

**ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ
И СЕРТИФИКАЦИИ (ЕАСС)**

**EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY
AND CERTIFICATION (EASC)**



**МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ**

**ГОСТ
31100.2—
2002
(ISO 8128-2:1993)**

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

**Метод определения содержания патулина
с помощью тонкослойной хроматографии**

**НИФСИТР ЦСМ при МЭ КР
РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**

(ISO 8128-2:1993, MOD)

Издание официальное

Зарегистрировано
№ 5360
" 5 " июня 2006 г.



Минск

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации

Предисловие

Евразийский Совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0-92 "Межгосударственная система стандартизации. Основные положения" и ГОСТ 1.2-97 "Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила, рекомендации по межгосударственной стандартизации. Порядок разработки, принятия, обновления и отмены".

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации

3 ПРИНЯТ Евразийским Советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 22-2002 от 6 ноября 2002 г.)

За принятие проголосовали:

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	Минторгэкономразвития
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Ростехрегулирование
Украина	UA	Госпотребстандарт Украины

4 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту ИСО 8128-2:1993 «Сок яблочный, сок яблочный концентрированный и напитки, содержащие яблочный сок. Определение содержания патулина. Часть 2. Метод тонкослойной хроматографии» (ISO 8128-2:1993 «Apple juice, apple juice concentrates and drinks containing apple juice. Method for determination of patulin content using thin-layer chromatography»), кроме приложения «Библиография»

Настоящий стандарт идентичен ГОСТ Р 51440-99 (ИСО 8128-2-93) «Сок яблочный, сок яблочный концентрированный и напитки, содержащие яблочный сок. Метод определения содержания патулина с помощью тонкослойной хроматографии», который продолжает действовать в Российской Федерации в качестве национального стандарта.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах.

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе (каталоге) "Межгосударственные стандарты", а текст изменений – в информационных указателях "Межгосударственные стандарты". В случае пересмотра или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе "Межгосударственные стандарты".

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**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

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 гидрохlorида 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) pps, мгк/см³, рассчитывают по формуле

$$\rho_{\text{ps}} = \frac{A M 1000 C}{A_{276}},$$

где A — оптическая плотность стандартного раствора патулина;

A_{276} — молярный показатель поглощения раствора патулина при длине волны 276 нм, $\text{дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ($A_{276} = 14600$);

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 Пластиинки 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) °C.

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. Экстракти 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 суспензию 15 г силикагеля (3.3) в 40 см³ толуола. После оседания силикагеля в колонку вносят 15 г