

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(ISC)

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
34230—  
2017

---

## ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение свободных аминокислот методом  
высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2018

## Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

### Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС) при участии Акционерного общества «Мултон» (АО «Мултон») и Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» (ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 ноября 2017 г. № 52—2017)

За принятие проголосовали:

| Краткое наименование страны<br>по МК (ИСО 3166) 004—97 | Код страны<br>по МК (ИСО 3166) 004—97 | Сокращенное наименование национального органа<br>по стандартизации |
|--------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Беларусь                                               | BY                                    | Госстандарт Республики Беларусь                                    |
| 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 12 декабря 2017 г. № 1903-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34230—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 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 ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))*

© Стандартиформ, 2018

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

II

## Содержание

|    |                                                                                     |    |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | Область применения .....                                                            | 1  |
| 2  | Нормативные ссылки .....                                                            | 1  |
| 3  | Сущность метода .....                                                               | 2  |
| 4  | Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы .....        | 3  |
| 5  | Отбор проб .....                                                                    | 4  |
| 6  | Подготовка к проведению измерений .....                                             | 4  |
| 7  | Проведение измерений .....                                                          | 8  |
| 8  | Обработка и оформление результатов измерений .....                                  | 9  |
| 9  | Контроль качества результатов измерений .....                                       | 11 |
| 10 | Требования безопасности .....                                                       | 11 |
|    | Приложение А (справочное) Мониторинг хроматографических характеристик колонки ..... | 12 |
|    | Приложение Б (справочное) Примеры хроматограмм аминокислот .....                    | 15 |



---

**ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ****Определение свободных аминокислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

Juice products. Determination of free amino acids by high performance liquid chromatography method

Дата введения — 2019—01—01

**1 Область применения**

Настоящий стандарт распространяется на соковую продукцию из фруктов и овощей и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной обращенно-фазовой хроматографии для определения массовой концентрации (массовой доли) свободных аминокислот:

- L-Аспарагиновой кислоты;
- L-Глутамина;
- L-Глутаминовой кислоты;
- L-Серина;
- L-Гистидина;
- L-Треонина;
- L-Аспарагина;
- L-Аланина;
- L-Аргинина;
- L-Тирозина;
- $\gamma$ -Аминomásляной кислоты;
- L-Метионина;
- L-Валина;
- L-Изолейцина;
- L-бета-Фенилаланина;
- L-Лейцина;
- L-Лизина;
- Глицина;
- L-Пролина;
- L(+)-Орнитина.

Диапазон измерений массовой концентрации (массовой доли) свободных аминокислот составляет от 5,0 до 20,0 мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>) без учета разбавления и концентрирования проб.

Примечание — 1 млн<sup>-1</sup> соответствует 1 мг/кг.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

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 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

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

ГОСТ 199—78 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

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 контроля

ГОСТ 4199—76 Реактивы. Натрий тетраборнокислый 10-водный. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-6—2003\*\*\* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

ГОСТ 21400—75 Стекло химико-лабораторное. Технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 22967—90 Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний

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 28311—89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

**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 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 Сущность метода

Метод основан на переводе свободных аминокислот во флуоресцирующие соединения предколонной дериватизацией и количественном анализе полученных производных с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенно-фазовых хроматографических колонках, заполненных сорбентом C18 с размером частиц менее 5 мкм с использованием флуориметрического детектора.

\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

\*\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

\*\*\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

## 4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

4.1 Хроматограф жидкостный с флуориметрическим детектором (диапазон длин волн возбуждения 200—890 нм, эмиссии 210—900 нм), относительным среднеквадратическим отклонением выходного сигнала, не более:

- по площади пика — 1 %;
- по времени удерживания — 0,3 %;
- по площади пика за 8 ч непрерывной работы — 2 %;
- по времени удерживания за 8 ч непрерывной работы — 2 %.

4.2 Колонка хроматографическая C18\* длиной 250 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом C18 с энд-капингом с размером частиц менее 5 мкм.

4.3 Колонка защитная (предколонка), размеры защитной колонки — 10 × 4,6 мм, заполненная тем же обращенно-фазовым сорбентом.

4.4 Весы неавтоматического действия специального класса точности по ГОСТ OIML R 76-1, пределом допускаемой абсолютной погрешности измерения массы  $\pm 0,001$  г.

4.5 Иономер (рН-метр) с пределом абсолютной погрешности измерения  $\pm 0,1$  ед. рН.

4.6 Пипетки градуированные лабораторные стеклянные 1-1-2-1, 1-1-2-2, 1-1-2-5 и 1-1-2-10 по ГОСТ 29227.

4.7 Посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности по ГОСТ 1770:

- цилиндр 1-1000-2;
- колбы мерные 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 2-500-2, 2-1000-2.

4.8 Посуда лабораторная стеклянная по ГОСТ 25336:

- воронки В-56-80 ХС, В-75-80 ХС, В-75-110 ХС, В-100-150 ХС;
- стаканы любого типа исполнения 1 вместимостью 50, 100, 1000 см<sup>3</sup>;
- пробирки вместимостью 10 и 20 см<sup>3</sup>.

4.9 Пробирки полимерные центрифужные конические с завинчивающейся крышкой вместимостью 15 см<sup>3</sup>.

4.10 Палочки стеклянные длиной 220 мм и диаметром 5 мм, выполненные из химически стойкого стекла любого класса по ГОСТ 21400.

4.11 Фильтры мембранные с насадкой на шприц с размером пор 0,20 и 0,45 мкм.

4.12 Фильтры мембранные диаметром 47 мм с размером диаметра пор мембраны 0,20 и 0,45 мкм.

4.13 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

4.14 Установка для фильтрации и дегазации жидкостей.

4.15 Вials вместимостью 2 см<sup>3</sup> для автоматического ввода проб и вставки в вials для микроколичеств проб.

4.16 Микрошприц вместимостью 250 мм<sup>3</sup>.

4.17 Шприц медицинский вместимостью 5 см<sup>3</sup> многократного применения по ГОСТ 22967 или однократного применения по ГОСТ ISO 7886-1.

4.18 Микродозаторы пипеточные одноканальные переменного объема от 20 до 200 мм<sup>3</sup> с соответствующими наконечниками (без воздушного промежутка) по ГОСТ 28311.

4.19 Слянки из темного стекла с завинчивающейся крышкой.

4.20 Центрифуга, обеспечивающая фактор разделения (*g*-фактор) не менее 800.

4.21 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода по ГОСТ ISO 3696 1-й степени чистоты.

4.22 Ацетонитрил, ос. ч., имеющий оптическую плотность не более 0,02 при 200 нм.

4.23 Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 61, х. ч.

4.24 Тетрагидрофуран (далее — ТГФ) для хроматографии, с массовой долей основного вещества не менее 99,9 % и показателем преломления  $n_D$  в пределах от 1,3439 до 1,3440.

4.25 Спирт этиловый по ГОСТ 5962.

4.26 о-Фталевый альдегид с массовой долей основного вещества не менее 97 %.

4.27 3-Меркаптопропионовая кислота с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

4.28 9-Флуоренилметоксикарбонилхлорид с массовой долей основного вещества не менее 97 %.

\* Примером является хроматографическая колонка Zorbax SB C18 компании Agilent. Информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является поддержкой указанного продукта.

4.29 Натрий тетраборнокислый 10-водный по ГОСТ 4199, х. ч.

4.30 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.

4.31 Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199, ч. д. а.

4.32 Аминокислоты:

- L-Аспарагиновая кислота, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Глутамин, массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- L-Глутаминовая кислота, массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- L-Серин, массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- L-Гистидин, массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- L-Треонин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Аспарагин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Аланин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Аргинин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Тирозин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- $\gamma$ -Аминомасляная кислота, массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- L-Метионин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Валин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-изо-Лейцин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-бета-Фенилаланин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Лейцин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- L-Лизин, массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- Глицин, массовая доля основного вещества не менее 98,5 %;
- L-Пролин, массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- L-Орнитин моногидрохлорид, массовая доля основного вещества  $\geq 99,0$  %.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками не ниже вышеуказанных, вспомогательного оборудования, материалов с техническими характеристиками не ниже вышеуказанных и химических реактивов аналогичной или более высокой квалификации.

## 5 Отбор проб

Отбор проб соковой продукции проводят по ГОСТ 26313.

## 6 Подготовка к проведению измерений

### 6.1 Подготовка хроматографа к работе

Включение и подготовку хроматографа к работе, вывод его на режим и выключение по окончании работы выполняют в соответствии с руководством по эксплуатации.

### 6.2 Общие положения

Для дериватизации аминокислот используют смесь реагентов: о-фталевого альдегида (далее — ОРА) в присутствии нуклеофильного реагента (3-меркаптопропионовой кислоты) и 9-флуоренилметоксикарбонилхлорида (далее — FMOC).

Разделение аминокислот происходит при температуре 40 °С в градиентном режиме с использованием следующих подвижных фаз:

- ацетатный буфер с pH 7,2 ед. pH с добавкой тетрагидрофурана;
- смесь: ацетатный буфер/ацетонитрил/этанол.

Для продления срока службы и более эффективной работы колонки используют систему защиты (in-line фильтры на выходе из насоса и предколонку), периодическую промывку (не реже одного-двух раз в неделю) колонки с ацетонитрилом (в зависимости от числа проведенных анализов и концентрации органических веществ, прошедших через колонку) в течение 1—3 ч со скоростью 1,0 см<sup>3</sup>/мин с предварительной промывкой всей системы водой. После проведения анализа и промывки колонки во избежание образования кристаллов соли вся система также промывается водой.

Операции заполнения системы растворителями и промывка отдельных частей и системы в целом выполняют в соответствии с соответствующими руководствами по эксплуатации оборудования.

Детектирование разделенных производных аминокислот осуществляют с помощью флуориметрического детектора:

- при длине волны возбуждения 266 нм и длине волны испускания 305 нм — для производных о-фталевого альдегида;
- длине волны возбуждения 340 нм и длине волны испускания 420 нм — для производных пролина и орнитина с FMOC.

Идентификацию разделенных производных аминокислот проводят путем сравнения времен удерживания и коэффициентов удерживания со стандартной смесью аминокислот (см. приложение А).

### 6.3 Приготовление вспомогательных растворов

#### 6.3.1 Приготовление раствора уксусной кислоты с массовой долей 2 %

В мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> приливают ориентировочно 20 см<sup>3</sup> воды, затем приливают 0,95 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и доводят водой до метки.

Раствор используют свежеприготовленным.

#### 6.3.2 Приготовление подвижной фазы А

(4,080 ± 0,001) г уксуснокислого 3-водного натрия взвешивают в стакане вместимостью 100 см<sup>3</sup>, растворяют в приблизительно 80 см<sup>3</sup> воды, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup>, доводят водой до метки и перемешивают. Раствор переносят в мерный стакан вместимостью 1000 см<sup>3</sup> и доводят pH до значения 7,2 ед. pH раствором уксусной кислоты, приготовленным по 6.3.1, регистрируя показания pH-метром. К полученному раствору добавляют 2 см<sup>3</sup> тетрагидрофурана. Полученный раствор дегазируют на установке для фильтрации и дегазации жидкостей (см. 4.15) под вакуумом в течение 15 мин с одновременной фильтрацией через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Срок хранения раствора — не более трех дней при температуре 4 °С.

#### 6.3.3 Приготовление подвижной фазы В

В цилиндр вместимостью 1000 см<sup>3</sup> приливают 200 см<sup>3</sup> ацетатного буфера (подвижной фазы А), приготовленного по 6.3.2, 640 см<sup>3</sup> ацетонитрила и 160 см<sup>3</sup> этилового спирта. Полученную смесь перемешивают и дегазируют на установке для фильтрации и дегазации жидкостей (см. 4.15) под вакуумом в течение 15 мин с одновременной фильтрацией через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Срок хранения смеси — не более трех дней при комнатной температуре.

#### 6.3.4 Приготовление смеси дериватизирующих реагентов о-фталевого альдегида (ОРА) и 3-меркаптопропионовой кислоты

(0,025 ± 0,001) г о-фталевого альдегида растворяют в 2 см<sup>3</sup> этанола и добавляют 20 мм<sup>3</sup> 3-меркаптопропионовой кислоты.

Срок хранения смеси — не более 1 мес при температуре от 2 до 8 °С в склянке из темного стекла.

#### 6.3.5 Приготовление раствора дериватизирующего реагента 9-метилхлороформиатфлуорена (FMOC)

(0,05 ± 0,001) г 9-флуоренилметоксикарбонилхлорида растворяют в 10 см<sup>3</sup> ацетонитрила.

Срок хранения раствора — не более 1 мес при температуре от 2 до 8 °С в склянке из темного стекла.

#### 6.3.6 Приготовление раствора гидроксида натрия молярной концентрации 5 моль/дм<sup>3</sup>

20,0 г гидроксида натрия растворяют в 50 см<sup>3</sup> воды, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки.

Срок хранения раствора — не более 1 мес в сосуде из полимерного материала.

#### 6.3.7 Приготовление боратного буферного раствора молярной концентрации 0,05 моль/дм<sup>3</sup>

4,77 г тетраборнокислого десятиводного натрия растворяют в 150 см<sup>3</sup> воды, переносят раствор в мерную колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки. Приготовленный раствор переносят в стакан вместимостью 1000 см<sup>3</sup> и доводят до 10,4 ед. pH раствором гидроксида натрия, приготовленного по 6.3.6, регистрируя показания pH-метром.

Срок хранения раствора — не более 1 мес.

### 6.4 Приготовление градуировочных растворов

#### 6.4.1 Приготовление исходных градуировочных растворов аминокислот

Основной (раствор № 6), промежуточный (раствор № 5) и градуировочные растворы аминокислот (растворы № 1—4) готовят в соответствии с таблицей 2.

**Примечание** — При использовании в качестве солей аминокислот (например, лизина) для приготовления основного раствора необходимо пересчитывать массу навески на свободную аминокислоту.

Таблица 1

| № раствора | Компонент                            | Вместимость мерной колбы, см <sup>3</sup> | Способ приготовления                                                                                                                                                                                                                       | Массовая концентрация, мг/дм <sup>3</sup> |
|------------|--------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 6          | L-Аспарагиновая кислота              | 100                                       | (0,100 ± 0,001) г каждой аминокислоты взвешивают в одном стакане вместимостью 50 см <sup>3</sup> . Содержимое стакана растворяют приблизительно в 30 см <sup>3</sup> воды, количественно переносят в мерную колбу и доводят до метки водой | 1000                                      |
|            | L-Глутамин                           |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Глутаминовая кислота               |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Серин                              |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Гистидин                           |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Треонин                            |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Аспарагин                          |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Аланин                             |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Аргинин                            |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Тирозин                            |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | γ-Аминomásляная кислота              |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Метионин                           |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Валин                              |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-изо-Лейцин                         |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-бета-Фенилаланин                   |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Лейцин                             |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Лизин                              |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | Глицин                               |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Пролин                             |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
|            | L-Орнитин                            |                                           |                                                                                                                                                                                                                                            |                                           |
| 5          | Все компоненты, что и в растворе № 6 | 100                                       | В мерную колбу отбирают 10,0 см <sup>3</sup> основного раствора № 6, доводят до метки водой и перемешивают                                                                                                                                 | 100                                       |
| 4          | Все компоненты, что и в растворе № 6 | 50                                        | В мерную колбу отбирают 10,0 см <sup>3</sup> промежуточного раствора № 5, доводят до метки водой и перемешивают                                                                                                                            | 20,0                                      |
| 3          | Все компоненты, что и в растворе № 6 | 50                                        | В мерную колбу отбирают 7,5 см <sup>3</sup> промежуточного раствора № 5, доводят до метки водой и перемешивают                                                                                                                             | 15,0                                      |
| 2          | Все компоненты, что и в растворе № 6 | 50                                        | В мерную колбу отбирают 5,0 см <sup>3</sup> промежуточного раствора № 5, доводят до метки водой и перемешивают                                                                                                                             | 10,0                                      |
| 1          | Все компоненты, что и в растворе № 6 | 50                                        | В мерную колбу отбирают 2,5 см <sup>3</sup> промежуточного раствора № 5, доводят до метки водой и перемешивают                                                                                                                             | 5,0                                       |

Раствор № 4 используют в качестве одного из контрольных растворов при ежедневных анализах. Срок хранения основного раствора № 6 — не более 5 сут при температуре от 2 до 6 °С.

Промежуточный раствор № 5 и градуировочные растворы используют свежеприготовленными.

#### 6.4.2 Приготовление дериватизированных градуировочных растворов аминокислот

Во вставку для микроколичеств пипеточным дозатором помещают 10 мм<sup>3</sup> градуировочного раствора (№ 1—4 по таблице 1), 5 мм<sup>3</sup> смеси ОРА и 3-меркаптопропионовой кислоты (см. 6.3.4), 5 мм<sup>3</sup> раствора FMOC (см. 6.3.5) и 50 мм<sup>3</sup> боратного буферного раствора (см. 6.3.7). Смесь перемешивают и сразу же проводят хроматографический анализ аминокислот. Операцию повторяют для каждого градуировочного раствора (№ 1—4 по таблице 1).

К массовой концентрации аминокислот в полученном дериватизированном градуировочном растворе дополняют значение, равное массовой концентрации аминокислот в соответствующем градуировочном растворе, приведенной в таблице 1.

#### 6.5 Условия проведения измерений

При подготовке к проведению измерений и проведении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха (20 ± 5) °С;
- атмосферное давление (97 ± 10) кПа;
- относительная влажность не более 80 %;
- напряжение в питающей сети (220 ± 22) В;
- частота тока в питающей сети (50 ± 1) Гц.

#### 6.6 Условия хроматографического анализа

При проведении хроматографического анализа создают и поддерживают следующие условия:

- температура колонки — 40 °С;
  - рабочие длины волн флуориметрического детектора:  
266 нм (возбуждение)/305 нм (регистрация) — для производных о-фталевого альдегида,  
340 нм (возбуждение)/420 нм (регистрация) — для производных пролина и орнитина с FMOC;
  - объем вводимой пробы — 10 мм<sup>3</sup>;
  - режим элюирования — градиентный, скорость потока 0,75 см<sup>3</sup>/мин (ориентировочное значение).
- Параметры градиентного режима приведены в таблице 2.

Таблица 2

| Время, мин | Объемная доля элюента А (см. 6.3.2), % | Объемная доля элюента В (см. 6.3.3), % |
|------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| 0          | 0                                      | 100                                    |
| 7          | 25                                     | 75                                     |
| 9          | 25                                     | 75                                     |
| 10         | 36                                     | 64                                     |
| 12         | 43                                     | 57                                     |
| 14         | 51                                     | 49                                     |
| 15         | 60                                     | 40                                     |
| 17         | 60                                     | 40                                     |
| 18         | 100                                    | 0                                      |
| 25         | 0                                      | 100                                    |

#### 6.7 Градуировка хроматографа

Градуировку хроматографа проводят в соответствии с руководством по эксплуатации оборудования и руководством пользователя программным обеспечением.

Дозируют в хроматограф дериватизированные градуировочные растворы (см. 6.4.2) после дериватизации и регистрируют площадь пиков производных соответствующих аминокислот. Площадь пиков производных аминокислот  $S$ , е. о. п. · с\* и их массовая концентрация в градуировочных растворах  $c$ , мг/дм<sup>3</sup>, находятся в линейной зависимости

$$c = k \cdot S, \quad (1)$$

где  $k$  — градуировочный коэффициент (угол наклона), мг · дм<sup>-3</sup> · (е. о. п. · с)<sup>-1</sup>.

\* е. о. п. — единицы оптической плотности.

Коэффициенты  $k$  вычисляют по результатам анализа градуировочных растворов с помощью программно-аппаратного комплекса сбора и обработки данных или при его отсутствии в составе хроматографа по методу наименьших квадратов

$$k = \frac{\sum_{i=1}^m c_i S_i}{\sum_{i=1}^m S_i^2}, \quad (2)$$

где  $c_i$  — массовая концентрация аминокислоты в  $i$ -м градуировочном растворе, мг/дм<sup>3</sup>;

$S_i$  — площадь пика соответствующей аминокислоты при анализе  $i$ -го градуировочного раствора, е. о. п. · с;

Градуировочную характеристику устанавливают при смене оборудования, колонок, условий хроматографического анализа или при выявлении несоответствий по результатам оперативного контроля или внутреннего аудита.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят, используя в качестве контрольных заново приготовленные по 6.4.2 дериватизированные градуировочные растворы из растворов № 3 и № 4 (см. таблицу 2) перед выполнением измерений.

Результаты контроля стабильности градуировочной характеристики признаются удовлетворительными при выполнении для каждого контрольного раствора следующего условия

$$|X_{\text{изм}} - C_{\text{ст}}| \leq 0,01 \cdot G \cdot C_{\text{ст}}, \quad (3)$$

где  $X_{\text{изм}}$  — результат измерения массовой концентрации аминокислоты в контрольных растворах, мг/дм<sup>3</sup>;

$C_{\text{ст}}$  — фактическое значение массовой концентрации аминокислоты в контрольных растворах, мг/дм<sup>3</sup>;

$G$  — норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, %.

Во всем диапазоне градуировочной характеристики  $G$  принимают равным  $0,7 \cdot \delta$ , где  $\delta$  — границы относительной погрешности измерений массовой концентрации аминокислот (см. таблицу 3), %.

Если условие (3) не выполняется хотя бы для одного контрольного раствора, то градуировочную характеристику устанавливают заново во всем диапазоне измерений.

6.8 Мониторинг характеристик хроматографических колонок проводят в соответствии с приложением А.

## 7 Проведение измерений

### 7.1 Подготовка проб для измерений

7.1.1 При анализе каждой пробы проводят два параллельных измерения.

7.1.2 Осветленные соки, нектары и сокодержавные напитки, не содержащие нерастворимые в воде вещества, разбавляют в 100 раз. Для этого 1 см<sup>3</sup> пробы сока (см. раздел 5) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки. Далее проводят дериватизацию аминокислот. Для этого во вставку для микроколичеств пипеточным дозатором помещают 10 мм<sup>3</sup> разбавленной пробы, 5 мм<sup>3</sup> смеси ОРА и 3-меркаптопропионовой кислоты (см. 6.3.4), 5 мм<sup>3</sup> раствора FMOC (см. 6.3.5) и 50 мм<sup>3</sup> боратного буферного раствора (см. 6.3.7). Смесь перемешивают и сразу же проводят хроматографический анализ по 7.2.3.

7.1.3 Соки, нектары и сокодержавные напитки с мякотью или содержащие нерастворимые в воде вещества разбавляют объемным методом в 100 раз. Для этого 1 см<sup>3</sup> пробы сока (см. раздел 5) помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки. Далее разбавленную пробу центрифугируют со скоростью не менее 9000 об/мин в течение 10 мин и проводят все операции, предусмотренные 7.1.2, начиная с отбора аликвоты пробы во вставку для микроколичеств.

7.1.4 Концентрированные соки и пюре различных фруктов, ягод и овощей разбавляют водой в 500 раз весовым методом. Для этого взвешивают ориентировочно 0,15 г концентрированного сока в стакане вместимостью 100 см<sup>3</sup> с погрешностью  $\pm 0,001$  г и доводят водой до 75 г, проводя взвешивание также с погрешностью  $\pm 0,001$  г. Далее проводят все операции, описанные в 7.1.2.

7.1.5 При подготовке пробы по 7.1.4 результат измерений выражают в единицах массовой доли (млн<sup>-1</sup>), по 7.1.2, 7.1.3 — в единицах массовой концентрации (мг/дм<sup>3</sup>).

## 7.2 Порядок проведения измерений

7.2.1 Включение и вывод хроматографической системы на рабочий режим, включая кондиционирование колонки, проводят в соответствии с руководствами по эксплуатации оборудования, колонки, и 6.2, 6.5.

7.2.2 Выключение хроматографической системы после выполнения анализов проводят в соответствии с руководством по эксплуатации оборудования и руководством пользователя программно-аппаратным комплексом сбора и обработки данных.

7.2.3 Подготовленную по 7.1.2—7.1.4 пробу вводят в хроматограф и анализируют в тех же условиях, что и дериватизированные градуировочные растворы (см. 6.6). Идентифицируют пики аминокислот по временам удерживания, используя при этом программное обеспечение к хроматографу. Для всех идентифицированных аминокислот вычисляют массовую концентрацию  $c_{\text{изм}}$ , мг/дм<sup>3</sup>, используя градуировочные характеристики по 6.7.

Примеры хроматограмм приведены в приложении Б.

## 8 Обработка и оформление результатов измерений

8.1 Если подготовку пробы проводили по 7.1.2 или 7.1.3, то массовую концентрацию аминокислот в пробе  $C$ , мг/дм<sup>3</sup>, вычисляют по формуле

$$C = \frac{c_{\text{изм}} \cdot V_2}{V_1}, \quad (4)$$

где  $c_{\text{изм}}$  — измеренное по 7.2.3 значение массовой концентрации соответствующей аминокислоты в подготовленной пробе, мг/дм<sup>3</sup>;

$V_2$  — объем мерной колбы, взятой для разбавления пробы, см<sup>3</sup>;

$V_1$  — объем пробы, отобранный для анализа, см<sup>3</sup>.

За результат измерений массовой концентрации аминокислот в пробе принимают среднеарифметическое значение  $\bar{C}$ , мг/дм<sup>3</sup>, результатов двух параллельных измерений  $C_1$  и  $C_2$ , мг/дм<sup>3</sup>, при выполнении условия

$$100 \cdot \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \leq r_{\text{отн}}, \quad (5)$$

где  $r_{\text{отн}}$  — предел повторяемости (см. таблицу 3), %.

8.2 Если подготовку пробы проводили по 7.1.4, то массовую долю аминокислот в пробе  $X$ , млн<sup>-1</sup>, вычисляют по формуле

$$X = \frac{X_{\text{изм}} \cdot m_{\text{общ}}}{m_X}, \quad (6)$$

где  $X_{\text{изм}}$  — значение массовой доли аминокислоты в растворе, подготовленном по 7.1.4, принимаемое численно равным измеренному по 7.2.3 значению массовой концентрации, млн<sup>-1</sup>;

$m_{\text{общ}}$  — масса пробы анализируемой пробы с добавкой воды (см. 7.1.3), г;

$m_X$  — масса анализируемой пробы, г.

8.3 За результат измерений массовой доли аминокислот в пробе принимают среднеарифметическое значение  $\bar{X}$ , млн<sup>-1</sup>, результатов двух параллельных измерений  $X_1$  и  $X_2$ , млн<sup>-1</sup>, при выполнении условия

$$100 \cdot \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \leq r_{\text{отн}}, \quad (7)$$

где  $r_{\text{отн}}$  — предел повторяемости (см. таблицу 3), %.

При невыполнении условий (5) и (7) получают еще два результата измерений в соответствии с разделом 7 и затем используют методы проверки приемлемости четырех результатов параллельных измерений и установления результата измерений согласно ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Таблица 3 — Метрологические характеристики метода

| Диапазон измерения массовой концентрации (массовой доли) аминокислот, мг/дм <sup>3</sup> (млн <sup>-1</sup> )                                  | Предел повторяемости (относительное расхождение результатов двух параллельных измерений)<br>$r_{отн}$ , % | Предел воспроизводимости (допускаемое относительное расхождение результатов двух единичных измерений, полученных в двух лабораториях)<br>$R_{отн}$ , % | Показатель точности (границы относительной погрешности)<br>$\pm \delta$ , % |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| L-Пролин, L-(+)-Орнитин                                                                                                                        |                                                                                                           |                                                                                                                                                        |                                                                             |
| От 5,0 до 20,0 включ.                                                                                                                          | 1,4                                                                                                       | 8                                                                                                                                                      | 7                                                                           |
| L-Аспарагиновая кислота, L-Глутаминовая кислота, L-Гистидин, L-Аспарагин, L-Аланин, L-Аргинин, L-Метионин, L-бета-Фенилаланин, L-Лизин, Глицин |                                                                                                           |                                                                                                                                                        |                                                                             |
| От 5,0 до 20,0 включ.                                                                                                                          | 2,2                                                                                                       | 9                                                                                                                                                      | 8                                                                           |
| L-Глутамин, L-Серин, L-Треонин, L-Тирозин, $\gamma$ -Аминomásляная кислота, L-Валин, L-Изолейцин, L-Лейцин                                     |                                                                                                           |                                                                                                                                                        |                                                                             |
| От 5,0 до 20,0 включ.                                                                                                                          | 2,8                                                                                                       | 14                                                                                                                                                     | 13                                                                          |

8.4 Относительное расхождение между результатами измерений, полученными в двух лабораториях, не должно превышать предела значения критической разности  $CD_{0,95}$

$$2 \cdot \frac{|\bar{C}_1 - \bar{C}_2|}{\bar{C}_1 + \bar{C}_2} \leq 0,01 \cdot CD_{0,95} \quad (8)$$

или

$$2 \cdot \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\bar{X}_1 + \bar{X}_2} \leq 0,01 \cdot CD_{0,95} \quad (9)$$

где  $\bar{C}_1$  и  $\bar{C}_2$  ( $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$ ) — результаты измерений массовой концентрации (массовой доли) аминокислот, полученные в первой и второй лабораториях соответственно, мг/дм<sup>3</sup> (млн<sup>-1</sup>);

0,01 — коэффициент пересчета от процентов к абсолютным величинам;

$CD_{0,95}$  — критическая разность, %.

Значение критической разности вычисляют по формуле

$$CD_{0,95} = \sqrt{R_{отн}^2 - r_{отн}^2 \cdot \left(1 - \frac{1}{n_1} - \frac{1}{n_2}\right)} \quad (10)$$

где  $R_{отн}$  — предел воспроизводимости (см. таблицу 3), %;

$r_{отн}$  — предел повторяемости (см. таблицу 3), %;

$n_1$  и  $n_2$  — число параллельных измерений в первой и второй лабораториях соответственно.

При выполнении условий (8) или (9) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного результата используют их среднееарифметическое значение. При невыполнении этого условия рекомендуется провести мероприятия, предусмотренные ГОСТ ИСО 5725-6 (пункты 5.3.3 и 5.3.4).

8.5 Результаты измерений регистрируют в протоколе испытаний согласно ГОСТ ИСО/МЭК 17025 с указанием настоящего стандарта в следующем виде

$$(\bar{C} \pm \Delta_C), \text{ мг/дм}^3 (P = 0,95) \quad (11)$$

или

$$(\bar{X} \pm \Delta_X), \text{ млн}^{-1} (P = 0,95), \quad (12)$$

где  $\bar{C}$  — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений массовой концентрации аминокислот, мг/дм<sup>3</sup>;

$\Delta_C$  — значение границ абсолютной погрешности измерений массовой концентрации аминокислот для доверительной вероятности  $P = 0,95$ , мг/дм<sup>3</sup>, вычисленное по формуле

$$\Delta_C = \frac{\delta \cdot \bar{C}}{100}, \quad (13)$$

где  $\delta$  — значение границ относительной погрешности измерений массовой концентрации (массовой доли) аминокислот для доверительной вероятности  $P = 0,95$  (см. таблицу 3), %;

$\bar{X}$  — среднеарифметическое результатов двух параллельных измерений массовой доли аминокислот, млн<sup>-1</sup>;

$\Delta_X$  — значение границ абсолютной погрешности измерений массовой доли аминокислот для доверительной вероятности  $P = 0,95$ , млн<sup>-1</sup>, вычисленное по формуле

$$\Delta_X = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100}. \quad (14)$$

## 9 Контроль качества результатов измерений

Контроль качества результатов измерений осуществляют, используя методы контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости и контроля стабильности среднеквадратического отклонения промежуточной прецизионности с применением контрольных карт Шухарта по ГОСТ ИСО 5725-6 (пункты 6.2.2, 6.2.3).

Периодичность процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025 (пункт 4.2).

## 10 Требования безопасности

### 10.1 Условия безопасного проведения работ

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.004.

Требования электробезопасности при работе с приборами — по ГОСТ 12.1.019 и в соответствии с руководством по эксплуатации используемого оборудования.

### 10.2 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке результатов допускаются инженер-химик, техник или лаборант, имеющие высшее или специальное образование, опыт работы в химической лаборатории и изучившие инструкцию по эксплуатации жидкостного хроматографа. Первое применение метода в лаборатории должно проводиться под руководством специалиста, владеющего теорией высокоэффективной жидкостной хроматографии и имеющего практические навыки в этой области.

**Приложение А**  
**(справочное)**

**Мониторинг хроматографических характеристик колонки**

А.1 Проверку оптимальности хроматографических условий (хроматографических характеристик колонки) проводят по хроматограмме стандартного раствора № 4 с помощью программного обеспечения или вручную по показателям в соответствии с таблицами А.1 и А.2.

Т а б л и ц а А.1 — Время удерживания, коэффициент удерживания, число теоретических тарелок и коэффициент асимметрии хроматографических пиков\*

| Компонент               | Время удерживания, мин | Коэффициент удерживания | Число теоретических тарелок $N$ | Коэффициент асимметрии $A_s$ |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| L-Аспарагиновая кислота | 3,54 ± 0,18            | 0,40                    | 7 165                           | 1,16                         |
| L-Глутаминовая кислота  | 6,37 ± 0,32            | 1,64                    | 30 690                          | 1,07                         |
| L-Аспарагин             | 7,72 ± 0,39            | 2,02                    | 39 442                          | 0,91                         |
| L-Треонин               | 7,97 ± 0,40            | 2,21                    | 38 459                          | 0,91                         |
| L-Серин                 | 8,09 ± 0,40            | 2,31                    | 38 685                          | 0,80                         |
| L-Гистидин              | 8,13 ± 0,41            | 2,75                    | 6 482                           | 0,30                         |
| L-Глутамин              | 8,59 ± 0,43            | 3,20                    | 59 911                          | 1,19                         |
| Глицин                  | 9,15 ± 0,46            | 3,56                    | 70 633                          | 1,12                         |
| L-бета-Фенилаланин      | 9,85 ± 0,49            | 3,75                    | 58 876                          | 1,10                         |
| L-Аланин                | 10,07 ± 0,50           | 3,88                    | 75 665                          | 1,14                         |
| L-Аргинин               | 10,36 ± 0,52           | 4,02                    | 60 735                          | 0,56                         |
| γ-Аминomásляная кислота | 10,49 ± 0,52           | 4,19                    | 45 263                          | 1,05                         |
| L-Тирозин               | 11,02 ± 0,55           | 4,61                    | 112 150                         | 0,31                         |
| L-Валин                 | 12,21 ± 0,61           | 4,66                    | 98 930                          | 0,30                         |
| L-Метионин              | 12,90 ± 0,65           | 4,79                    | 161 106                         | 1,08                         |
| L-Изолейцин             | 14,10 ± 0,71           | 5,63                    | 76 388                          | 0,81                         |
| L-Лейцин                | 14,62 ± 0,73           | 5,93                    | 184 516                         | 1,08                         |
| L-Лизин                 | 14,91 ± 0,75           | 6,35                    | 63 459                          | 0,85                         |
| L-Пролин                | 17,87 ± 0,89           | 6,40                    | 70 436                          | 0,34                         |
| L(+)-Орнитин            | 21,9 ± 1,10            | 7,75                    | 242 978                         | 1,67                         |

\* Данные значения получены при использовании хроматографической колонки Zorbax SB C18 фирмы Agilent. Информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является поддержкой указанного продукта.

Таблица А.2 — Разрешение хроматографических пиков аминокислот

| Компонент                                        | Разрешение $R_s$ |
|--------------------------------------------------|------------------|
| L-Аспарагиновая кислота / L-Глутаминовая кислота | 0,21             |
| L-Глутаминовая кислота / L-Аспарагин             | 1,99             |
| L-Аспарагин / L-Треонин                          | 6,67             |
| L-Треонин / L-Серин                              | 2,98             |
| L-Серин / L-Гистидин                             | 1,25             |
| L-Гистидин / L-Глутамин                          | 1,40             |
| L-Глутамин / Глицин                              | 1,30             |
| Глицин / L-бета-Фенилаланин                      | 7,20             |
| L-бета-Фенилаланин / L-Аланин                    | 5,20             |
| L-Аланин / L-Аргинин                             | 2,70             |
| L-Аргинин / $\gamma$ -Аминomásляная кислота      | 1,80             |
| $\gamma$ -Аминomásляная кислота / L-Тирозин      | 1,80             |
| L-Тирозин / L-Валин                              | 1,90             |
| L-Валин / L-Метионин                             | 1,60             |
| L-Метионин / L-Изолейцин                         | 5,70             |
| L-Изолейцин / L-Лейцин                           | 1,90             |
| L-Лейцин / L-Лизин                               | 8,60             |
| L-Лизин / L-Пролин                               | 6,40             |
| L-Пролин / L(+)-Орнитин                          | 2,01             |

А.2 Время удерживания (абсолютное) аминокислот определяют непосредственно из хроматограмм двух параллельных измерений одной пробы. В случае обнаружения отклонения времени удерживания более чем на 5 % от стандартного значения заново устанавливают градуировочную характеристику во всем диапазоне измерений. В случае выполнения условий неравенства (4) допускается программное изменение времен удерживания компонентов.

А.3 Коэффициент удерживания (емкости)  $k'$  вычисляют по формуле

$$k' = \frac{t'_R}{t_M}, \quad (\text{А.1})$$

где  $t'_R$  — приведенное время удерживания, мин;

$t_M$  — время выхода неудерживаемого компонента, мин.

Колонка считается удовлетворительной при значении коэффициента емкости, не превышающем 10 % от указанного в таблице А.1.

А.4 Число теоретических тарелок вычисляют по формуле

$$N = 16 \cdot \left( \frac{t_R}{W_b} \right)^2 = 5,545 \cdot \left( \frac{t_R}{W_h} \right)^2, \quad (\text{А.2})$$

где 16 и 5,545 — множители, вытекающие из свойств нормального распределения;

$t_R$  — время удерживания пика, мин;

$W_b$  — ширина пика у основания, мин;

$W_h$  — ширина пика на его полувысоте, мин.

Колонка считается удовлетворительной при значении числа теоретических тарелок не ниже 10 % от указанного в таблице.

А.5 Коэффициент асимметрии вычисляют по формуле

$$A_s = \frac{A}{B}, \quad (\text{A.3})$$

где  $A$  — «левый» отрезок, образованный на горизонтальной линии, проведенной на высоте 10 % от основания пика и разделенной вертикалью, опущенной из вершины пика;

$B$  — «правый» отрезок, образованный на горизонтальной линии, проведенной на высоте 10 % от основания пика и разделенной вертикалью, опущенной из вершины пика.

Колонка считается удовлетворительной при значении коэффициента асимметрии, не превышающем 1,75.

А.6 Разрешение  $R_s$  вычисляют по формуле

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{(W_{b1} + W_{b2})}, \quad (\text{A.4})$$

где  $t_{R2}$ ,  $t_{R1}$  — значения времени удерживания разделяемых полностью или критически (не полностью) компонентов, мин;

$W_{b1}$ ,  $W_{b2}$  — ширина пиков у основания, мин.

А.7 По результатам двух параллельных измерений вычисляют средние значения  $R_s$  для пары разделяемых полностью или критически (не полностью) компонентов ( $n$ ,  $n + 1$ ). Колонка считается удовлетворительной при значениях  $R_{s\ n, n+1} \geq 1,25$ .

Контроль стабильности хроматографической колонки в процессе эксплуатации проводят не реже одного раза в две недели.

**Приложение Б**  
**(справочное)**

**Примеры хроматограмм аминокислот**

Б.1 Примеры хроматограмм аминокислот приведены на рисунках Б.1, Б.2.

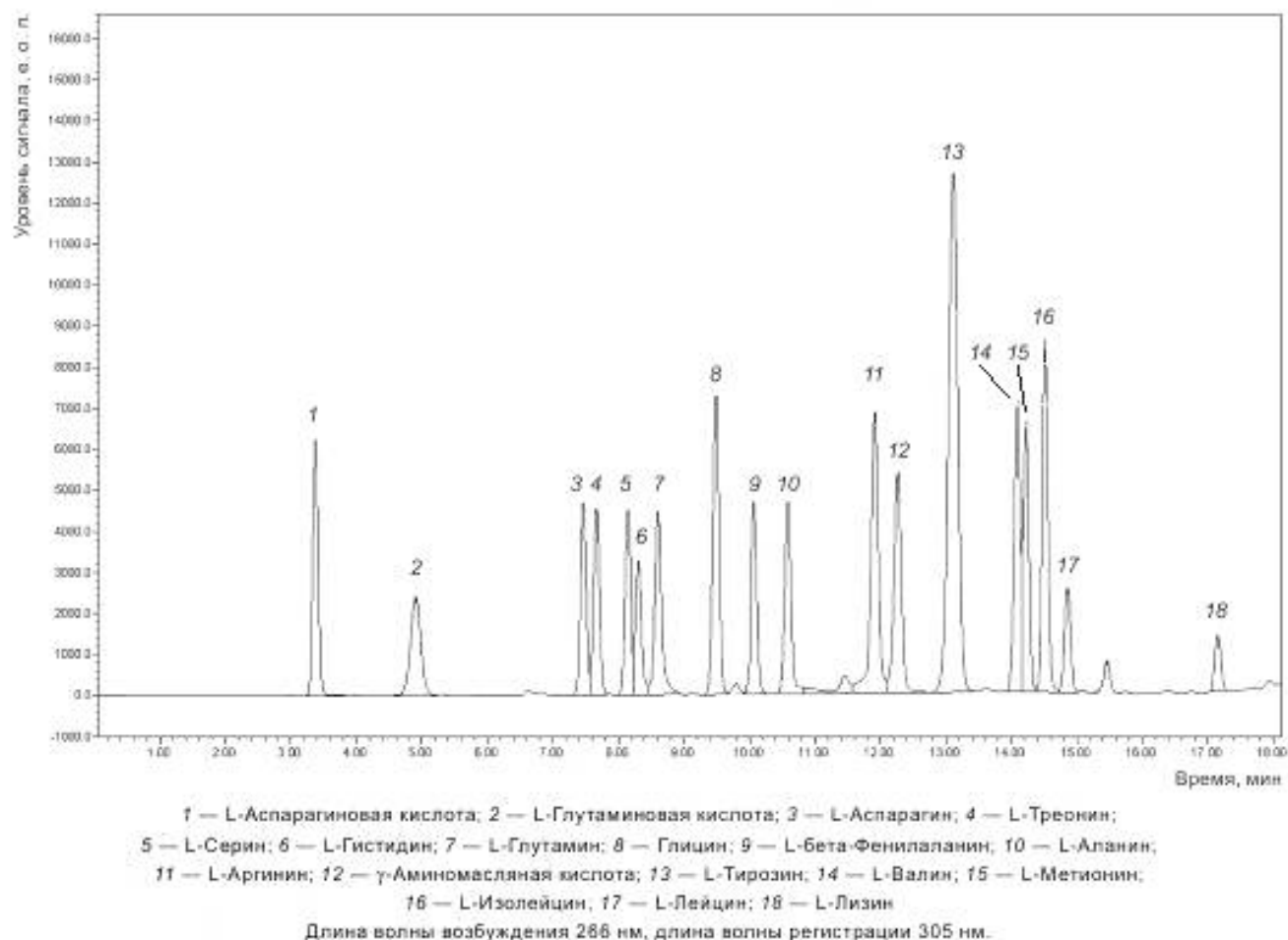
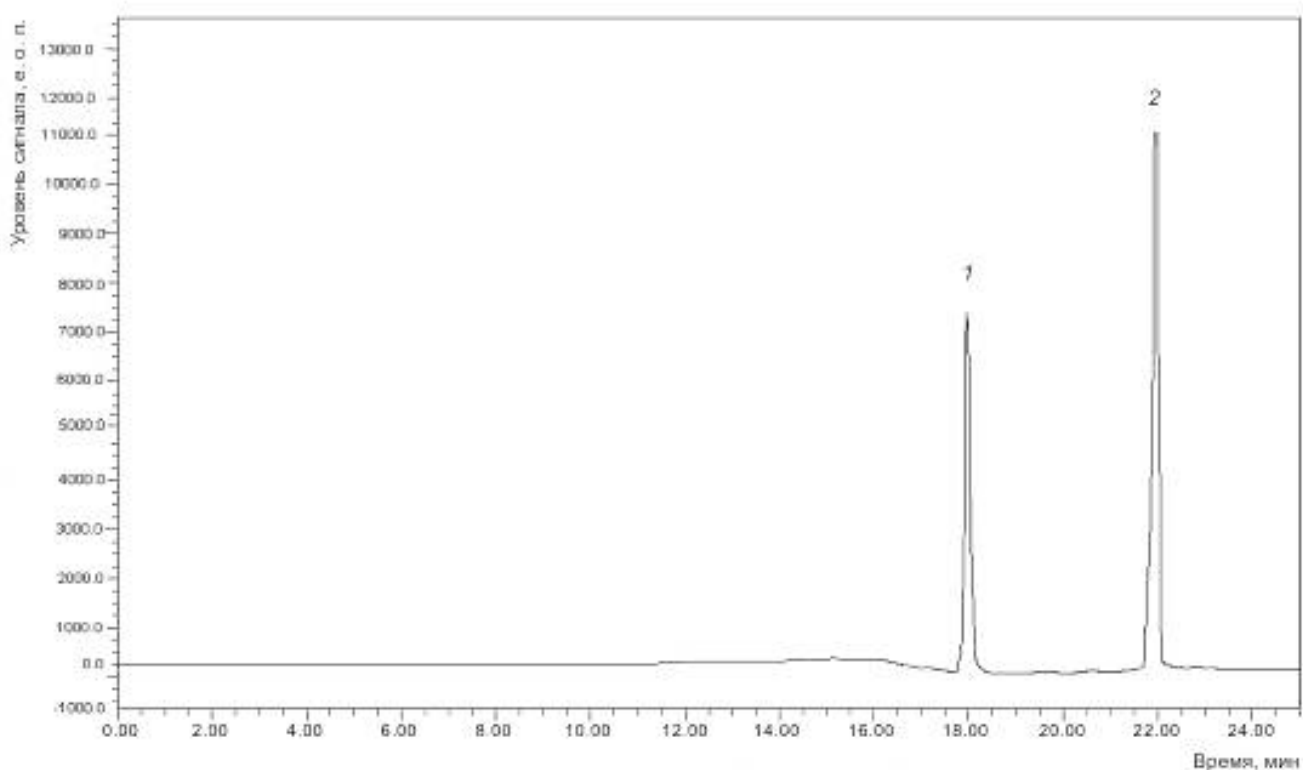


Рисунок Б.1 — Хроматограмма дериватизированного градуировочного раствора аминокислот № 4



1 — L-Пролин; 2 — L(+)-Орнитин  
Длина волны возбуждения 340 нм, длина волны регистрации 420 нм.

Рисунок Б.2 — Хроматограмма градуировочного раствора аминокислот № 4

УДК 543.544.52:664.863:006.35

МКС 67.080.01

Н69

Ключевые слова: продукция соковая из фруктов и овощей, свободные аминокислоты, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, массовая концентрация, массовая доля

БЗ 9—2017/62

Редактор Л.В. Коретникова  
Технический редактор В.Н. Прусакова  
Корректор Е.Р. Ароян  
Компьютерная верстка В.Г. Курочкин

Сдано в набор 13.12.2017. Подписано в печать 15.01.2018. Формат 60 × 84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 2,33. Уч.-изд. л. 2,11. Тираж 30 экз. Зак. 2703.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.  
www.jurisizdat.ru y-book@mail.ru

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001, Москва, Гранатный пер., 4.  
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru