (сходимости) определение повторяют. При повторном превышении указанного предела выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, их устраняют и определение повторяют.

9.2 Оперативный контроль воспроизводимости результатов определения

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых определений, которые получены в условиях воспроизводимости (одна и та же методика, идентичный объект определения, разные лаборатории, разные операторы, различное оборудование), не должно превышать предела воспроизводимости, приведенного в таблице 2. При превышении указанного предела воспроизводимости контрольное определение повторяют. При повторном превышении указанного предела воспроизводимости выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

9.3 Оперативный контроль погрешности (точности) результатов определения

Для проведения оперативного контроля погрешности определение проводят в пробах, объем или масса которых должны соответствовать удвоенному их количеству, необходимому для проведения определения. Пробу делят на две равные части. В одну из них добавляют стандартный раствор аскорбиновой кислоты в таких количествах, чтобы добавка составляла 50 % — 150 % исходного содержания компонента в пробе, но не превышала верхней границы диапазона определения массовой концентрации или массовой доли компонента с учетом границ погрешности определения (см. таблицу 2). В обеих частях пробы проводят определение в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

Результаты контрольных определений признают удовлетворительными, если погрешность определения массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты в добавке не превышает норматива оперативного контроля погрешности (точности), то есть выполняется условие

$$|X_{доб} - X_{ср} - c_{доб}| \le K_{доб}, \quad (8)$$

где $X_{доб}$ — среднее значение двух определений массовой концентрации (массовой доли) аскорбиновой кислоты в пробе с добавкой, мг/дм³ (млн⁻¹);

$X_{ср}$ — среднее значение двух определений массовой концентрации (массовой доли) аскорбиновой кислоты в пробе без внесения добавки, мг/дм³ (млн⁻¹);

$c_{доб}$ — значение добавки аскорбиновой кислоты, мг/дм³ (млн⁻¹);

$K_{доб}$ — норматив оперативного контроля погрешности, мг/дм³ (млн⁻¹).

При проведении внутрилабораторного контроля (P = 0,90) значение $K_{доб}$ рассчитывают по формуле

$$K_{доб} = 0{,}84 \cdot \frac{\delta}{100} \cdot \sqrt{X_{доб}^2 + X_{ср}^2}. \quad (9)$$

При проведении внешнего контроля (P = 0,95) значение $K_{доб}$ рассчитывают по формуле

$$K_{доб} = \frac{\delta}{100} \cdot \sqrt{X_{доб}^2 + X_{ср}^2}, \quad (10)$$

где δ — границы относительной погрешности определения массовой концентрации или массовой доли аскорбиновой кислоты, указанные в таблице 2.

При превышении норматива оперативного контроля погрешности проводят повторные контрольные определения. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

Периодичность контроля погрешности (точности) устанавливается самой лабораторией с учетом фактического состояния работ. При замене оборудования, колонок, реактивов или при построении новой градуировочной зависимости проведение оперативного контроля погрешности обязательно.

10 Требования безопасности

10.1 Условия безопасного проведения работ

При работе с химическими реактивами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005 и ГОСТ 12.1.007. При подготовке проб к анализу и выполнении измерений с использованием жидкостного хроматографа соблюдают правила пожаровзрывобезопасности по ГОСТ 12.1.018, по электробезопасности — по ГОСТ 12.1.019 и инструкции по эксплуатации прибора.

10.2 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений, обработке и оформлению результатов допускаются инженер-химик, техник или лаборант, имеющие высшее или среднее специальное образование, опыт работы в химической лаборатории и изучившие инструкцию по эксплуатации метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Первое применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в лаборатории следует проводить под руководством специалиста, владеющего теорией метода высокоэффективной жидкостной хроматографии и имеющего практические навыки в этой области.

Приложение А
(справочное)

Хроматограммы и спектры поглощений стандарта L-аскорбиновой кислоты и аскорбиновой кислоты в пробе апельсинового сока

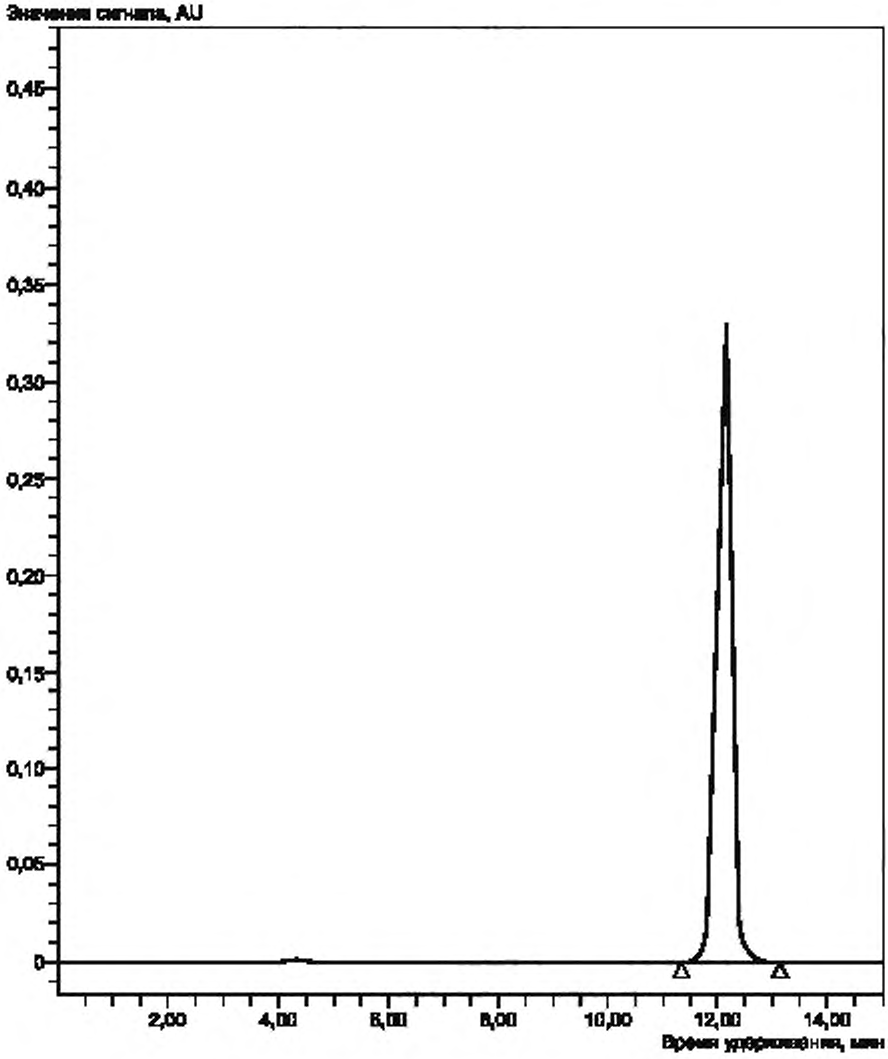

Рисунок А.1 — Хроматограмма стандартного раствора L-аскорбиновой кислоты (время удерживания — 12,147 мин)

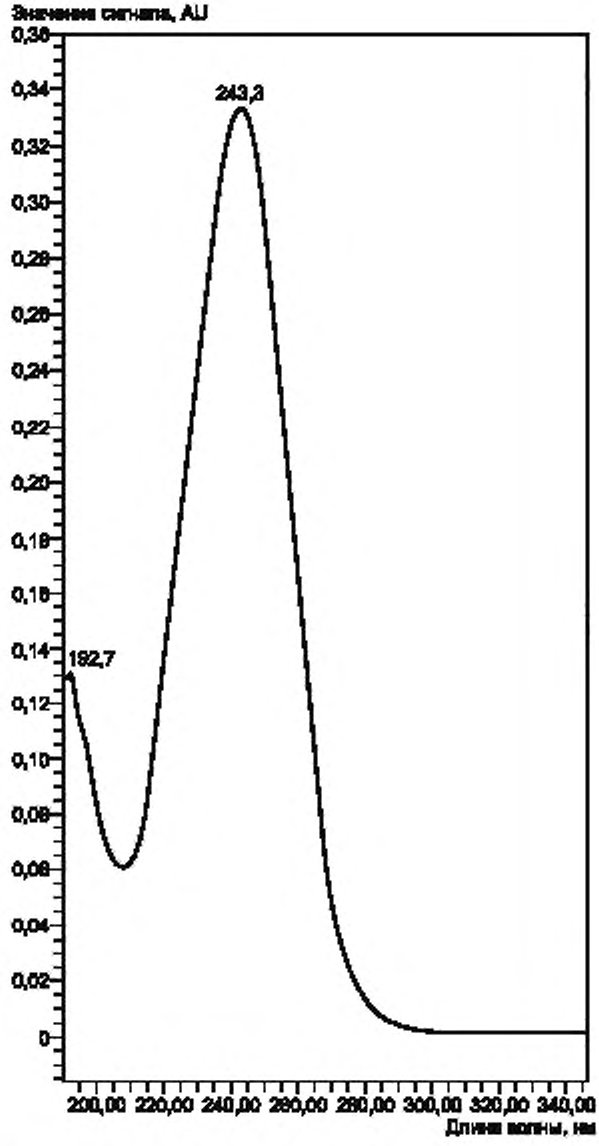

Рисунок А.2 — Спектр поглощения стандартного раствора L-аскорбиновой кислоты

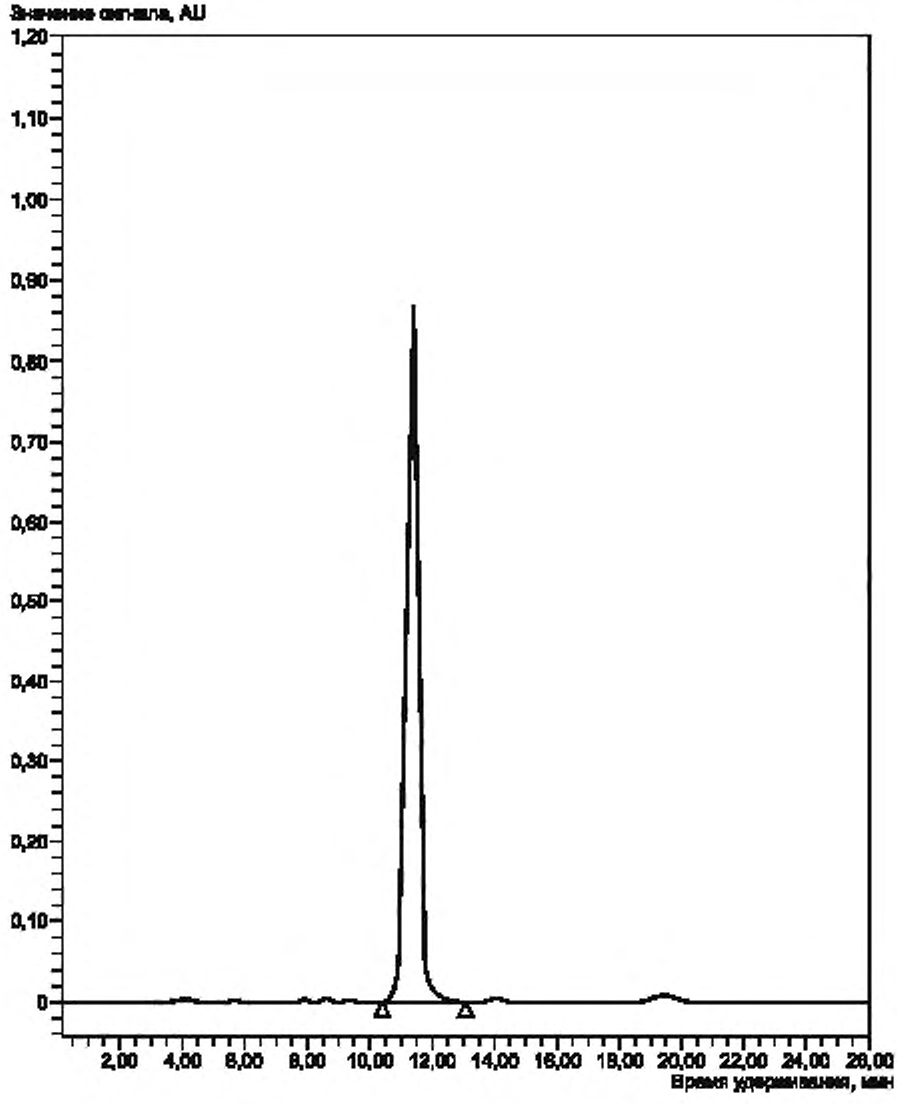

Рисунок А.3 — Хроматограмма L-аскорбиновой кислоты в апельсиновом соке (время удерживания — 11,451 мин)

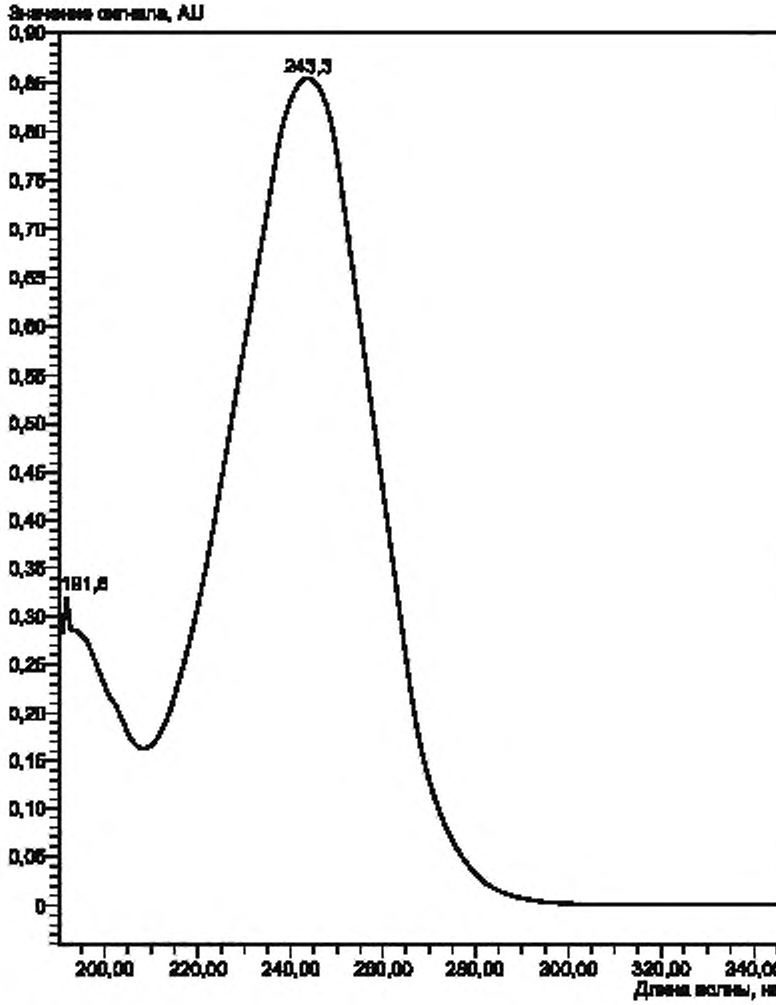

Рисунок А.4 — Спектр поглощения L-аскорбиновой кислоты в апельсиновом соке

Библиография

[1] ТУ 6-09-1678—95 Фильтры обеззоленные ФЩ-ФС-15 «Белая лента»

УДК 664.863.001.4:006.354 ОКС 67.080 67.050 Н59 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: соковая продукция, аскорбиновая кислота, сущность метода, высокоэффективная жидкостная хроматография, стандартные градуировочные растворы, массовая концентрация, массовая доля, предел повторяемости (сходимости), границы относительной погрешности

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 09.04.2010. Подписано в печать 28.04.2010. Формат 60x84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,50. Тираж 241 экз. Зак. 354.

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