ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

# СОКИ ПЛОДОВЫЕ И ОВОЩНЫЕ

## Фотометрический метод определения пролина

Издание официальное

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки плодов и овощей»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 30 декабря 1997 г. № 442

3 Методическая часть стандарта полностью соответствует методической части европейского стандарта EN 1141— 94 «Плодовые и овощные соки. Определение пролина»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

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

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

# СОКИ ПЛОДОВЫЕ И ОВОЩНЫЕ

## Фотометрический метод определения пролина

Fruit and vegetable juices.
Photometrical method for determination of proline

**Дата введения 1998— 07— 01**

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на плодовые и овощные соки и устанавливает фотометрический метод определения пролина.

## 2 Нормативные ссылки

ГОСТ 1770— 74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4166— 76 Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 5556— 81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5848— 73 Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 6709— 72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026— 76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 14919— 83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 22300— 76 Бутиловый эфир уксусной кислоты. Технические условия

ГОСТ 24104— 88* Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

ГОСТ 25336— 82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26313— 84 Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб

ГОСТ 28498— 90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 29030— 91 Продукты переработки плодов и овощей. Пикнометрический метод определения относительной плотности и содержания растворимых сухих веществ

ГОСТ 29227— 91 (ИСО 835-3—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

## 3 Сущность метода

Метод основан на проведении реакции пролина с нингидрином с образованием цветного комплексного соединения, экстракции его *н*-бутилацетатом и измерении оптической плотности окрашенного экстракта.

## 4 Средства измерений, лабораторное оборудование, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 наибольшим пределом взвешивания 20 г 2-го класса точности.

* С 1 июля 2002 г. вводится в действие ГОСТ 24104—2001.

**Издание официальное**

Спектрофотометр диапазоном измерения, позволяющим проводить исследования при длине волны 509 нм, допускаемой абсолютной погрешностью измерений коэффициента пропускания не более 1 %; кюветы стеклянные или кварцевые рабочей длиной 10 мм.

Узкополосный линейчатый фотометр с ртутной лампой и фильтром на 509 нм (фотоколориметр), допускаемой абсолютной погрешностью измерений коэффициента светопропускания 1 % (допускается использовать взамен спектрофотометра); кюветы стеклянные или кварцевые рабочей длиной 10 мм.

Секундомер механический или электрический допускаемой погрешностью измерения времени не более 2 с.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 допускаемой погрешностью измерения температуры ±2 °С в диапазоне измерений 0— 100 °С.

Баня водяная [1].

Электроплитка по ГОСТ 14919.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 исполнения 2 номинальной вместимостью 250 и 100 $см^3$.

Пипетки по ГОСТ 29227 типа 3 исполнения 1 1-го класса точности номинальной вместимостью 1, 2 и 10 $см^3$.

Пробирки градуированные по ГОСТ 1770 исполнения 2 номинальной вместимостью 20 или 25 $см^3$ с пластмассовыми пробками.

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

Фильтры бумажные обеззоленные марки ФОМ по ГОСТ 12026.

Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

Пролин, ч. д. а., из набора аминокислот № 2 [2].

Монометиловый эфир этиленгликоля [3], х. ч.

Нингидрин 1-водный [4], раствор в монометиловом эфире этиленгликоля массовой концентрацией 30 $г/дм^3$.

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

Бутиловый эфир уксусной кислоты по ГОСТ 22300, х. ч. (бутилацетат).

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

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается использование других средств измерений с метрологическими характеристиками, оборудования и вспомогательных устройств с техническими характеристиками, реактивов и материалов с качественными характеристиками, не уступающими перечисленным выше.

## 5 Отбор и подготовка проб

Отбор проб — по ГОСТ 26313.

При исследовании концентрированных соков пробу разводят до заранее заданной относительной плотности (см. Приложение А), которую определяют в соответствии с ГОСТ 29030.

Соки предполагаемой массовой концентрации пролина более 50 $мг/дм^3$ разбавляют водой следующим образом:

- при массовой концентрации пролина от 50 до 500 $мг/дм^3$ включительно к одному объему пробы добавляют девять объемов воды;
- при массовой концентрации пролина свыше 500 до 1000 $мг/дм^3$ включительно к одному объему пробы добавляют 19 объемов воды.

Соки с интенсивной окраской и предполагаемой массовой концентрации пролина менее 50 $мг/дм^3$ разбавляют водой в 2— 5 раз по объему в зависимости от интенсивности окраски пробы.

При разведении пробы рассчитывают фактор разведения $F$, определяемый как отношение объема пробы после разведения к исходному объему пробы, взятому для разведения.

## 6 Порядок подготовки к проведению испытаний

### 6.1 Приготовление основного и рабочих растворов пролина

Навеску пролина массой 25 мг количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$. В колбу вносят небольшое количество воды. Содержимое колбы перемешивают до полного растворения кристаллов пролина, после чего объем в колбе доводят водой до метки, содержимое колбы тщательно перемешивают. Получают основной раствор пролина массовой концентрации 100 $мг/дм^3$.

Рабочие растворы пролина готовят разведением основного раствора. Для этого в мерные колбы вместимостью 100 $см^3$ вносят 5, 10, 25, 40 и 50 $см^3$ основного раствора и доводят объемы в колбах водой до метки. Содержимое колб тщательно перемешивают. Массовая концентрация пролина в полученных рабочих растворах составляет соответственно 5, 10, 25, 40 и 50 $мг/дм^3$.

Срок годности основного и рабочих растворов — 20 сут при хранении в холодильнике.

### 6.2 Определение градуировочного коэффициента

Готовят пять исследуемых растворов и пять растворов сравнения. В пробирки для приготовления исследуемых растворов вносят по 1 $см^3$ каждого рабочего раствора пролина, 1 $см^3$

раствора муравьиной кислоты и 2 см$^3$ раствора нингидрина. В пробирки для приготовления растворов сравнения вносят по 1 см$^3$ каждого рабочего раствора пролина, 1 см$^3$ раствора муравьиной кислоты и 2 см$^3$ монометилового эфира этиленгликоля. Содержимое всех пробирок тщательно перемешивают после добавления каждого реактива. Пробирки помещают на кипящую водяную баню, при этом уровень воды в бане должен быть выше уровня жидкости в пробирках. Необходимо следить за тем, чтобы вода в бане постоянно кипела. Пробирки с исследуемыми жидкостями выдерживают на водяной бане в течение 15 мин, после чего охлаждают в воде температурой около 20 °С от 5 до 10 мин. В пробирки вносят по 10 см$^3$ бутилацетата, закрывают пробками и интенсивно встряхивают. После разделения слоев из каждой пробирки отбирают пипеткой верхний слой и фильтруют его через воронку с ватным тампоном и нанесенным на него слоем сульфата натрия толщиной от 1 до 2 см. По истечении 15 мин после окончания фильтрации измеряют оптическую плотность фильтрата исследуемого раствора относительно соответствующего раствора сравнения в кюветах рабочей длиной 1 см на спектрофотометре или на фотоколориметре при длине волны 509 нм. По полученным значениям оптической плотности строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс массовую концентрацию пролина в рабочем растворе, мг/дм$^3$, по оси ординат — соответствующее значение оптической плотности. При правильном выполнении всех предшествующих операций градуировочный график представляет собой прямую линию, проходящую через начало координат.

Градуировочный коэффициент рассчитывают следующим образом. В трех различных точках градуировочного графика (например при массовых концентрациях пролина 10, 25 и 40 мг/дм$^3$) определяют соответствующие значения оптической плотности. Для этих точек рассчитывают градуировочные коэффициенты $K$, мг/дм$^3$·ед. оптической плотности по формуле

$$K = \frac{C}{D}, \qquad (1)$$

где $C$ — массовая концентрация пролина в рабочем растворе, мг/дм$^3$;

$D$ — оптическая плотность, ед. оптической плотности.

Из полученных значений рассчитывают среднеарифметическое значение, которое принимают за окончательный результат определения градуировочного коэффициента.

Градуировочный коэффициент следует определять при испытании каждой серии образцов.

## 7 Порядок проведения испытаний

Для каждой пробы проводят одновременно два параллельных определения. При каждом определении готовят исследуемый раствор и раствор сравнения. В пробирку для приготовления исследуемого раствора вносят 1 см$^3$ пробы, 1 см$^3$ раствора муравьиной кислоты и 2 см$^3$ раствора нингидрина. В пробирку для приготовления раствора сравнения вносят 1 см$^3$ пробы, 1 см$^3$ раствора муравьиной кислоты и 2 см$^3$ монометилового эфира этиленгликоля. Содержимое обеих пробирок тщательно перемешивают после добавления каждого реактива. Пробирки помещают на кипящую водяную баню. Уровень воды в бане должен быть выше уровня жидкости в пробирках. Необходимо следить за тем, чтобы вода в бане постоянно кипела. Пробирки с исследуемыми жидкостями выдерживают в водяной бане в течение 15 мин, после чего пробирки охлаждают в воде температурой около 20 °С от 5 до 10 мин. В пробирки вносят по 10 см$^3$ бутилацетата, закрывают пробками и интенсивно встряхивают. После разделения слоев из каждой пробирки отбирают пипеткой верхний слой и фильтруют его через воронку с ватным тампоном и нанесенным на него слоем сульфата натрия толщиной от 1 до 2 см. По истечении 15 мин после окончания фильтрации измеряют оптическую плотность фильтрата исследуемого раствора относительно соответствующего раствора сравнения в кюветах рабочей длиной 1 см на спектрофотометре или на фотоколориметре при длине волны 509 нм.

## 8 Правила обработки и оформления результатов испытаний

Массовую концентрацию пролина $X$, мг/дм$^3$, рассчитывают по формуле

$$X = DKF, \qquad (2)$$

где $D$ — оптическая плотность исследуемого раствора, ед. оптической плотности;

$K$ — градуировочный коэффициент, мг/дм$^3$ · ед. оптической плотности;

$F$ — фактор разведения пробы.

Вычисления проводят до первого десятичного знака.

За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округленное до целого значения. Для концентрированных соков при представлении результата испытания следует указывать значение относительной плотности, до которого была разведена проба перед испытанием.

Абсолютное расхождение между результатами двух параллельных определений, выполненных в одной лаборатории, не должно превышать значения показателя сходимости *d*. Значение показателя сходимости при вероятности $P = 0,95$ составляет 0,8 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина до 50 мг/дм$^3$, 5,5 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина свыше 50 до 500 мг/дм$^3$ включительно, 35 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина свыше 500 до 1000 мг/дм$^3$ включительно.

Абсолютное расхождение между результатами двух измерений, выполненных в двух лабораториях, не должно превышать значения показателя воспроизводимости *D*. Значение показателя воспроизводимости при вероятности $P = 0,95$ составляет 2,0 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина до 50 мг/дм$^3$, 11 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина свыше 50 до 500 мг/дм$^3$ включительно, 73 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина свыше 500 до 1000 мг/дм$^3$ включительно.

Абсолютная погрешность измерения при соблюдении всех условий, регламентируемых настоящим стандартом, при вероятности $P$=0,95 не превышает 1,4 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина до 50 мг/дм$^3$, 7,8 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина свыше 50 до 500 мг/дм$^3$ включительно, 52 мг/дм$^3$ при массовой концентрации пролина свыше 500 до 1000 мг/дм$^3$ включительно.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А
(рекомендуемое)

## ОТНОСИТЕЛЬНАЯ ПЛОТНОСТЬ РАЗВЕДЕННЫХ ПЕРЕД ИСПЫТАНИЕМ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ СОКОВ

| Наименование сока | Относительная плотность $\rho_{20/20}$ |
|---|---|
| Абрикосовый | 1,045 |
| Ананасовый | 1,052 |
| Апельсиновый | 1,045 |
| Виноградный | 1,065 |
| Вишневый | 1,055 |
| Грейпфрутовый | 1,040 |
| Грушевый | 1,048 |
| Клубничный | 1,028 |
| Лимонный | 1,032 |
| Малиновый | 1,028 |
| Манго | 1,061 |
| Персиковый | 1,040 |
| Черносмородиновый | 1,047 |
| Яблочный | 1,045 |

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(справочное)

## Библиография

[1] ТУ 46-22-603— 75 Баня водяная лабораторная с электрическим или огневым подогревом
[2] ТУ 6-09-3147— 78 Набор аминокислот № 2 (большой)
[3] ТУ 6-09-4398— 77 Монометиловый эфир этиленгликоля
[4] ТУ 6-09-5043— 86 Нингидрин 1-водный

ОКС 67.080 Н 59 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: плодовые и овощные соки, пролин, фотометрический метод



gost.e-ecolog.ru