

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ФРУКТОВЫЕ

**Метод определения содержания винной кислоты
с помощью высокоэффективной
жидкостной хроматографии**

Издание официальное

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности (ВНИИКОП)

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки плодов и овощей»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 583-ст

3 Стандарт гармонизирован с европейским стандартом ЕН 12137:1997 «Соки фруктовые и овощные. Определение винной кислоты в виноградном соке. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

СОКИ ФРУКТОВЫЕ

**Метод определения содержания винной кислоты
с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии**

Fruit juices. Method for determination of tartaric acid content using high performance liquid chromatography

Дата введения 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на виноградный сок и подобные ему продукты, содержащие виноградный сок, и устанавливает метод определения содержания (массовой концентрации или массовой доли) винной кислоты с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Диапазон определения массовой концентрации (массовой доли) винной кислоты — от 1,0 до 10,0 г/дм³ (г/кг).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 4204—77 Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 5817—77 Кислота винная. Технические условия

ГОСТ 24104—88* Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

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

ГОСТ Р 51431—99 Соки фруктовые и овощные. Метод определения относительной плотности

ИСО 3696—87** Вода для лабораторного анализа. Технические условия и методы испытаний

3 Сущность метода

Метод основан на определении массовой концентрации или массовой доли винной кислоты в виноградном соке с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с применением ионоэкслюзивной колонки и спектрофотометрического детектора в ультрафиолетовой области спектра.

4 Средства измерений, лабораторное оборудование, реактивы и материалы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г, 2-го класса точности.

* С 1 июля 2002 г. вводится в действие ГОСТ 24104—2001.

** Действует до введения в действие ГОСТ Р, разработанного на основе стандарта ИСО.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 500 г, 4-го класса точности.

Жидкостный хроматограф, состоящий из:

- насоса высокого давления с верхним пределом давления не менее 25 МПа и диапазоном регулирования подачи растворителя от 0,1 до 5 см³/мин;
- петлевого устройства ввода пробы с рабочим объемом петли от 0,010 до 0,020 см³;
- спектрофотометрического детектора с переменной длиной волны, позволяющего проводить измерение оптической плотности при длине волны 210 нм, снабженного проточной кварцевой кюветой вместимостью не более 0,01 см³, с относительной погрешностью измерения оптической плотности не более 2 %;
- регистрирующего устройства (самописца или интегратора), позволяющего проводить измерения при чувствительности 0,2 мВ/см с погрешностью записи в рабочих условиях не более 0,5 %;
- термостата колонок, пригодного для поддержания рабочей температуры 40 °С;
- колонки длиной 300 мм, внутренним диаметром 7,8 мм, заполненной ионоэкслюзивным сорбентом на основе сополимера стирола с дивинилбензолом с привитыми сульфогруппами в водородной форме размером частиц 10 мкм;
- предколонки, заполненной катионитом в водородной форме.

Микрошприц вместимостью, обеспечивающей полное заполнение петли инжектора.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 вместимостью 50, 100 и 500 см³.

Пипетки по ГОСТ 29227 типа 2, исполнения 1, 1-го класса точности вместимостью 10 и 25 см³.

Фильтры мембранные размером пор не более 0,5 мкм.

Кислота серная по ГОСТ 4204, х.ч.

Кислота винная по ГОСТ 5817, ч.д.а.

Вода для лабораторного анализа по ИСО 3696, категории 1.

Допускается использование других средств измерений, лабораторного оборудования и реактивов, по метрологическим и техническим характеристикам не уступающих указанным выше.

5 Отбор и подготовка проб

5.1 Отбор проб — по ГОСТ 26313.

5.2 Подготовка проб к испытаниям — по ГОСТ 26671.

Концентрированные продукты разводят водой до заданного значения относительной плотности в соответствии с нормативным или техническим документом на конкретный вид продукта. Относительную плотность разбавленной пробы определяют по ГОСТ Р 51431 и найденное значение указывают в протоколе испытаний.

6 Подготовка к проведению испытаний

Для приготовления растворов, используемых при проведении испытания, и подвижной фазы для ВЭЖХ используют только воду категории 1 по ИСО 3696.

6.1 Приготовление градуировочных растворов

Готовят серию градуировочных растворов винной кислоты в диапазоне массовых концентраций от 100 до 500 мг/дм³. Для этого навеску винной кислоты массой 50 мг переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в небольшом количестве воды, объем содержимого в колбе доводят водой до метки. Получают градуировочный раствор винной кислоты массовой концентрации 500 мг/дм³. Остальные градуировочные растворы готовят точным разведением первого раствора в соответствующее количество раз.

7 Проведение испытаний

7.1 Приготовление раствора пробы для хроматографического анализа

Проводят два параллельных определения.

Пробу объемом 25 — 50 см³ (25 — 50 г) помещают в мерную колбу вместимостью 500 см³, добавляют около 300 см³ горячей воды температурой 80 — 85 °С, тщательно перемешивают и оставляют для охлаждения до комнатной температуры, после чего объем содержимого в колбе доводят до отметки водой, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр. Фильтрат используют для хроматографического анализа.

7.2 Хроматографический анализ

Хроматографический анализ градуировочных растворов и растворов пробы, приготовленных по 7.1, проводят при следующих условиях:

- состав подвижной фазы— раствор серной кислоты $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,005$ моль/дм³;
- скорость потока подвижной фазы— 0,6 см³/мин (для предотвращения чрезмерного давления скорость потока при кондиционировании колонки повышают постепенно, начиная с 0,2 см³/мин);
- длина волны детектора— 210 нм;
- температура колонки— 40 °С;
- объем анализируемого раствора— полное заполнение петли инжектора;
- длительность анализа— 20 мин;
- ориентировочное время удерживания винной кислоты— 10 мин.

Анализ градуировочных растворов проводят непосредственно перед анализом каждой серии растворов проб.

Регистрируют высоту пика винной кислоты.

8 Обработка и оформление результатов испытаний

По результатам анализа градуировочных растворов строят градуировочный график зависимости высоты пика винной кислоты от ее массовой концентрации.

По градуировочному графику определяют массовую концентрацию винной кислоты в растворе пробы, соответствующую высоте пика винной кислоты на хроматограмме раствора пробы.

Массовую концентрацию винной кислоты в пробе x_1 , г/дм³, вычисляют по формуле

$$x_1 = \frac{c V_1}{V_2} \cdot 10^{-3}, \quad (1)$$

где c — массовая концентрация винной кислоты в растворе пробы, определенная по градуировочному графику, мг/дм³;

V_1 — объем приготовленного по 7.1 раствора пробы, см³;

V_2 — объем пробы, взятый для приготовления раствора пробы по 7.1, см³.

Массовую долю винной кислоты x_2 , г/кг, вычисляют по формуле

$$x_2 = \frac{c V_1}{m} \cdot 10^{-3}, \quad (2)$$

где m — масса навески пробы, взятой для приготовления раствора пробы по 7.1, г.

Вычисления проводят до второго десятичного знака.

Относительное расхождение между результатами двух параллельных определений, выполненных одним оператором при анализе одной и той же пробы с использованием одних и тех же средств измерений и реактивов в течение возможно минимального интервала времени, не должно превышать норматива оперативного контроля сходимости 6 % ($P = 0,95$). При соблюдении этого условия за окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений, округленное до первого десятичного знака.

Относительное расхождение между результатами двух определений, выполненных в двух лабораториях, не должно превышать норматива оперативного контроля воспроизводимости 15 % ($P = 0,95$).

Пределы относительной погрешности определения массовой концентрации или массовой доли винной кислоты при соблюдении условий, регламентированных настоящим стандартом, не превышают $\pm 10,5$ % ($P = 0,95$).

В протоколе испытаний указывают:

- информацию, необходимую для идентификации исследуемого продукта (вид продукта, происхождение, шифр);
- ссылку на настоящий стандарт;
- дату и способ отбора проб (по возможности);
- дату получения пробы для испытаний;
- дату проведения испытаний;
- результат испытаний с указанием погрешности и единицы измерений;
- соблюдение норматива контроля сходимости результатов;
- особенности проведения испытаний (разведение концентрированной пробы, относительную плотность разведенной пробы и пр.);
- отклонения условий проведения испытаний от описанных в стандарте, которые могли повлиять на результат испытаний.

Ключевые слова: виноградный сок, винная кислота, определение содержания, высокоэффективная жидкостная хроматография
