

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**СОК ЯБЛОЧНЫЙ,
СОК ЯБЛОЧНЫЙ КОНЦЕНТРИРОВАННЫЙ
И НАПИТКИ, СОДЕРЖАЩИЕ
ЯБЛОЧНЫЙ СОК**

**Метод определения содержания патулина с помощью
тонкослойной 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. № 595-ст

3 Стандарт содержит аутентичный текст международного стандарта ИСО 8128—2:1993 «Сок яблочный, сок яблочный концентрированный и напитки, содержащие яблочный сок. Определение содержания патулина. Часть 2. Метод тонкослойной хроматографии», кроме приложения «Библиография»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© ИПК Издательство стандартов, 2000
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2008
Переиздание (по состоянию на июль 2008 г.)

**СОК ЯБЛОЧНЫЙ, СОК ЯБЛОЧНЫЙ КОНЦЕНТРИРОВАННЫЙ И НАПИТКИ,
СОДЕРЖАЩИЕ ЯБЛОЧНЫЙ СОК**

Метод определения содержания патулина с помощью тонкослойной хроматографии

Apple juice, apple juice concentrates and drinks containing apple juice.
Method for determination of patulin content using thin-layer chromatography

Дата введения 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания патулина в яблочных соках, концентрированных яблочных соках и напитках, содержащих яблочный сок, с помощью тонкослойной хроматографии.

Предел обнаружения патулина настоящим методом составляет 25 мкг/дм³ при условии, что взятый для анализа объем пробы готового к употреблению сока составляет 50 см³.

2 Сущность метода

Патулин экстрагируют из исследуемой пробы смесью этилацетата с хлороформом (3:2 по объему). Экстракт очищают на колонке с силикагелем. Количественный и качественный анализ экстракта проводят с помощью двумерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) при проявлении пятен раствором гидрохлорида гидразона 3-метил-2-бензотиазолина (МБТГ).

3 Реактивы

Используют реактивы аналитической чистоты и воду квалификации «для хроматографии».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — При работе с бензолом и хлороформом следует соблюдать особую осторожность, поскольку эти растворители токсичны и взрывоопасны.

3.1 Растворители: этилацетат, хлороформ и толуол.

3.2 Подвижные фазы для двумерной ТСХ:

бензол/метанол/уксусная кислота (массовой долей 80 %) (19:2:1 по объему);

толуол/этилацетат/муравьиная кислота (массовой долей 90 %) (5:4:1 по объему).

3.3 Силикагель для колоночной хроматографии с размером частиц от 0,063 до 0,2 мм.

3.4 Элюирующий раствор: смесь толуола с этилацетатом (75:25 по объему).

3.5 Стандартный раствор патулина (C₇H₆O₄)

3.5.1 Приготовление стандартного раствора патулина

Навеску патулина массой 10,0 мг, взятую с точностью до 0,1 мг, растворяют в мерной колбе с одной отметкой вместимостью 100 см³ в этилацетате (3.1). Объем содержимого в колбе доводят до отметки этилацетатом.

Пипеткой переносят 10,0 см³ приготовленного раствора в другую мерную колбу с одной отметкой вместимостью 100 см³, объем содержимого в колбе доводят до отметки этилацетатом. Массовая концентрация патулина в приготовленном стандартном растворе составляет около 10 мкг/см³.

Измеряют оптическую плотность стандартного раствора при длине волны 276 нм на подходящем спектрофотометре с использованием кварцевых кювет рабочей длиной 10 мм.

3.5.2 Расчет концентрации стандартного раствора патулина

Концентрацию стандартного раствора патулина (3.5.1) ρ_{ps} , мгк/см³, рассчитывают по формуле

$$\rho_{ps} = \frac{A M 1000 C}{A_{276}}, \quad (1)$$

где A — оптическая плотность стандартного раствора патулина;

A_{276} — молярный показатель поглощения раствора патулина при длине волны 276 нм, дм³ · моль⁻¹ · см⁻¹ ($A_{276} = 14600$);

M — молярная масса патулина, г/моль;

C — постоянная прибора (обычно $C = 1$).

3.6 Приготовление раствора гидрохлорида МБТГ

Навеску моногидрата гидрохлорида гидразона 3-метил-2-бензотиазолина (МБТГ) массой 0,5 г растворяют в 100 см³ воды.

Приготовленный раствор хранят в холодильнике. Срок годности раствора — 3 сут.

4 Приборы и лабораторное оборудование

Перед использованием лабораторное оборудование промывают раствором гипохлорита натрия концентрации 10 г/см³.

Обычное лабораторное оборудование, в частности, следующее:

4.1 Хроматографическая колонка длиной 300 мм, внутренним диаметром 22 мм, с резервуаром вместимостью 250 см³ и запорным краном, снабженная с выходного конца пористым стеклянным диском.

4.2 Оборудование для ТСХ: стеклянные хроматографические камеры, длинноволновая ультрафиолетовая лампа (360 нм) и устройство для опрыскивания.

4.3 Флюороденситометр.

4.4 Пластинки для ТСХ размером 20×20 см, покрытые силикагелем (3.3) толщиной слоя 0,25 мм, без флюоресцентного индикатора.

4.5 Сушильный шкаф с принудительной вентиляцией, пригодный для работы при (130 ± 1) °С.

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 испытании концентрированных яблочных соков их разводят водой 1:5 по объему. Дальнейшую процедуру проводят для всех продуктов одинаково, как описано ниже.

Пробу объемом 50 см³ экстрагируют порцией смеси этилацетата с хлороформом (3:2 по объему) объемом 50 см³ в течение не менее 1 мин. Экстракцию повторяют еще два раза той же смесью новыми порциями объемом по 50 см³. Экстракты объединяют и фильтруют на воронке с пористым стеклянным фильтром через слой безводного сульфата натрия толщиной 1 см, фильтрат собирают в отгонную колбу вместимостью 250 см³.

Экстракт упаривают на ротационном испарителе под вакуумом досуха, остаток количественно переносят в мерный цилиндр вместимостью 100 см³, ополаскивая колбу четырьмя порциями этилацетата объемом по 5 см³. Объем содержимого в цилиндре доводят сначала до 25 см³ этилацетатом, затем до 100 см³ толуолом.

6.2 Колоночная хроматография

В основание колонки (4.1) помещают ватный тампон. В колонку вносят 25 см³ толуола и