МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 6558-2— 2019

ФРУКТЫ, ОВОЩИ И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Определение содержания каротина спектрофотометрическим методом

(ISO 6558-2:1992,
Fruits, vegetables and derived products — Determination of carotene content — Part 2: Routine methods, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Всероссийским научно-исследовательским институтом технологии консервирования — филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (ВНИИТеК — филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН) на основе официального перевода на русский язык англоязычной версии указанного в пункте 5 стандарта, который выполнен ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 июля 2019 г. № 120-П)

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	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 24 сентября 2019 г. № 742-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 6558-2—2019 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2020 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 6558-2:1992 «Фрукты, овощи и продукты их переработки. Определение содержания каротина. Часть 2. Общепринятые методы» («Fruits, vegetables and derived products — Determination of carotene content — Part 2: Routine methods», IDT).

Международный стандарт разработан Техническим комитетом ISO/TC 34 «Пищевые продукты», Подкомитетом SC 3 «Плодоовощные продукты» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6)

6 ВЗАМЕН ГОСТ 8756.22—80

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 1992 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2019

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

Поправка к ГОСТ ISO 6558-2—2019 Фрукты, овощи и продукты их переработки. Определение содержания каротина спектрофотометрическим методом

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 8 2020 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ФРУКТЫ, ОВОЩИ И ПРОДУКТЫ ИХ ПЕРЕРАБОТКИ

Определение содержания каротина спектрофотометрическим методом

Fruits, vegetables and derived products. Determination of β-carotene content by spectrophotometric method

Дата введения — 2020—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает два метода определения каротина ($C_{40}H_{56}$) во фруктах, овощах и продуктах их переработки в зависимости от содержания в них жира.

Метод А — для продуктов с содержанием жира до 5 % по массе включительно[1)].

Метод В — для продуктов с содержанием жира свыше 5 % по массе.

2 Метод А. Определение каротина в продуктах с содержанием жира до 5 % по массе включительно

2.1 Сущность метода

Метод основан на экстракции каротина из продукта смесью петролейного эфира и ацетона, последующем испарении растворителей, отделении каротина от других каротиноидов в полученном экстракте с применением колоночной хроматографии и спектрофотометрическом определении содержания каротина.

2.2 Реактивы и материалы

Используют реактивы только признанного аналитического качества и дистиллированную или деминерализованную воду или воду эквивалентной чистоты.

2.2.1 Петролейный эфир с пределами температуры кипения от 50 °С до 70 °С.

2.2.2 Экстракционная смесь, готовят следующим образом.

Растворяют 0,2 г гидрохинона в 40 $см^3$ ацетона, а затем добавляют 160 $см^3$ петролейного эфира (2.2.1).

2.2.3 Натрия сульфат, безводный.

Высушивают при 120 °С в течение 2—3 ч и хранят в герметичном контейнере.

2.2.4 Кварцевый песок, промытый кислотой и прокаленный в муфельной печи.

2.2.5 Сорбент для заполнения колонки: используют один из вариантов, описанных в 2.2.5.1—2.2.5.4.

2.2.5.1 Алюминия оксид, деактивированный суспендированием в воде, готовят следующим образом.

Прокаливают оксид алюминия в течение 3 ч в муфельной печи при 500 °С и охлаждают в эксикаторе. Перед использованием помещают 50 г прокаленного оксида алюминия в колбу со шлифом, добавляют 5,5 $см^3$ воды и перемешивают до образования однородной суспензии. pH суспензии должно быть в пределах от 9 до 10. Суспензию можно хранить в закрытой колбе не более 24 ч.

2.2.5.2 Магния оксид/стеклянная пыль, смесь 1:2 по массе.

2.2.5.3 Алюминия оксид/натрия сульфат безводный, смесь 3:1 по массе.

2.2.5.4 Алюминий оксид/кальций гидроксид, смесь 1:1 по массе.

2.2.6 Натрия хлорид, раствор 300 $г/дм^3$.

[1)] Предел 5 % по массе установлен как арбитражный.

Издание официальное

2.3 Оборудование

Используют обычное лабораторное оборудование и, в частности, следующее.

2.3.1 Спектрофотометр, подходящий для измерений при длине волны 450 нм, оборудованный кюветным отделением с длиной оптического пути 10 мм.

2.3.2 Установка для фильтрования типа Витта, со стеклянной воронкой и колбой для фильтрования под уменьшенным давлением.

2.3.3 Водяной насос.

2.3.4 Водяная баня, обеспечивающая поддержание температуры в диапазоне от 30 °С до 35 °С.

2.3.5 Вакуумный роторный испаритель.

2.3.6 Хроматографическая колонка диаметром 10—15 мм.

2.3.7 Сетчатый фильтр класса Р40.

2.3.8 Вата, обезжиренная петролейным эфиром.

2.3.9 Лабораторная ступка с пестиком.

2.3.10 Эксикатор, содержащий эффективный осушитель.

2.3.11 Коническая колба вместимостью 500 $см^3$.

2.3.12 Круглодонные колбы вместимостью 100 и 500 $см^3$, с коническими шлифами.

2.3.13 Делительная воронка вместимостью 1000 $см^3$.

2.3.14 Мерные колбы с одной отметкой вместимостью 50 и 100 $см^3$.

2.4 Подготовка проб

2.4.1 Жидкие неоднородные продукты (например, соки, концентраты, сиропы)

Тщательно перемешивают лабораторную пробу до однородного состояния.

2.4.2 Вязкие продукты (например, мармелады, фрукты в сиропе) и твердые продукты (например, фрукты и овощи)

Удаляют семена и кожуру, при необходимости, а затем тщательно перемешивают лабораторную пробу до однородного состояния.

Взвешивают удаленные семена и кожуру для внесения поправки на полученный результат.

2.4.3 Замороженные продукты и продукты глубокой заморозки

Размораживают лабораторную пробу в закрытом контейнере. При необходимости повторяют операции по 2.4.2. Присоединяют жидкость, образовавшуюся при размораживании, к продукту и тщательно перемешивают до однородного состояния.

2.5 Проведение испытаний

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ — Определение проводят в темном месте, без доступа прямого солнечного света.

2.5.1 Проба для испытаний

Взвешивают от 1 до 10 г подготовленной пробы (2.4), содержащей от 5 до 150 мкг каротина.

2.5.2 Приготовления раствора пробы для испытаний

2.5.2.1 Количественно переносят навеску пробы в ступку (2.3.9) и добавляют около 20 $см^3$ экстракционной смеси (2.2.2). Добавляют 20 г безводного сульфата натрия (2.2.3) и 30 г кварцевого песка (2.2.4), тщательно растирают. Декантируют полученный экстракт на фильтр (2.3.7) в коническую колбу вместимостью 500 $см^3$ (2.3.11). Экстракцию повторяют до тех пор, пока не будет получен прозрачный раствор. Переносят количественно остаток на фильтр и промывают его смесью, собирая фильтрат в коническую колбу.

2.5.2.2 Экстракты объединяют, переносят в делительную воронку вместимостью 1000 $см^3$ (2.3.13) и промывают несколько раз порциями воды, общим объемом от 300 до 400 $см^3$ с целью удаления остатков ацетона. Экстракт встряхивают аккуратно, избегая образования эмульсии. Экстракцию повторяют с другой пробой, повторяя указанные операции, но используя вместо воды раствор хлорида натрия массовой концентрации 300 $г/дм^3$ (2.2.6).

2.5.2.3 К промытому экстракту добавляют 15 г безводного сульфата натрия (2.2.3), перемешивают и оставляют на 15 мин. Раствор фильтруют через фильтр (2.3.7), наполовину заполненный безводным сульфатом натрия, в круглодонную колбу вместимостью 500 $см^3$ (2.3.12). Промывают слой сульфата натрия тремя порциями по 10 $см^3$ петролейного эфира (2.2.1), собирая промывные воды вместе с фильтратом.

2.5.2.4 Полученный фильтрат упаривают на вакуумном испарителе (2.3.5) на водяной бане (2.3.4) при температуре от 30 °С до 35 °С и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 или 100 см^3 (2.3.14), доводят объем до метки петролейным эфиром (V_1).

Примечание 1 — В случае образования эмульсии допускается добавление 10 см^3 этилового спирта.

2.5.3 Хроматографическое разделение

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ — На протяжении всей процедуры разделения колонка всегда должна быть заполненной петролейным эфиром выше уровня поверхностного слоя адсорбента.

2.5.3.1 Помещают ватную пробку (2.3.8) в широкую, нижнюю часть хроматографической колонки (2.3.6). Присоединяют колонку к установке Витта (2.3.2) и, аккуратно встряхивая, загружают в нее суспензию деактивированного оксида алюминия (2.2.5.1) или смеси оксида магния со стеклянной пылью (2.2.5.2), или смеси оксида алюминия с безводным сульфатом натрия (2.2.5.3) на высоту 15—20 см. Оксид алюминия не является подходящим сорбентом для случая разделения ликопинов. Для продуктов, содержащих в составе ликопиновые каротиноиды (например, томатов и продуктов из них), используют смесь оксида алюминия с гидроксидом кальция (2.2.5.4) в качестве адсорбента.

Для сбора элюата из колонки используют круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 (2.3.12). Установку для фильтрования Витта соединяют с водяным насосом (2.3.3).

2.5.3.2 Заполняют колонку петролейным эфиром. Когда уровень петролейного эфира будет находиться на 1 см выше поверхности адсорбента, приливают 5—20 см^3 (точно измеренного) раствора пробы (V_2), в зависимости от интенсивности окраски. Когда уровень раствора пробы опустится около 1 см над поверхностью адсорбента, добавляют 30 см^3 петролейного эфира.

Примечание 2 — При проведении процедуры промывки α-, β-, γ-каротины движутся вниз по колонке в виде желтоватой зоны и элюируются количественно, в то время как каротиноиды (ксантофил, криптоксантин и др.) задерживаются в верхних слоях адсорбента.

2.5.3.3 Повторяют добавление до тех пор, пока не будет получен прозрачный элюат (обычно после добавления 20 см^3 петролейного эфира).

2.5.3.4 В зависимости от интенсивности окраски полученного элюата корректируют его объем (концентрируя или разбавляя петролейным эфиром, при необходимости) таким образом, чтобы в 1 см^3 содержалось 0,4—3,0 мкг каротина. Регистрируют конечный объем элюата (V_3).

2.5.4 Спектрофотометрическое измерение

Измерения оптической плотности элюата проводят при длине волны 450 нм, в кюветах с длиной оптического пути 10 мм, используя в качестве раствора сравнения петролейный эфир.

Коэффициент молярной абсорбции $A_{1\,см}^{1\,\%}$ для чистого раствора β-каротина в петролейном эфире при 450 нм равен 2530.

2.6 Обработка результатов

Содержание каротина (выраженное через β-каротин) в продукте вычисляют по формуле

$$W(C_{40}H_{56}) = \frac{A \cdot V_1 \cdot V_3}{0{,}25 \cdot V_2 \cdot m},$$

где $W(C_{40}H_{56})$ — содержание каротина, мкг/г продукта;

A — величина оптической плотности полученного элюата;

V_1 — объем раствора пробы, см^3 (например, 50 или 100 см^3);

V_2 — объем раствора пробы, взятый для хроматографического разделения, см^3;

V_3 — конечный объем элюата, см^3;

0,25 — корректирующий коэффициент для β-каротина;

m — масса пробы продукта, г.

3 Метод В. Определение каротина в продуктах с содержанием жира свыше 5 % по массе

3.1 Сущность метода

Метод основан на экстракции, предварительном гидролизе жира в продукте с помощью щелочного раствора гидроксида калия, последующей экстракции каротиноидов смесью петролейного и диэ-

тилового эфиров, отделении каротина от других каротиноидов в полученном экстракте с применением колоночной хроматографии и спектрофотометрическом определении каротина в элюате при длине волны 450 нм.

3.2 Реактивы и материалы

Используют реактивы и материалы, указанные в 2.2, за исключением 2.2.2, 2.2.4 и 2.2.6, только признанного аналитического качества, и в дополнение следующие:

3.2.1 Азот газообразный.

3.2.2 Этиловый спирт, с содержанием этанола не менее 96 % по объему.

3.2.3 Калия гидроксид, раствор 500 г/дм^3.

В мерном цилиндре с пробкой растворяют 5,0 г гидроксида калия в дистиллированной воде, доводят объем до 10 см^3 и перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед использованием.

3.2.4 Пирогаллол, основной раствор, готовят следующим образом.

Готовят раствор пирогаллола массовой концентрации 250 г/дм^3: растворяют в мерной колбе с одной отметкой вместимостью 25 см^3 6,25 г пирогаллола в воде, доводят раствор до метки водой и перемешивают.

Готовят раствор гидроксида калия массовой концентрации 600 г/дм^3: растворяют в мерной колбе с одной отметкой вместимостью 100 см^3 60,0 г гидроксида калия в воде, доводят раствор до метки водой и перемешивают.

Готовят основной раствор, смешивая 15 см^3 раствора пирогаллола и 90 см^3 раствора гидроксида калия.

3.2.5 Экстракционная смесь, готовят следующим образом.

Смешивают одну часть петролейного эфира с одной частью диэтилового эфира (свободного от пероксидов).

3.2.6 Калия гидроксид, раствор 30 г/дм^3.

В мерной колбе с одной отметкой вместимостью 50 см^3 растворяют 1,5 г гидроксида калия в воде, доводят раствор до метки водой и перемешивают.

3.2.7 Фенолфталеин, 1 %-ный раствор.

Растворяют 1,0 г фенолфталеина в 60 %-ном (по объему) растворе этилового спирта и доводят объем раствора до 100 см^3 раствором этилового спирта.

3.2.8 Антиоксидант, например, пирогаллол, гидрохинон, аскорбиновая кислота.

3.3 Оборудование

Используют оборудование, указанное в 2.3, за исключением 2.3.9, 2.3.11 и 2.3.13, и в дополнение следующее:

3.3.1 Установка для гидролиза, оснащенная обратным холодильником и подключенная к линии инертного газа, включающей поглотительную склянку с основным раствором пирогаллола (3.2.4) для удаления следов кислорода из инертного газа.

3.3.2 Делительная воронка вместимостью 250 см^3.

3.4 Подготовка проб

Подготовку проб проводят в соответствии с 2.4.

3.5 Проведение испытаний

3.5.1 Проба для испытаний

В круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 (2.3.12) взвешивают необходимое количество подготовленной пробы (3.4), содержащей от 5 до 150 мкг каротина.

3.5.2 Приготовление экстракта пробы для испытаний

3.5.2.1 К пробе продукта добавляют 30 см^3 раствора этилового спирта (3.2.2), 3 см^3 раствора гидроксида калия (3.2.3) и небольшое количество антиоксиданта (3.2.8), затем соединяют колбу с обратным холодильником (3.3.1). Включают подачу азота (3.2.1). Проводят процедуру гидролиза с обратным холодильником при нагревании раствора на водяной бане в течение 30 мин.

3.5.2.2 Содержимое колбы охлаждают и количество переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3 (3.3.2), смывая остатки со стенок колбы водой. Проводят экстрагирование негидроли-

зующихся соединений путем последовательного встряхивания: два раза — с 50 см^3 экстракционной смеси и два раза — с 20 см^3 экстракционной смеси. Полученный объединенный экстракт тщательно промывают 50 см^3 раствора гидроксида калия (3.2.6), а затем водой до тех пор, пока реакция экстракта с раствором фенолфталеина (3.2.7) не будет отрицательной (отсутствие щелочи).

3.5.2.3 Удаляют воду из полученного экстракта в соответствии с процедурой, описанной в 2.5.2.3.

3.5.2.4 Проводят концентрирование экстракта в соответствии с процедурой, описанной в 2.5.2.4.

3.5.3 Хроматографическое разделение и спектрофотометрическое измерение

Хроматографическое разделение и спектрофотометрическое измерение проводят в соответствии с процедурами, описанными в 2.5.3 и 2.5.4.

3.6 Обработка результатов

Содержание каротина (выраженное через β-каротин) в продукте вычисляют по формуле, указанной в 2.6.

4 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух параллельных определений, полученными за короткий промежуток времени с использованием одного и того же метода на идентичном материале в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором на одинаковом оборудовании, не более чем в 5 % случаев будет больше 5 % среднего арифметического двух результатов.

5 Оформление результатов испытаний

В протоколе испытаний должны быть указаны используемый метод (например, обозначение настоящего стандарта, метод А или В) и полученные результаты. В нем также должны быть отражены все детали проведения испытания, не оговоренные в настоящем стандарте или не считающиеся обязательными, а также любые обстоятельства, которые могли бы повлиять на конечный результат.

Протокол испытаний должен содержать все сведения, необходимые для полной идентификации пробы.

УДК 664.841:664.851:543.06:006.354 МКС 67.080.01 IDT

Ключевые слова: фрукты, овощи, продукты переработки фруктов и овощей, каротин, содержание, спектрофотометр, определение

БЗ 8—2019/96

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 26.09.2019 Подписано в печать 14.10.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ ISO 6558-2—2019 Фрукты, овощи и продукты их переработки. Определение содержания каротина спектрофотометрическим методом

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 8 2020 г.)

gost.e-ecolog.ru