ГОСТ 28038—89

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКОТОКСИНА ПАТУЛИНА

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

Оригинал-макет

УДК 664.83/.84/.85:006.354 Группа Н59

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

Методы определения микотоксина патулина

ГОСТ 28038—89

Fruit and vegetable products.
Methods for determination of mycotoxin patulin

МКС 67.080.01
ОКСТУ 9109

Дата введения 01.01.90

Настоящий стандарт распространяется на продукты переработки плодов и овощей и устанавливает методы определения микотоксина патулина.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

1. СУЩНОСТЬ МЕТОДА

Метод основан на экстракции патулина из продукта органическим растворителем, очистке экстракта от мешающих веществ и определении патулина с помощью метода тонкослойной хроматографии. Нижний предел определения патулина — $10 \cdot 10^{-7}$ %.

2. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

Отбор проб — по ГОСТ 26313, подготовка их к испытаниям — по ГОСТ 26671.

3. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ, РЕАКТИВЫ

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

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

Спектрофотометр с диапазоном измерения, позволяющим проводить исследования при длине волны 275 нм, с допустимой абсолютной погрешностью измерений коэффициента пропускания не более 1 %; кюветы кварцевые с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм.

Испаритель ротационный (ИР-1М2 или др.).

Насос водоструйный лабораторный по ГОСТ 25336.

Микрошприц МШ-10 вместимостью 10 мм^3 или любой другой с аналогичными техническими характеристиками.

Камера для тонкослойной хроматографии с притертой крышкой.

Облучатель ультрафиолетовый для обнаружения витаминов в растворе (модель 833) или люминоскоп ЛПК-1.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с пределами измерения 0—100 °С и ценой деления шкалы не более 1 °С.

Стаканы по ГОСТ 25336 вместимостью 50 и 150 см^3.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 с взаимозаменяемым конусом вместимостью 100, 250, 1000 или 2000 см^3.

Цилиндры по ГОСТ 1770 с пришлифованной пробкой вместимостью 50 и 100 см^3.

Воронка делительная по ГОСТ 25336 с пришлифованной пробкой вместимостью 250 см^3.

* С 1 июля 2002 г. действует ГОСТ 24104—2001. С 1 января 2010 г. на территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008 (здесь и далее).

Издание официальное ★ Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1989
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

Колба плоскодонная по ГОСТ 25336 вместимостью 250 $см^3$.

Воронка лабораторная по ГОСТ 25336 диаметром 56 мм высотой 80 мм.

Колба грушевидная по ГОСТ 25336 с взаимозаменяемым конусом $^{14}/_{23}$ вместимостью 100 $см^3$.

Колба остродонная по ГОСТ 25336 с взаимозаменяемым конусом $^{14}/_{23}$ вместимостью 25 $см^3$.

Пипетка с делениями по ГОСТ 29227 исполнения 6 или 7 вместимостью 10 $см^3$.

Пипетка с делениями по ГОСТ 29227 исполнения 4 или 5 1-го класса точности вместимостью 1 $см^3$.

Эксикатор по ГОСТ 25336 с краном, с диаметром корпуса 250 мм.

Вставка для эксикатора по ГОСТ 9147 диаметром 230 мм исполнения 2.

Воронка капельная по ГОСТ 25336 вместимостью 50 $см^3$.

Распылитель стеклянный с грушей.

Бумажные фильтры обеззоленные марки ФОМ.

Вата по ГОСТ 5556.

Силикагель Л, 100—160 или 100—250 мкм, фирма Лахема, ЧССР.

Пластинки для тонкослойной хроматографии «Силуфол» 15×15 см, фирма Кавалиер, ЧССР.

Патулин по НТД.

Хлороформ технический по ГОСТ 20015 высшего сорта свежеперегнанный.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Кислотая соляная по ГОСТ 3118, х. ч.

Калий железистосинеродистый 3-водный по ГОСТ 4207, х. ч., раствор концентрации 150 $г/дм^3$ (раствор Карреза I).

Цинк уксуснокислый 2-водный по ГОСТ 5823, ч. д. а., раствор концентрации 300 $г/дм^3$ (раствор Карреза II).

Эфир этиловый уксусной кислоты по ГОСТ 22300, ч. д. а. (этилацетат).

Ацетон по ГОСТ 2603, х. ч.

Толуол по ГОСТ 5789, ч. д. а.

Кислота муравьиная по ГОСТ 5848, ч. д. а.

Бензидин, ч. д. а., раствор в муравьиной кислоте концентрацией 5 $г/дм^3$.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.

Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, прокаленный, х. ч.

Калий марганцовокислый по ГОСТ 20490, х. ч., раствор концентрацией 15 $г/дм^3$.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Колонка стеклянная хроматографическая длиной 230 мм и внутренним диаметром 25 мм.

Калий двухромовокислый по НТД или ГОСТ 4220, ч.

Кислота серная концентрированная по ГОСТ 4204, ρ_{20} = 1836 $кг/м^3$.

Бензол по ГОСТ 5956, ч. д. а., перегнанный.

Ацетонитрил по НТД, ч., перегнанный.

(Измененная редакция, Изм. № 1, 2).

4. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

4.1. Требования безопасности при проведении испытания

Помещение, в котором проводится определение патулина, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией.

Работу с хлором следует проводить в вытяжном шкафу лаборатории с использованием индивидуальных средств защиты (резиновые перчатки, защитные очки, фильтрующие респираторы РПГ-67-В или РУ-60 МВ), а также с соблюдением правил личной гигиены.

4.1а. Калибровка спектрофотометра

Готовят растворы двухромовокислого калия c ($K_2Cr_2O_7$) = $0{,}25 \cdot 10^{-3}$ $моль/дм^3$, c ($K_2Cr_2O_7$) = $= 0{,}125 \cdot 10^{-3}$ $моль/дм^3$, c ($K_2Cr_2O_7$) = $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ $моль/дм^3$ в растворе серной кислоты c ($\frac{1}{2}$ H_2SO_4) = $= 0{,}018$ $моль/дм^3$.

Раствор серной кислоты готовят следующим образом. В мерную колбу вместимостью 2000 $см^3$ пипеткой вносят 1 $см^3$ серной кислоты и доводят объем водой до метки. (Допускается использовать мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, соответственно уменьшив вдвое объем серной кислоты). Калибровочный раствор c ($K_2Cr_2O_7$) = $0{,}25 \cdot 10^{-3}$ $моль/дм^3$ готовят следующим образом: 78 мг двухромовокислого калия вносят в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, растворяют в 100—200 $см^3$

раствора серной кислоты и доводят до метки раствором серной кислоты той же концентрации. Содержимое колбы тщательно перемешивают. Остальные калибровочные растворы готовят точным разведением первого раствора в 2 и в 4 раза раствором серной кислоты.

Определяют оптическую плотность каждого раствора в кювете с рабочей длиной 1 см на спектрофотометре при длине волны 350 нм. В качестве контрольного раствора используют раствор серной кислоты. По полученным значениям оптической плотности для каждого раствора вычисляют значение молярного показателя поглощения (E), дм^3 · моль$^{-1}$ · см$^{-1}$, по формуле

$$E = \frac{D}{c\,l},$$

где D — оптическая плотность калибровочного раствора;

c — молярная концентрация двухромовокислого калия в растворе, моль/дм^3;

l — рабочая длина кюветы, см.

По полученным значениям рассчитывают среднее значение молярного показателя поглощения (E) и вычисляют поправочный коэффициент (K) для спектрофотометра по формуле

$$K = \frac{E_c}{E},$$

где E_c — стандартизованное значение молярного показателя поглощения,

$$E_c = 3160 \text{ дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}.$$

(Введен дополнительно, Изм. № 2).

4.2. Приготовление первого стандартного раствора

В сосуд с патулином, содержащий около 5 мг препарата, вносят пипеткой 10 см^3 смеси бензола с ацетонитрилом (9 : 1). Содержимое сосуда аккуратно взбалтывают до полного растворения кристаллов патулина и переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Сосуд ополаскивают еще двумя порциями по 10 см^3 смеси бензола с ацетонитрилом (9 : 1), каждый раз перенося содержимое в ту же мерную колбу. Объем в колбе доводят до метки смесью бензола с ацетонитрилом (9 : 1), содержимое тщательно перемешивают. 20 см^3 полученного раствора переносят в другую мерную колбу такой же вместимости. Объем в колбе доводят до метки смесью бензола ацетонитрилом (9 : 1), содержимое тщательно перемешивают. Полученный первый стандартный раствор хранят в холодильнике в закрытом сосуде. Срок годности раствора патулина — 6 мес.

Точную концентрацию патулина в первом стандартном растворе определяют спектрофотометрическим методом. Для этого пипеткой 6,0 см^3 первого стандартного раствора переносят в отгонную колбу. Раствор упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 35—40 °С. Сухой остаток растворяют в 9,0 см^3 этилового спирта и определяют оптическую плотность слоя раствора в кювете с рабочей длиной 1 см по отношению к контрольному раствору на спектрофотометре при длине волны 275 нм. В качестве контрольного раствора используют этиловый спирт.

Массовую концентрацию патулина в стандартном растворе (C), мкг/см^3, вычисляют по формуле

$$C = \frac{MDK_1K_2}{\varepsilon l} \cdot 10^3,$$

где M — молярная масса патулина, M = 154 г/моль;

D — оптическая плотность раствора;

K_1 — коэффициент разведения, K_1 = 1,5;

K_2 — поправочный коэффициент к спектрофотометру, определенный по п. 4.1а;

ε — молярный показатель поглощения раствора патулина при длине волны 275 нм,

$$\varepsilon = 1{,}46 \cdot 10^4 \text{ дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1};$$

l — рабочая длина кюветы, см.

4.3. Приготовление второго стандартного раствора

Второй стандартный раствор патулина готовят точным разведением первого стандартного раствора смесью бензола с ацетонитрилом (9 : 1) в два раза.

4.2, 4.3. **(Измененная редакция, Изм. № 2).**

5. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

5.1. Приготовление водной вытяжки из образца

Навеску соков, пюре, напитков массой 50,0 г или повидла, джема, варенья, фруктового порошка массой 25,0 г помещают в стеклянный стакан, смешивают с небольшим количеством дистиллированной воды и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$. В мерную колбу вносят 15 $см^3$ раствора Карреза I и 15 $см^3$ раствора Карреза II. Содержимое колбы доводят дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают и фильтруют в мерный цилиндр через бумажный складчатый фильтр. Собирают 50 $см^3$ фильтрата.

5.2. Экстракция

Фильтрат из цилиндра переносят в делительную воронку. Этим же цилиндром отмеряют 50 $см^3$ этилацетата, переносят его в делительную воронку и в течение 1 мин интенсивно перемешивают содержимое. Смеси дают отстояться и после полного разделения водный нижний слой сливают обратно в цилиндр, а этилацетатный экстракт переносят в сухую плоскодонную колбу. Экстрагирование остатков патулина из водной фазы проводят еще раз в аналогичных условиях свежей порцией этилацетата. При этом после одноминутного перемешивания в делительную воронку вносят 10 г хлористого натрия и продолжают перемешивать еще в течение 0,5 мин. После разделения слоев водную фазу отбрасывают, а объединенные этилацетатные экстракты высушивают в плоскодонной колбе при добавлении 15—20 г сернокислого натрия. После высушивания экстракт фильтруют через ватный тампон в отгонную грушевидную колбу. Оставшийся сернокислый натрий ополаскивают 10 $см^3$ этилацетата, которые затем также фильтруют в отгонную колбу. Экстракт упаривают на ротационном испарителе при температуре 35—40 °С до объема около 1 $см^3$.

5.3. Очистка экстракта

На дно стеклянной колонки помещают ватный тампон, поверх которого насыпают слой сернокислого натрия толщиной 5 мм. В колонку вносят суспензию 2 г силикагеля в 15 $см^3$ бензола. Не давая просохнуть слою силикагеля, поверх него насыпают слой сернокислого натрия толщиной 10 мм. Бензолу дают стечь, после чего на верхний слой сернокислого натрия наносят экстракт. Экстракту дают полностью впитаться в фильтрующий слой. Отгонную колбу ополаскивают 0,5 $см^3$ этилацетата, смыв переносят на колонку и дают ему полностью впитаться в фильтрующий слой.

В колонку вносят 25 $см^3$ бензола, дают ему полностью пройти через фильтрующий слой, выходящий элюат отбрасывают. В колонку вносят 100 $см^3$ смеси бензола с этилацетатом (3 : 1). С этого момента начинают отбирать выходящий элюат. После прекращения выхода растворителя из колонки элюат переносят в остродонную колбу и упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 35—40 °С. Остаток в отгонной колбе растворяют в 0,2 $см^3$ смеси бензола с ацетонитрилом (9 : 1) для анализа методом тонкослойной хроматографии или в 0,2 $см^3$ этилового спирта для анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

5.4. Хроматографическое разделение

Пластинку «Силуфол» на расстоянии 2 см от краев размечают тонкими карандашными линиями. В точку пересечения линий в правом нижнем углу наносят с помощью микрошприца 0,02 $см^3$ исследуемого раствора. В правом верхнем и левом нижнем углах на стартовых линиях отмечают по три точки, в которые микрошприцем наносят различные объемы первого стандартного раствора патулина. Количество патулина в пятнах должно быть от 10 до 80 нг. Пластинку одной из стартовых линий вниз помещают в камеру для тонкослойной хроматографии, предварительно заполненную смесью хлороформ-ацетон (4 : 1) на высоту около 1 см. Развитие хроматограммы проводят в первом направлении до достижения фронтом растворителя карандашной линии. Пластинку извлекают из камеры и сушат до исчезновения запаха растворителя. Высушенную пластинку помещают второй стартовой линией вниз в камеру для тонкослойной хроматографии, предварительно заполненную смесью толуол-этилацетат-муравьиная кислота (5 : 4 : 1) на высоту около 1 см. Проводят развитие хроматограммы во втором направлении до достижения фронтом растворителя карандашной линии. Пластинку извлекают из камеры и сушат до исчезновения запаха растворителя.

5.2—5.4. **(Измененная редакция, Изм. № 2).**

5.5. Обнаружение патулина

На вставку эксикатора ставят стеклянный стакан вместимостью 150 $см^3$ с 25 $см^3$ раствора марганцовокислого калия, рядом помещают хроматографическую пластинку. Эксикатор плотно закрывают крышкой и к раствору марганцовокислого калия по каплям приливают 25 $см^3$ соляной кислоты из капельной воронки, вставленной в отверстие крышки эксикатора. По истечении 15 мин пластинку извлекают из эксикатора, оставляют еще на 10 мин в вытяжном шкафу, а затем опрыскивают из распылителя раствором бензидина. Хроматографическую пластинку сушат в токе

холодного воздуха под тягой в течение 15—20 мин. Хроматограмму рассматривают в ультрафиолетовом свете. Патулин обнаруживается в виде желтых флуоресцирующих пятен. Обнаружение на пластинке пятна, соответствующего по цвету флуоресценции и хроматографической подвижности пятнам стандартного раствора патулина, свидетельствует о его наличии в анализируемом продукте. Количество патулина в пятне анализируемой пробы определяют, сравнивая размер и интенсивность флуоресценции пятен стандартного патулина и пятен патулина в анализируемой пробе.

6. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Массовую долю патулина (x) в процентах вычисляют по формуле

$$x = \frac{m_1 V_1 V_3}{m V_2 V_4} \cdot 10^{-7},$$

где m_1 — количество патулина, обнаруженное в пятне, нг;

V_1 — общий объем, до которого доведена навеска при прибавлении к ней воды, см^3;

V_3 — общий объем хлороформного экстракта, см^3;

m — масса навески продукта, г;

V_2 — объем фильтрата, отобранный на анализ, см^3;

V_4 — объем хлороформного экстракта, наносимый на пластинку, см^3.

За результат анализа принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать $20 \cdot 10^{-7}$ %.

Если найденное значение массовой доли патулина в анализируемой пробе отличается от установленной нормы более чем на $10 \cdot 10^{-7}$ %, его принимают за окончательный результат. Если равно или менее $10 \cdot 10^{-7}$ %, то следует провести повторное хроматографическое разделение на пластинке. При этом в точки на стартовых линиях необходимо наносить такие объемы второго стандартного раствора патулина, чтобы количество в них патулина максимально приближалось к количеству патулина в пятне анализируемой пробы при ее нанесении в том же количестве, что и в предыдущем случае.

7. МЕТОД ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

7.1. Сущность метода

Метод основан на экстракции патулина из продукта органическим растворителем, очистке экстракта от мешающих веществ и определением патулина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Нижний предел определения патулина — $5 \cdot 10^{-7}$ %.

Метод применяется в спорных случаях.

7.2. Отбор и подготовка проб

Отбор и подготовка проб — по разд. 2.

7.3. Аппаратура, материалы, реактивы

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

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

Спектрофотометр с диапазоном измерения, позволяющим проводить исследования при длине волны 275 нм, с пределами допускаемой основной абсолютной погрешности при измерении коэффициента пропускания 1 %; кюветы кварцевые рабочей длиной 10 мм.

Жидкостный хроматограф с насосом высокого давления с подачей растворителя от 0,1 до 5 см^3/мин, спектрофотометрическим детектором, позволяющим проводить исследования при длине волны 275 нм, регистрирующим потенциометром (самописцем) или интегратором, колонкой длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненной силикагелем, химически связанным с алкилнитрилом, с размером частиц 5 мкм, предколонкой длиной 45 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненной тем же сорбентом.

Испаритель ротационный (ИР-2М или аналогичный).

Насос водоструйный лабораторный по ГОСТ 25336.

Микрошприц МШ-10 вместимостью 10 мм^3.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с пределом допускаемой погрешности ±2 °С в диапазоне измерений 0—100 °С.

Стаканы по ГОСТ 25336 вместимостью 50 и 150 $см^3$.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 с взаимозаменяемым конусом вместимостью 100 и 250 $см^3$.

Цилиндры по ГОСТ 1770 с взаимозаменяемым конусом вместимостью 50 и 100 $см^3$.

Воронка делительная по ГОСТ 25336 с взаимозаменяемым конусом вместимостью 250 $см^3$.

Колба плоскодонная по ГОСТ 25336 вместимостью 250 $см^3$.

Воронка лабораторная по ГОСТ 25336 типа В диаметром 56 мм высотой 80 мм.

Колонка стеклянная хроматографическая длиной 230 мм и внутренним диаметром 15 мм.

Колба грушевидная по ГОСТ 25336 с взаимозаменяемым конусом $^{14}/_{23}$ вместимостью 100 $см^3$.

Колба остродонная по ГОСТ 25336 с взаимозаменяемым конусом $^{14}/_{23}$ вместимостью 25 $см^3$.

Пипетка по ГОСТ 29227 исполнения 6 или 7 вместимостью 10 $см^3$.

Пипетка по ГОСТ 29227 исполнения 4 или 5 вместимостью 1 $см^3$.

Фильтры бумажные обеззоленные марки ФОМ по ГОСТ 12026.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Силикагель Л, 100—160 или 100—250 мкм, фирма Лахема.

Патулин по НТД.

Бензол по ГОСТ 5956, ч. д. а., перегнанный.

Ацетонитрил по НТД, ч., перегнанный.

Эфир этиловый уксусной кислоты по ГОСТ 22300, ч. д. а. (этилацетат), перегнанный.

Спирт изопропиловый (2-пропанол) по НТД, ч., перегнанный.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Гексан по НТД, ч., перегнанный.

Калий железистосинеродистый 3-водный по ГОСТ 4207, х. ч., раствор концентрацией 150 $г/дм^3$ (раствор Карреза I).

Цинк уксуснокислый 2-водный по ГОСТ 5823, ч. д. а., раствор концентрацией 300 $г/дм^3$ (раствор Карреза II).

Натрий хлористый по ГОСТ 4233, х. ч.

Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, х. ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

7.4. Подготовка к испытанию

7.4.1. *Приготовление стандартного раствора патулина*

1 $см^3$ первого стандартного раствора патулина, приготовленного по п. 4.2, переносят в отгонную колбу. Раствор упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 35—40 °С. Остаток в отгонной колбе растворяют в 5 $см^3$ этилового спирта. Полученный стандартный раствор хранят в закрытом сосуде аналогично п. 4.2.

7.4.2. *Подготовка хроматографа к работе*

Готовят смесь гексана с изопропиловым спиртом (4 : 1), которую используют в качестве подвижной фазы. Устанавливают длину волны спектрофотометрического детектора на 276 нм, чувствительность детектора на 0,005 единиц оптической плотности, чувствительность самописца на 10 мВ. Подвижной фазой кондиционируют колонки хроматографа при скорости подачи растворителя 1,0 $см^3$/мин. Хроматограф считается готовым к работе, если максимальный дрейф базовой линии не превышает 0,3 мВ/ч.

7.4.3. *Определение времени удерживания и градуировочного коэффициента патулина*

В инжектор хроматографа микрошприцем вводят 0,010 $см^3$ стандартного раствора патулина по п. 7.4.1 и устанавливают время удерживания и высоту пика патулина на хроматограмме. Градуировочный коэффициент (K), мкг/мм, рассчитывают по формуле

$$K = \frac{cV}{h},$$

где c — массовая концентрация патулина в стандартном растворе по п. 7.4.1, $мкг/см^3$;

V — объем стандартного раствора патулина по п. 7.4.1, введенный в инжектор, $см^3$;

h — высота пика патулина, мм.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемое относительное расхождение между которыми не должно превышать 2 %.

Градуировку следует проводить через каждые 6 ч работы прибора.

7.5. Проведение испытания

7.5.1. Приготовление водной вытяжки из образца — по п. 5.1.

7.5.2. Экстракция — по п. 5.2.

7.5.3. Очистку экстракта проводят по п. 5.3.

7.5.4. *Хроматографический анализ*

В инжектор хроматографа вводят 0,01 см^3 очищенного экстракта. При наличии пика, совпадающего по времени удерживания с пиком патулина в стандартном растворе, определяют его высоту. Если пик патулина в исследуемом растворе выходит за пределы шкалы самописца, хроматографическое разделение проводят повторно, вводя в инжектор меньший объем очищенного экстракта.

7.5.5. *Обработка результатов*

Массовую долю патулина (X), %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{hKV_1V_3}{mV_2V_4} \cdot 10^{-4},$$

где h — высота пика патулина, мм;

K — градуировочный коэффициент, мкг/мм;

V_1 — общий объем, до которого доведена навеска при прибавлении к ней воды, см^3;

V_3 — объем, в котором сконцентрирован экстракт после очистки, см^3;

m — масса навески продукта, г;

V_2 — объем фильтрата, взятый на анализ, см^3;

V_4 — объем экстракта, введенный в хроматограф, см^3.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, допускаемое относительное расхождение между которыми не должно превышать 5 %.

Разд. 7. **(Введен дополнительно, Изм. № 2).**

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Государственным агропромышленным комитетом СССР, Министерством здравоохранения СССР

РАЗРАБОТЧИКИ

В. И. Рогачев, д-р техн. наук; **С. Ю. Гельфанд,** канд. техн. наук; **Т. Н. Медведева,** канд. техн. наук; **Э. В. Дьяконова,** канд. техн. наук; **А. И. Погосян,** канд. техн. наук; **В. А. Тутельян,** д-р мед. наук; **К. И. Эллер,** канд. хим. наук; **В. В. Пименова,** канд. биол. наук; **А. Э. Мельник; Н. И. Музыченко**

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 27.02.89 № 344

Изменение № 2 принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 11 от 25.04.97)

За принятие Изменения проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Азербайджанская Республика	Азгосстандарт
Республика Армения	Армгосстандарт
Республика Беларусь	Госстандарт Беларуси
Республика Казахстан	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизская Республика	Киргизстандарт
Республика Молдова	Молдовастандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Республика Таджикистан	Таджикгосстандарт
Туркменистан	Главная государственная инспекция Туркменистана

3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

4. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер раздела, пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер раздела, пункта
ГОСТ 1770—74	3; 7.3	ГОСТ 6709—72	3; 7.3
ГОСТ 2603—79	3	ГОСТ 9147—80	3
ГОСТ 3118—77	3	ГОСТ 18300—87	3; 7.3
ГОСТ 4166—76	3; 7.3	ГОСТ 20015—88	3
ГОСТ 4204—77	3	ГОСТ 20490—75	3
ГОСТ 4207—75	3; 7.3	ГОСТ 22300—76	3; 7.3
ГОСТ 4220—75	3	ГОСТ 24104—88	3; 7.3
ГОСТ 4233—77	3; 7.3	ГОСТ 25336—82	3; 7.3
ГОСТ 5556—81	3; 2	ГОСТ 26313—84	2
ГОСТ 5789—78	3	ГОСТ 26671—85	2
ГОСТ 5823—78	3; 7.3	ГОСТ 28498—90	3
ГОСТ 5848—73	3	ГОСТ 29227—91	7.3
ГОСТ 5956—78	3		

5. Ограничение срока действия снято по протоколу № 4—93 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 4—94)

6. ИЗДАНИЕ (апрель 2010 г.) с Изменениями № 1, 2, утвержденными в июне 1990 г., апреле 1997 г. (ИУС 9—90, 11—97)