ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

СТБ ГОСТ Р 51435-2006
(ИСО 8128-1-93)

Сок яблочный, сок яблочный концентрированный и напитки, содержащие яблочный сок

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПАТУЛИНА С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Сок яблычны, сок яблычны канцэнтраваны і напіткі, якія змяшчаюць яблычны сок

МЕТАД ВЫЗНАЧЭННЯ ЗМЯШЧЭННЯ ПАТУЛІНУ З ДАПАМОГАЙ ВЫСОКАЭФЕКТЫЎНАЙ ВАДКАСНАЙ ХРАМАТАГРАФІІ

(ГОСТ Р 51435-99 (ИСО 8128-1-93), IDT)

Издание официальное

БЗ 12-2006

Госстандарт
Минск

gost.e-ecolog.ru

УДК 663.813:543.544.5.068.7(083.74)(476) МКС 67.080.10 КП 03 IDT

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

ОКП РБ 15.32.10

Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 28 декабря 2006 г. № 65

3 Настоящий стандарт идентичен национальному стандарту 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», разработанному на основе международного стандарта ISO 8128-1:1993 «Сок яблочный, концентраты яблочного сока и напитки, содержащие яблочный сок. Определение содержания патулина. Часть 1. Метод с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии».

Разработан Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности (ВНИИКОП).

Дополнительные требования, отражающие потребности экономики страны, выделены курсивом.

Официальный экземпляр национального стандарта Российской Федерации, на основе которого подготовлен настоящий государственный стандарт, имеется в БелГИСС.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта Республики Беларусь

Издан на русском языке

Содержание

1 Область применения 1
2 Сущность метода 1
3 Реактивы 1
4 Приборы и лабораторное оборудование 2
5 Отбор проб 2
6 Проведение испытаний 2
7 Обработка результатов 3
8 Точность метода 3
9 Протокол испытаний 3

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Сок яблочный, сок яблочный концентрированный и напитки, содержащие яблочный сок МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПАТУЛИНА С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Сок яблычны, сок яблычны канцэнтраваны і напіткі, якія змяшчаюць яблычны сок МЕТАД ВЫЗНАЧЭННЯ ЗМЯШЧЭННЯ ПАТУЛІНУ З ДАПАМОГАЙ ВЫСОКАЭФЕКТЫЎНАЙ ВАДКАСНАЙ ХРАМАТАГРАФІІ

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

Дата введения 2007-06-01

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.

При необходимости в развитие настоящего стандарта разрабатываются в установленном порядке методики выполнения измерений.

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.

Издание официальное

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 нм на подходящем спектрофотометре с использованием кварцевых кювет рабочей длиной 10 мм.

3.6.2 Расчет концентрации стандартного раствора патулина

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

$$\rho_{ps} = \frac{AM1000C}{A_{276}}, \quad (1)$$

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 $г/дм^3$.

Лабораторное оборудование:

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 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).

[1)] ODS – октадецилсилан.

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.

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 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, до которого сконцентрирован этилацетатный экстракт, $см^3$;

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

8 Точность метода

8.1 Сходимость результатов

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

где r – предел сходимости;

s_r – среднеквадратическое отклонение сходимости.

8.2 Воспроизводимость результатов

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

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.

Ответственный за выпуск *В.Л. Гуревич*

Сдано в набор 16.01.2007. Подписано в печать 08.02.2007. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 0,81 Уч.- изд. л. 0,27 Тираж экз. Заказ

Издатель и полиграфическое исполнение
НП РУП «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
Лицензия № 02330/0133084 от 30.04.2004.
220113, г. Минск, ул. Мележа, 3.

gost.e-ecolog.ru