МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33312— 2015

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение гваякола методом газовой хроматографии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС) при участии Закрытого акционерного общества «Мултон» (ЗАО «Мултон»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 18 июня 2015 г. № 47–2015)

За принятие голосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 августа 2015 г. № 1048-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33312–2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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, 2016

В Российской Федерации 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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение гваякола методом газовой хроматографии

Juice products.
Determination of guaiacol by gas chromatography

Дата введения – 2017 – 01 – 01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, нектары и сокосодержащие напитки, фруктовые и овощные концентрированные соки, пюре и концентрированные пюре, морсы и концентрированные морсы (далее – соковая продукция) и устанавливает метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС) для качественного определения гваякола.

Предел обнаружения гваякола – 0,3 мкг/дм^3.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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 OIML R 76-1–2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

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

ГОСТ ISO 3696–2013** Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний*

ГОСТ 4233–77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-1–2003*** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ ISO 7886-1–2011 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

ГОСТ 9293–74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ ИСО/МЭК 17025–2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 17433–80 Промышленная чистота. Сжатый воздух. Классы загрязненности

ГОСТ 22300–76 Реактивы. Эфиры этиловый и бутиловый уксусной кислоты. Технические условия

ГОСТ 25336–82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы. Основные параметры и размеры

ГОСТ 26313–2014 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 26671–2014 Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

---

*На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019–2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501–2005 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

*** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-1–2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения.

Издание официальное

ГОСТ 31643–2012 Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

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 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 Термины и определения, сокращения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **гваякол (2-метоксифенол):** Органическое вещество класса фенолов, продукт жизнедеятельности бактерий рода *Alicyclobacillus*, с характерным сладковатым, фенольным, немного дымным ароматом, напоминающим аромат копчения.

3.2 **режим *SIM*** (*selected ion monitoring mode*)**:** Режим селективного мониторинга ионов, обеспечивающий идентификацию и количественное определение заданных веществ из библиотечного списка [1] по характерным для этих веществ ионам.

4 Сущность метода

Метод основан на извлечении гваякола из пробы этилацетатом, концентрировании экстракта, газохроматографическом разделении на кварцевой капиллярной колонке с последующей идентификацией на масс-спектрометре путем сравнения времен удерживания и масс-спектров электронной ионизации.

Определению не мешают нерастворимые в воде вещества.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

5.1 Хроматограф газовый, оснащенный масс-спектрометрическим детектором, позволяющим проводить измерения в диапазоне масс от 15 до 350 а. е. м. в режиме электронной ионизации при энергии электронов 70 эВ, масс-спектральном разрешении не менее 1 а. е. м. по всей шкале масс, и программным обеспечением для сбора и обработки данных, включающим справочную библиотеку масс-спектров [1].

5.2 Колонка кварцевая капиллярная с неполярной фазой состава: 5 % фенил-диметилполисилаксан и 95 % силикагель, длиной 60 м и внутренним диаметром 0,25 мм*.

5.3 Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1 с наибольшим пределом взвешивания 220 г и пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 г.

5.4 Микрошприцы вместимостью 1 мм^3 с пределами допускаемой относительной погрешности дозирования ± 6,0 %.

5.5 Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема от 100 до 1000 мм^3 с допустимой относительной погрешностью дозирования ± 2 % по воде с соответствующими наконечниками.

5.6 Контейнеры для проб (виалы) вместимостью 2 см^3 с завинчивающейся крышкой и силикон-тефлоновой септой для анализа жидких проб.

5.7 Стаканы В-1-100 и В-1-50 по ГОСТ 25336.

5.8 Центрифуга лабораторная с частотой вращения не менее 9000 мин$^{-1}$ с адаптером для пробирок вместимостью 50 см^3.

5.9 Пробирки центрифужные полимерные вместимостью 50 см^3 с завинчивающейся крышкой.

5.10 Оборудование для концентрирования пробы, например концентратор или испаритель ротационный с испарительной колбой вместимостью 50 см^3.

5.11 Гваякол для хроматографии, с массовой долей основного вещества не менее 99,5 %.

5.12 Этилацетат по ГОСТ 22300, х. ч.

---

*Допускается применение капиллярных колонок других типов, обеспечивающих разделение, аналогичное приведенному в приложении А, рисунки А.1–А.3. Данная информация является рекомендуемой и приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

5.13 Натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.

5.14 Азот газообразный по ГОСТ 9293, о. ч.

5.15 Гелий с содержанием гелия не менее 99,9999 %.

5.16 Воздух сжатый класса «0» по ГОСТ 17433. Допускается использовать компрессоры любого типа, обеспечивающие необходимое давление и чистоту воздуха.

5.17 Шприц медицинский номинальной вместимостью 10 $см^3$ по ГОСТ ISO 7886-1.

5.18 Стандарт калибровочный для масс-спектрометрического детектора – перфтор-5,8-диметил-3,6,9-триоксидодекан (ПФДТД).

5.19 Пропилбензол с содержанием основного вещества не менее 99,8 %.

5.20 Вставки для виал вместимостью 2 $см^3$ (см. 5.6) для измерения микроколичеств проб.

5.21 Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2 по ГОСТ 1770.

5.22 Цилиндр 2-100-1 по ГОСТ 1770.

5.23 Вода по ГОСТ ISO 3696, 2-й степени чистоты.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, посуды, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, а также реактивов, по качеству не хуже вышеуказанных.

6 Отбор и подготовка проб

6.1 Отбор проб – по ГОСТ 26313, подготовка лабораторных проб – по ГОСТ 26671.

6.2 Подготовка проб осветленной соковой продукции – по ГОСТ 31643 (пункт 6.2.1).

Подготовка проб соковой продукции с объемной долей мякоти до 10,0 % включительно или содержащих нерастворимые в воде вещества – по ГОСТ 31643 (пункт 6.2.2).

Концентрированную соковую продукцию разбавляют водой в пять раз весовым методом и далее проводят подготовку по ГОСТ 31643 (пункты 6.2.1, 6.2.2).

7 Условия выполнения измерений

При приготовлении растворов, подготовке к проведению измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С .....20 ± 5;
- атмосферное давление, кПа ..... от 84 до 106,7;
- относительная влажность, % .....не более 85;
- напряжение в питающей сети, В ..... 220 ± 20;
- частота тока в питающей сети, Гц .....50 ± 1.

Хроматографические измерения проводят при условиях, указанных в руководстве по эксплуатации прибора.

Помещение, в котором проводят работы с реактивами, должно быть обеспечено приточно-вытяжной вентиляцией.

Все операции с реактивами следует проводить в вытяжном шкафу.

8 Подготовка к выполнению измерений

8.1 Подготовка прибора к выполнению измерений

Подготовку хромато-масс-спектрометра к работе, вывод его на рабочий режим и выключение по окончании работы осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации и устанавливают параметры, рекомендуемые изготовителем капиллярных колонок.

Настройку масс-спектрометрического детектора проводят по калибровочному стандарту – перфтор-5,8-диметил-3,6,9-триоксидодекан (ПФДТД), согласно инструкции по эксплуатации.

Для капиллярной колонки устанавливают следующие рабочие параметры:

- режим программирования температуры термостата колонки в соответствии с таблицей 1;

Таблица 1

Область графика температуры	Скорость нагрева, °С/мин	Значение температуры, °С	Время выдержки, мин
Начальная точка	–	35	0
Участок 1	8	140	0
Участок 2	3	170	0
Участок 3	8	300	3

- температура термостата испарителя (инжектора), °С ..... 225 ± 2;
- тип инжектора ..... без деления потока;
- температура детектора, °С ..... 200 ± 2;
- объемная скорость газа-носителя, $см^3$/мин .....1,0 ± 0,1;
- объем вводимой пробы, $мм^3$ .....1–2.

Примечание – Объем вводимой пробы зависит от чувствительности детектора и разрешающей способности колонки.

Масс-спектрометрический детектор:
- температура ионного источника, °С .....230 ± 1;
- температура квадрупольного анализатора, ° С .. 150 ± 1;
- температура интерфейса, °С .....280 ± 1;
- задержка на растворитель, мин .....12 ± 2;
- режим ионизации ..... электронный удар;
- режим сканирования ..... *SIM*;
- скорость сканирования ....5 ск/с.

Допускается применения других условий и параметров настройки масс-спектрометрического детектора, обеспечивающих необходимую чувствительность и разделение, аналогичное приведенному в приложении А, рисунки А.1–А.2.

9 Проведение измерений

9.1 Приготовление основного стандартного раствора гваякола с массовой концентрацией 500 мг/$дм^3$

В мерной колбе вместимостью 100 $см^3$ взвешивают (0,05 ± 0,01) г гваякола, доводят до метки этилацетатом и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре не выше 4 °С – не более 30 сут.

9.2 Приготовление рабочего стандартного раствора гваякола с массовой концентрацией 1 мг/$дм^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,2 $см^3$ основного стандартного раствора, приготовленного по 9.1, доводят этилацетатом до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным при измерениях.

9.3 Приготовление рабочего стандартного раствора гваякола с массовой концентрацией 1 мкг/$дм^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 0,1 $см^3$ рабочего стандартного раствора, приготовленного по 9.2, доводят этилацетатом до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным для проверки чувствительности детектора.

9.4 Проведение измерений

9.4.1 В две центрифужные пробирки вместимостью 50 $см^3$ помещают по 15 г хлорида натрия, 40 $см^3$ пробы соковой продукции, подготовленной по 6.2, и 5 $см^3$ этилацетата, завинчивают крышкой и встряхивают до полного перемешивания. Пробирки с подготовленной смесью центрифугируют при 9000 об/мин в течение 10 мин. Затем из каждой пробирки через иглу отбирают в медицинский шприц отделившийся верхний слой этилацетата и переносят в стакан вместимостью 50 $см^3$ по ГОСТ 25336. Объем пробы уменьшают до 100 $мм^3$ посредством вытеснения этилацетата током азота («отдувка» азотом), концентрируя тем самым пробу примерно в 800 раз. Полученный объем (около 100 $мм^3$) этилацетата переносят во вставку для микроколичеств (см. 5.20), которую помещают в виалу вместимостью 2 $см^3$ (см. 5.6) и проводят хроматографические измерения.

9.4.2 Проводят измерения двух проб в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-1, регистрируют на масс-спектрах набор характерных для гваякола ионов, соответствующих области времени удерживания гваякола.

Измерения проводят в автоматическом режиме с помощью программы управления автосамплера и хроматографа или в режиме ручного ввода.

Масс-спектр хроматографического пика, полученного при хроматографировании пробы, сравнивают со стандартным для искомого вещества масс-спектром по базе данных (например, библиотека [1]) или стандарта гваякола (рабочий стандартный раствор гваякола с массовой концентрацией 1 мг/$дм^3$, приготовленный по 9.2.). Детектирование гваякола проводят по группе индивидуальных характерных ионов *m/z* = 81, 109, 124 (режим *SIM*). Оценивают совпадение времени удерживания и совпадение масс-спектра по характерным ионам идентифицируемого соединения с масс-спектром гваякола по [1] или масс-спектром стандарта гваякола (см. 5.11).

9.4.3 Гваякол в пробе считают обнаруженным при следующих условиях:

- время удерживания искомого соединения отличается от среднего времени удерживания гваякола, найденного при измерении рабочего раствора (см. приложение А, рисунок А.1), не более чем на 5 %;

- вероятность совпадения масс-спектра хроматографического пика, полученного по 9.4.2, с масс-спектром стандарта гваякола (см. 5.11) или с масс-спектром гваякола по [1] не менее 80 %.

Указанные критерии касаются только идентификации гваякола в пробе.

Вывод о наличии гваякола в пробе в пределах чувствительности метода должен следовать из сравнения пика гваякола в стандартном растворе для определения чувствительности и пика гваякола в пробе.

10 Оформление результатов измерений

Результаты измерений регистрируют в протоколе испытаний согласно ГОСТ ИСО/МЭК 17025 с указанием метода и настоящего стандарта.

В случае положительной идентификации в протоколе указывают факт присутствия гваякола в пробе в пределах чувствительности метода.

Контроль качества результатов измерений проводят в соответствии с приложением Б.

11 Требования безопасности

11.1 Условия безопасного проведения работ

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

Эксплуатация хромато-масс-спектрометра и проведение соответствующих измерений требуют соблюдения правил электробезопасности по ГОСТ 12.1.019 и инструкции по эксплуатации прибора.

11.2 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений, обработке и оформлению результатов допускаются сотрудники, изучившие инструкцию по эксплуатации оборудования, освоившие настоящий метод и имеющие стаж работы в лаборатории не менее одного года.

Внедрение метода в лаборатории должно проводиться под руководством специалиста, владеющего методом хромато-масс-спектрометрии и имеющего практические навыки в этой области.

Приложение А
(справочное)

Примеры хроматограмм и параметры идентификации гваякола

А.1 Примеры хроматограмм и параметры идентификации гваякола приведены на рисунках А.1, А.2.

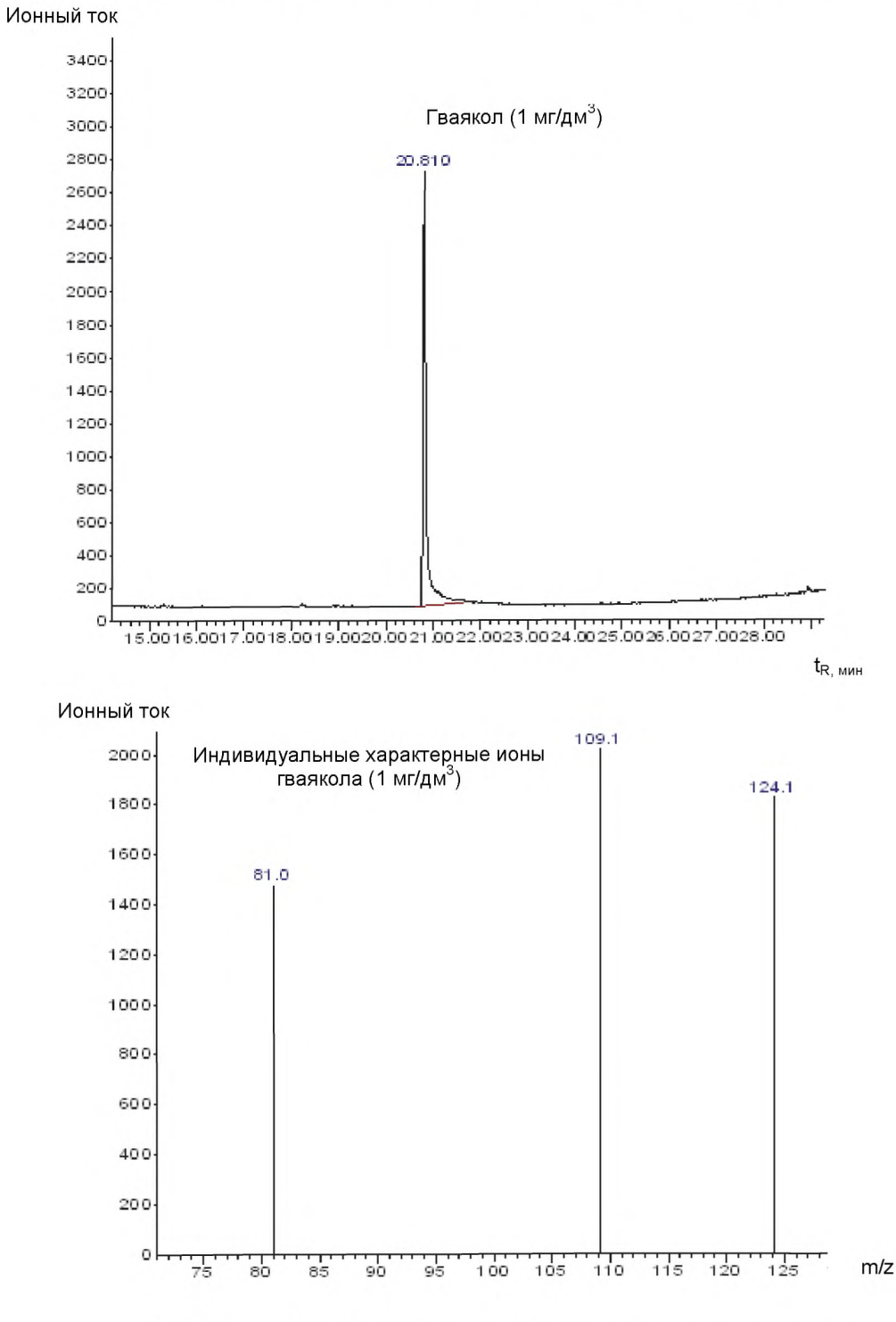

Рисунок А.1 – Хроматограмма и масс-спектр рабочего раствора гваякола с массовой концентрацией 1 мг/дм^3

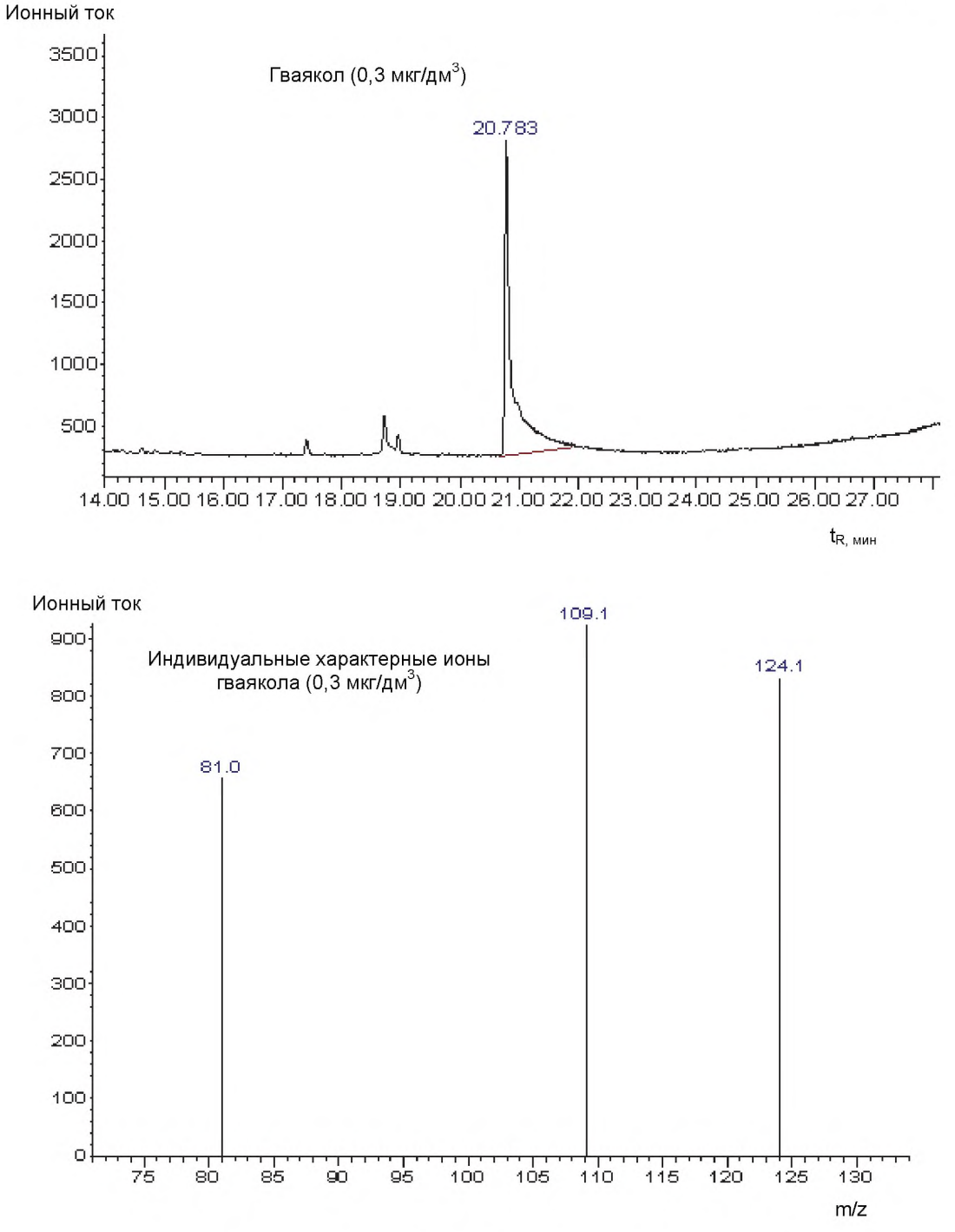

Рисунок А.2 – Хроматограмма и масс-спектр пробы яблочного сока, содержащего 0,3 мкг/дм^3 гваякола

Приложение Б
(рекомендуемое)

Контроль качества результатов измерений

Б.1 Проверка правильности измерения

Проверку правильности измерения выполняют для контроля возможных потерь гваякола при пробоподготовке и получения ошибочного результата измерений. Проверку правильности измерения проводят с использованием внутреннего стандарата. В качестве внутреннего стандарта используют пропилбензол.

В одну из проб добавляют пропилбензол в таком количестве, чтобы его концентрация в пробе составляла 10 мг/дм^3. Далее проводят все операции, описанные в 9.4.1. Параллельно готовят стандартный раствор пропилбензола с концентрацией 10 мг/дм^3. Для этого 1,0 мг пропилбензола помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят до метки этилацетатом и перемешивают.

Проводят хроматографические измерения в соответствии с 9.4.2 в условиях, указанных в 7.1, сравнивают концентрацию стандартного раствора пропилбензола и концентрацию пропилбензола в пробе после проведения пробоподготовки. В случе если относительная погрешность между значениями концентраций не превышает 10 %, делают вывод о правильности измерения.

Проверку правильности выполняют в случае получения сомнительного результата, например, несовпадение данных двух паралелльных определений, получение отклика на уровне шумов и др.

Б.2 Контроль чувствительности измерения

Проверку чувствительности прибора в случае подозрительных результатов измерений или при резком уменьшении регистрируемых сигналов проводят по рабочему раствору гваякола с массовой концентрацией 1 мкг/дм^3 (см. 9.3) в условиях, указанных в 7.1.

Отношение сигнал/шум должно быть не менее 10:1.

При более низких отношениях или при обоснованных сомнениях в достоверности результатов чувствительность прибора настраивают в соответствии с рекомендациями производителя оборудования или изложенными в инструкции по эксплуатации.

Библиография

[1] Справочная библиотека масс-спектров NIST MS 05 Национального Института Стандартов и Технологий (NIST), США (The National Institute of Standards and Technology)

УДК 664.863.001.4:006.354 МКС 67.050
67.080

Ключевые слова: продукция соковая, гваякол, хромато-масс-спектрометр, идентификация, массовая концентрация

Редактор *Л.Л. Штендель*

Корректор *М.И. Першина*

Компьютерная вёрстка *Е.К. Кузиной*

Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,40. Тираж 41 экз. Зак. 3686.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru