ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54744— 2011

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение хинной, яблочной и лимонной кислот в продуктах из клюквы и яблок методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Академическим центром сертификации и стандартизации продуктов питания ОАО «Академсертификат»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом 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 13 декабря 2011 г. № 917-ст

4 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения:

- международного стандарта CODEXSTAN 247—2005 «Общий стандарт на фруктовые соки и нектары» (CODEXSTAN 247—2005 «Codex general standard for fruit juices and nectars», NEQ) в части методов анализа и отбора проб соковой продукции;
- основные нормативные положения и метрологические характеристики документа AOAC 986.13 «Хинная, яблочная и лимонная кислоты в коктейлях из клюквенного сока и в яблочном соке» (AOAC Official Method 986.13 «Quinic, Malic and Citric Acids in Cranberry Juice Cocktail and Apple Juice», NEQ)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2019 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, 2013, 2019

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 хинной, яблочной и лимонной кислот в продуктах из клюквы и яблок методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Juice product. Determination of quinic, malic and citric acids in products from cranberry and apples by high-performance liquid chromatography

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на соковую продукцию в части продуктов из клюквы и яблок и устанавливает метод определения хинной, яблочной и лимонной кислот с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее — метод ВЭЖХ).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 4198 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

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

ГОСТ 26313 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 51239[1)] Соки фруктовые и овощные. Метод определения L-яблочной кислоты

ГОСТ Р 51940[2)] Соки фруктовые и овощные. Метод определения D-яблочной кислоты

Примечание — При пользовании настоящим стандартом 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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

[1)] Действует ГОСТ 34409—2018.

[2)] Действует ГОСТ 34408—2018.

Издание официальное

3 Сущность метода

Метод основан на предварительной твердофазной экстракции пробы с помощью одноразового картриджа для удаления соединений, мешающих определению, фильтровании и хроматографическом разделении в системе для проведения ВЭЖХ.

Хинная, яблочная, лимонная кислоты в ходе хроматографического определения разделяются с использованием двух обращенно-фазовых хроматографических колонок и регистрируются с помощью спектрофотометрического детектора при длине волны 214 нм. Расчет долей органических кислот, подтверждаемых хроматограммой, осуществляется путем сравнения с градуировочными растворами стандартных веществ.

4 Приборы и реактивы

4.1 Хроматограф для ВЭЖХ

Хроматографическая система для ВЭЖХ состоит из инжектора, спектрофотометрического детектора с возможностью регистрации фракций при длине волны 214 нм с разрешением 0,1 ед. оптической плотности, программно-аппаратного комплекса для обработки результатов хроматографического разделения (например, система Waters Associates, Inc., инжектор модель 7725i, детектор модель 2487, компьютерный интегратор Hewlett-Packard 3390 или эквивалентная система).

4.2 Колонка аналитическая

Для хроматографического разделения используют аналитическую колонку [1] модель Supelcosil LC-18 (или эквивалент) с размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм с последовательно подключенным картриджем модель Radial-Pak C_{18} (Waters Associates, Inc. или эквивалент) с размером частиц 5 мкм, длиной 100 мм, с использованием радиального насосного модуля.

Картридж Radial-Pak C_{18} допускается заменить на любую стандартную обращенно-фазовую колонку C_{18} из нержавеющей стали с размером частиц 10 мкм.

В системе перед колонкой [1] необходимо использовать предварительную обращенно-фазовую колонку модель Bio-Rad ODS-10 (или эквивалент). В качестве подвижной фазы используют фосфатный буфер. Скорость элюирования составляет 0,8 $см^3$/мин. Разрешение детектора должно составлять не менее 0,1 ед. оптической плотности.

4.3 Картридж для твердофазной экстракции

Для твердофазной экстракции используют одноразовые картриджи модель Sep–Pak C_{18} (Waters Associates, Inc. или эквивалент).

4.4 Реактивы

4.4.1 Калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4) по ГОСТ 4198, х. ч.

4.4.2 Кислота ортофосфорная массовой долей не менее 85 %, х. ч.

4.4.3 Метанол (перед применением фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм), 95 %, ч. д. а.

4.4.4 Фаза подвижная ВЭЖХ — раствор 0,2 М KH_2PO_4 с 2,4 ед. pH

Для приготовления подвижной фазы (фосфатного буфера) для ВЭЖХ взвешивают 27,2 г KH_2PO_4 (4.4.1) в химическом стакане. В стакан добавляют дистиллированной воды (4.4.5) до объема 950 $см^3$. С помощью pH-метра и ортофосфорной кислоты (4.4.2) доводят кислотность до 2,4 ед. pH. Раствор переносят в мерную колбу на 1000 $см^3$ и доводят дистиллированной водой до метки. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером диаметра пор 0,45 мкм (4.7).

4.4.5 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

4.4.6 Кислота хинная (CAS-77-95-2), ч. д. а.

4.4.7 Кислота яблочная (CAS-6915-7), ч. д. а.

4.4.8 Кислота лимонная (CAS-77-92-9), ч. д. а.

4.4.9 Ацетонитрил, ч. д. а. (перед применением фильтруют через мембранный фильтр с размером диаметра пор 0,45 мкм).

4.5 Посуда лабораторная стеклянная по ГОСТ 25336.

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

4.7 Фильтры мембранные размером 25 мм и размером диаметра пор 0,45 мкм.

4.8 Шприц медицинский вместимостью 10 $см^3$.

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

5 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 26313.

6 Подготовка к определению

6.1 Перед подготовкой кондиционируют картридж (4.3) путем элюирования через него 10 $см^3$ смеси ацетонитрила (4.4.9) и дистиллированной воды в соотношении 50 : 50 с помощью медицинского шприца вместимостью 10 $см^3$. После удаления шприца через картридж пропускают 10 $см^3$ воздуха. Затем проводят экстракцию 10 $см^3$ пробы. Отбрасывают первые 4—5 $см^3$ элюата и собирают следующие 4—5 $см^3$. Полученную пробу фильтруют через мембранный фильтр и применяют для анализа методом ВЭЖХ.

6.2 Приготовление градуировочных растворов

В подходящей лабораторной емкости взвешивают с точностью 0,1 мг по 0,200 г хинную (4.4.6), яблочную (4.4.7) и лимонную кислоту (4.4.8). Переносят смесь кислот в мерную колбу на 100 $см^3$. Объем в колбе доводят дистиллированной водой до метки. Раствор фильтруют через мембранный фильтр (4.7).

7 Проведение определения

7.1 Подготовка хроматографической системы

Хроматографическую систему последовательно кондиционируют метанолом (4.4.3) или смесью из метанола и дистиллированной воды в соотношении 70:30, затем дистиллированной водой и фосфатным буфером (4.4.4). В конце рабочего дня проводят очистку системы, используя перечисленные выше реактивы в обратном порядке.

Предупреждение: запрещен контакт метанола с фосфатным буфером!

7.2 Условия определения

Для проведения хроматографического разделения выполняют следующие условия:

- скорость потока 0,8 $см^3$/мин;
- спектрофотометрическое детектирование фракций при 214 нм, комнатной температуре и разрешении детектора 0,1 ед. оптической плотности.

Система колонок считается подготовленной, если в соковой продукции из клюквенного сока и яблочном соке регистрируется видимое разделение между первым пиком сахарозы и хинной кислотой. В хроматографическую систему для проверки линейности измерений вводят от 5 до 20 мкл градуировочных растворов (4.1) после каждых двух разделений растворов проб, для хроматографического разделения проб используют по 5 мкл, полученных в ходе твердофазной экстракции (4.2). Проводят по два параллельных определения для градуировочных растворов и проб.

В хроматограмме регистрируется такая последовательность выхода кислот — хинная, яблочная, лимонная и фумаровая кислоты.

8 Обработка результатов определения

Процентную долю хинной, лимонной, яблочной или фумаровой кислоты в анализируемой пробе K, %, вычисляют по формуле

$$K = \frac{PA}{PA^i} \cdot \frac{V^i}{V} \cdot C, \qquad (1)$$

где PA — площадь пика, полученная при анализе пробы;

PA^i — площадь пика, полученная при анализе градуировочного раствора;

V — объем пробы;

V^i — объем градуировочного раствора;

C — концентрация градуировочного раствора, %.

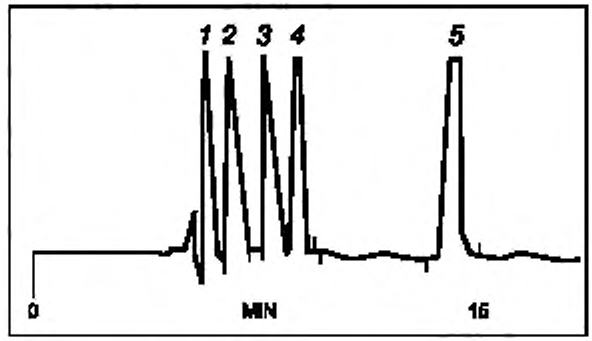
Примечание — Градуировочный раствор яблочной кислоты (*L*- или *D,L*-яблочной кислоты)[1)] после разделения показывает в хроматограмме двойной пик, в котором второй — фумаровая кислота. Количество фумаровой кислоты, присутствующей в градуировочном растворе яблочной кислоты, настолько мало, что градуировочный раствор яблочной кислоты можно считать более чем 99,9 % свободным от фумаровой кислоты. Примеси не влияют на результаты определения.

[1)] В связи с тем, что описанный в настоящем стандарте хроматографический метод не позволяет получить сведения об изомерах яблочной кислоты при необходимости идентификации продукции с целью выявления ее фальсификации путем добавления *D*-яблочной и/или *D,L*-яблочной кислоты, проводят дополнительное определение проб методом ферментативного анализа согласно ГОСТ Р 51239 и ГОСТ Р 51940.

Приложение А
(справочное)

Хроматограмма с результатами анализа хинной, яблочной и лимонной кислот в коктейле на основе клюквенного сока

А.1 Хроматограмма с результатами определения хинной, яблочной и лимонной кислот в коктейле на основе клюквенного сока приведена на рисунке А.1.



Порядок выхода компонентов пробы (номера пиков):

1 — растворитель и сахара;

2 — хинная кислота;

3 — яблочная кислота;

4 — аскорбиновая и шикимовая кислоты;

5 — лимонная кислота

Примечание — Пик № 4, выходящий из аналитической колонки после пика яблочной кислоты (пик № 3), относится к аскорбиновой (витамин С) и шикимовой кислотам, которые не учитываются в определении.

Рисунок А.1

Библиография

[1] Journal of AOAC, 1986.—69.— p. 594.

УДК 664.863.001.4:006.354 ОКС 67.160.20

Ключевые слова: соковая продукция, сокосодержащие клюквенные напитки, яблочный сок, продукты переработки клюквы и яблок, хинная кислота, яблочная кислота, лимонная кислота, высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ, отбор проб, подготовка к определению, проведение определения, обработка результатов определения

Редактор *О.В. Рябиничева*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 21.11.2019. Подписано в печать 12.12.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru