ГОСТ 24556—89

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА С

Издание официальное

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 664.841/.851.001.4:006.354 Группа Н59

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

Методы определения витамина С

ГОСТ 24556—89

Products of fruits and vegetables processing.
Methods for determination of vitamin C

МКС 67.080.01
ОКСТУ 9109

Дата введения 01.01.90

Настоящий стандарт распространяется на продукты переработки плодов и овощей и устанавливает методы определения витамина С: титриметрический с визуальным титрованием — для определения аскорбиновой кислоты в продуктах, дающих светлоокрашенные экстракты; титриметрический с потенциометрическим титрованием и фотометрический для определения аскорбиновой кислоты в продуктах, дающих темноокрашенные экстракты; титриметрический с цистеином и флуорометрический для определения суммы аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот.

Методики предназначены для определения витамина С в продуктах с массовой долей не менее $1 \cdot 10^{-3}$ %; при использовании флуорометрического метода — не менее $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ %.

1. МЕТОД ОТБОРА ПРОБ

Отбор и подготовка проб к испытанию — по ГОСТ 26313.

2. ТИТРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

2.1. Сущность метода

Метод основан на экстрагировании витамина С раствором кислоты (соляной, метафосфорной или смесью уксусной и метафосфорной) с последующим титрованием визуально или потенциометрически раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до установления светло-розовой окраски.

2.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104*, 1-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 500 г и допускаемой погрешностью ± 0,01 г.

Гомогенизатор.

pH-метр-милливольтметр лабораторный для измерения pH и окислительно-восстановительных потенциалов с диапазонами от минус 1 до плюс 14 мВ и погрешностью не более ± 0,05 при измерении pH и диапазонами от минус 100 до плюс 1400 мВ и погрешностью не более ± 5 мВ при измерении окислительно-восстановительных потенциалов. При измерении окислительно-восстановительных потенциалов используют электроды: измерительный — платиновый, вспомогательный — хлорсеребряный.

Мешалка магнитная с плавным регулированием частоты вращения.

Секундомер с погрешностью 0,2 с.

Воронки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 диаметром от 5 до 10 см.

Колбы мерные лабораторные стеклянные по ГОСТ 1770 вместимостью 100,500, 1000, 2000 $см^3$.

* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001 (здесь и далее).

Издание официальное Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1989
© ИПК Издательство стандартов, 2003

Колбы лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 50,100, 250 $см^3$.

Микробюретка по НТД с ценой деления не более 0,01 $см^3$.

Палочки стеклянные.

Пипетки мерные лабораторные стеклянные по НТД исполнений 1,4 и 5 1-го класса точности вместимостью 1 $см^3$; исполнений 1,4 и 5, 1 и 2-го классов точности вместимостью 2 $см^3$; исполнений 2,3,6 и 7, 1 и 2-го классов точности вместимостью 5, 10, 20, 25 $см^3$.

Стаканы лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 50,100,1000 $см^3$.

Ступка и пестик лабораторные фарфоровые по ГОСТ 9147 соответственно с наружным диаметром 70 или 90 мм и высотой 90 мм.

Цилиндры мерные лабораторные стеклянные по ГОСТ 1770 вместимостью 100, 250 $см^3$.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Песок кварцевый очищенный и прокаленный по ГОСТ 28561 п. 2.2.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Ацетон по ГОСТ 2603.

2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия, раствор массовой концентрации 0,250 $г/дм^3$.

Кислота аскорбиновая должна соответствовать требованиям Государственной фармакопеи СССР, изд. X, растворы массовыми концентрациями 1,0 и 0,1 $г/дм^3$.

Кислота азотная по ГОСТ 4461 плотностью 1,41 $г/см^3$, раствор с объемной долей 25 %.

Кислота метафосфорная по ГОСТ 841, растворы с массовой долей 3 и 6 %. Раствор с массовой долей 3 % готовят в день испытаний разбавлением раствора с массовой долей 6 %. Раствор с массовой долей 6 % хранят в холодильнике в течение 10 дней.

Кислота соляная по ГОСТ 3118 плотностью 1,19 $г/см^3$, раствор с массовой долей 2 %.

Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 61 и раствор с массовой долей 3 %.

Кислота хлорная, раствор молярной концентрации 0,1 $моль/дм^3$. Готовят перед обработкой электродов.

Кислота этилендиаминтетрауксусная или двунатриевая соль кислоты, раствор с массовой долей 5 %.

Калий йодистый по ГОСТ 4232, раствор с массовой долей 1 % в растворе уксусной кислоты с массовой долей 3 %. Готовят перед обработкой электродов.

Натрий уксуснокислый плавленый, насыщенный раствор, готовят следующим образом: 200 г соли растворяют в 300 $см^3$ воды.

Формальдегид, раствор с массовой долей 36—40 %.

Допускается применение импортной аппаратуры, лабораторной посуды и реактивов по классу точности и качеству не ниже отечественных.

Для проведения испытания, если нет других указаний, применяют реактивы квалификации «чистый для анализа» (ч.д.а.) и дистиллированную воду или воду эквивалентной чистоты.

2.3. Подготовка к испытанию

2.3.1. Приготовление экстрагирующего раствора

В качестве экстрагирующего раствора используют растворы кислот — соляной с массовой долей 2 %, метафосфорной с массовой долей 3 % или смеси уксусной и метафосфорной кислот, которую готовят следующим образом: 15 г метафосфорной кислоты растворяют в 250 $см^3$ дистиллированной воды, прибавляют 40 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, доводят водой до объема 500 $см^3$, перемешивают и фильтруют в склянку с притертой пробкой. Хранят в холодильнике не более 10 дней.

2.3.2. Приготовление стандартных растворов аскорбиновой кислоты

Для приготовления раствора аскорбиновой кислоты концентрации 1,0 $г/дм^3$ взвешивают 0,1000 г аскорбиновой кислоты с погрешностью не более ± 0,0001 г, растворяют в экстрагирующем растворе в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки тем же раствором и перемешивают.

Для приготовления раствора концентрации 0,1 $г/дм^3$ вносят пипеткой 10 $см^3$ раствора аскорбиновой кислоты концентрации 1,0 $г/дм^3$ в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки экстрагирующим раствором и перемешивают.

Растворы аскорбиновой кислоты неустойчивы, поэтому их готовят перед проведением испытания.

2.3.3. Приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и определение его титра

0,05 г 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия растворяют приблизительно в 150 $см^3$ горячей воды, предварительно прокипяченной в течение 30 мин или содержащей 0,042 г двууглекислого натрия, охлаждают до комнатной температуры, доводят до объема 200 $см^3$ той же охлажденной водой, перемешивают и фильтруют в темную склянку. Раствор хранят в холодильнике не более 10 дней.

Титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия устанавливают по стандартному раствору

аскорбиновой кислоты концентрации 1,0 и 0,1 г/дм^3 в день проведения испытания. Для этого в две колбы вместимостью 50 или 100 см^3, в которые предварительно прибавлено по 9 см^3 воды, вносят пипеткой по 1 см^3 раствора аскорбиновой кислоты и быстро титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до светло-розовой окраски, не исчезающей в течение 15—20 с.

Одновременно проводят контрольное испытание. Для этого в колбу вместимостью 50 или 100 см^3 вносят 1 см^3 экстрагирующего раствора, 9 см^3 дистиллированной воды и титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

Титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в граммах аскорбиновой кислоты, эквивалентного одному кубическому сантиметру раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, вычисляют по формуле

$$T = \frac{m}{V_1 - V_2},$$

где m — масса аскорбиновой кислоты, содержащаяся в 1 см^3 стандартного раствора, г;

V_1 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на титрование стандартного раствора аскорбиновой кислоты, см^3;

V_2 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см^3.

2.3.4. Приготовление раствора ацетатного буферного, с pH 4 готовят следующим образом: растворяют 300 г безводного уксуснокислого натрия в 700 см^3 дистиллированной воды, добавляют 1000 см^3 ледяной уксусной кислоты, перемешивают и с помощью pH-метра устанавливают pH 4, добавляя, при необходимости, снова кислоту.

2.3.5. Подготовка электродов для потенциометрического титрования

Измерительный платиновый электрод помещают в стакан вместимостью 50 см^3 с раствором азотной кислоты, кипятят от 5 до 10 мин, промывают дистиллированной водой и оставляют в воде от 2 до 3 сут. Затем измерительный и вспомогательный электроды опускают в стакан вместимостью 100 см^3 с раствором хлорной кислоты и замыкают накоротко (т.е. соединяют клеммы между собой). Через 2 ч электроды вынимают, не размыкая, промывают дистиллированной водой и помещают в стакан вместимостью 50 см^3: измерительный — с раствором йодистого калия, вспомогательный — с дистиллированной водой. Через 15 мин электроды размыкают, измерительный электрод промывают дистиллированной водой.

Обработке подвергают электроды, не бывшие в употреблении, или после перерыва в работе более 6 мес. Хранят в стакане с дистиллированной водой.

2.4. Проведение испытания

2.4.1. Экстрагирование

Для приготовления экстракта навеску пробы массой от 5 до 50 г взвешивают с погрешностью ±0,01 г.

2.4.1.1. Для экстрагирования витамина С из сухих продуктов навеску пробы от 5 до 10 г растирают в ступке с небольшими количествами экстрагирующего раствора кислоты или смеси кислот (не менее 1 см^3 раствора на 1 г пробы) и песка, переносят в мерную колбу или мерный цилиндр вместимостью 100 см^3, смывая ступку и пестик небольшими порциями экстрагирующего раствора до тех пор, пока объем не достигнет метки. Содержимое выдерживают в течение 10 мин, перемешивают и фильтруют.

2.4.1.2. Для экстрагирования витамина С из продуктов плотной консистенции навеску пробы от 5 до 50 г гомогенизируют не более 2 мин с небольшим количеством экстрагирующего раствора (не менее 1 см^3 раствора на 1 г пробы) и переносят в мерные колбу или цилиндр вместимостью 100 см^3, смывая гомогенизатор небольшими порциями экстрагирующего раствора до тех пор, пока объем не достигнет метки. Содержимое выдерживают в течение 10 мин, перемешивают и фильтруют.

2.4.1.3. Для экстрагирования витамина С из жидких продуктов навеску пробы от 5 до 50 г переносят в мерные колбы или цилиндр вместимостью 100 см^3, смывая стенки стакана небольшими порциями экстрагирующего раствора до тех пор, пока объем не достигнет метки. Содержимое выдерживают в течение 10 мин, перемешивают и фильтруют.

2.4.1.4. При исследовании продуктов, содержащих диоксид серы (SO_2), навеску пробы от 5 до 50 г обрабатывают в зависимости от вида продукта, как указано в пп. 2.4.1.1—2.4.1.3, переносят в мерные колбу или цилиндр вместимостью 100 см^3, добавляют ацетон в объеме, равном $^1/_5$ части массы навески, перемешивают доводят до метки экстрагирующим раствором. Содержимое выдерживают 10 мин, снова перемешивают и фильтруют.

2.4.1.5. При исследовании продуктов, фасованных в металлическую тару, навеску пробы от 5 до 30 г обрабатывают в зависимости от вида продукта, как указано в пп. 2.4.1.1—2.4.1.3, переносят в мерные колбу или цилиндр вместимостью 100 см^3 при помощи экстрагирующего раствора, доводят до объема 50 см^3 и перемешивают. Через 10 мин прибавляют 10 см^3 насыщенного уксуснокислого натрия или 30 см^3 ацетатного буферного раствора, прибавляют 10 см^3 раствора этилендиаминтетрауксусной кислоты или ее соли, перемешивают, доводят до метки экстрагирующим раствором, снова перемешивают и фильтруют.

2.4.1.6. Полученные экстракты сразу используют для титрования.

2.4.2. Визуальное титрование

2.4.2.1. В колбу вместимостью 50 или 100 см^3 пипеткой вносят от 1 до 10 см^3 экстракта, полученного по п. 2.4.1, доводят объем водой до 10 см^3 и титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 15—20 с.

2.4.2.2. Одновременно проводят контрольное испытание на содержание в продукте редуцирующих веществ. Для этого в колбу помещают такой же объем экстракта, как при определении по п. 2.4.2.1, прибавляют равный ему объем ацетатного буферного раствора, раствор формальдегида в объеме, равном половине объема буферного раствора, перемешивают и выдерживают в течение 10 мин, закрыв предварительно колбу пробкой. Затем содержимое титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

2.4.3. Потенциометрическое титрование

2.4.3.1. В стакан вместимостью 50 см^3 вносят пипеткой объем экстракта, полученного по п. 2.4.1, но не более 25 см^3, прибавляют экстрагирующий раствор приблизительно до объема 30 см^3 и погружают электроды pH-метра-милливольтметра так, чтобы при перемешивании они не касались магнитного стержня мешалки. Затем титруют потенциометрически из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия прибавляют порциями по 0,1—0,2 см^3 при постоянном перемешивании. Записывают показания прибора в милливольтах, соответствующие каждому прибавленному объему раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. При титровании стрелка прибора сначала отклоняется влево, затем ее движение замедляется и после точки эквивалентности стрелка отклоняется вправо. Объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, соответствующий точке эквивалентности и, следовательно, израсходованный на титрование объема, устанавливают по максимальной разнице («скачку») двух соседних показаний прибора или по потенциометрической кривой зависимости величины потенциала в милливольтах от объема раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в кубических сантиметрах.

2.4.3.2. Одновременно проводят контрольное испытание на содержание в продукте редуцирующих веществ так, как указано в п. 2.4.2.2. Раствор титруют потенциометрически.

2.4.3.3. За результат титрования принимают среднее арифметическое результатов двух титрований одного экстракта. При повторном титровании в области предполагаемой точки эквивалентности раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия прибавляют по 1—2 капли.

2.5. Обработка результатов

2.5.1. Массовую долю аскорбиновой кислоты (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot T \cdot V_3 \cdot 100}{V_4 \cdot m},$$

где V_1 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на титрование экстракта пробы, см^3;

V_2 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см^3;

T — титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г/см^3;

V_3 — объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см^3;

V_4 — объем экстракта, используемый для титрования, см^3;

m — масса навески продукта, г.

2.5.2. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Вычисления проводят до четырех значащих цифр после запятой, результат округляют до трех значащих цифр и выражают в виде произведения числа на 10^{-3}.

Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 3 % от среднего арифметического значения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

3. ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

3.1. Сущность метода

Метод основан на экстрагировании витамина С метафосфорной кислотой или смесью уксусной и метафосфорной кислот, восстановлении 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия аскорбиновой кислотой с последующей экстракцией органическим растворителем (амилацетатом, бутилацетатом или ксилолом) избытка 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и фотометрировании органического экстракта при длине волны 500 нм.

3.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Аппаратура, материалы и реактивы — по п. 2.2 со следующим дополнением.

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая частоту вращения 2000 $мин^{-1}$, с центрифужными пробирками с притертыми пробками вместимостью 25 $см^3$.

Колориметр фотоэлектрический лабораторный или спектрофотометр, обеспечивающие измерение оптической плотности при длине волны λ_{max} = (500 ± 10) нм.

Воронки делительные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 50 $см^3$.

Прибор для перегонки на шлифах.

Эфир уксусной кислоты амиловый (амилацетат).

Эфир уксусной кислоты бутиловый (бутилацетат) по ГОСТ 22300.

Гидрохинон, полунасыщенный раствор в ацетоне.

Ксилол.

3.3. Подготовка к испытанию

3.3.1. Приготовление растворов по п. 2.3 со следующим дополнением

3.3.1.1. Приготовление полунасыщенного раствора гидрохинона.

Сначала готовят насыщенный раствор гидрохинона в ацетоне. Для этого 1 г гидрохинона растворяют в 10 $см^3$ ацетона и фильтруют. Полунасыщенный раствор гидрохинона готовят смешиванием одного объема насыщенного раствора с таким же объемом ацетона.

3.3.1.2. Органический растворитель не должен содержать окисляющих веществ. Проверку его чистоты осуществляют следующим образом: к 1 $см^3$ раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия сначала прибавляют раствор аскорбиновой кислоты до обесцвечивания, затем добавляют 10 $см^3$ растворителя, взбалтывают и оставляют на 10 мин. Если органический слой будет окрашен, то его следует очистить перегонкой, собирая фракцию, перегоняющуюся соответственно при температурах: амилацетат — при 149 °С, бутилацетат — при 126 °С, ксилол — при 137—141 °С.

Использованный после испытания органический растворитель очищают перегонкой, как указано выше.

Все работы с органическим растворителем следует проводить в вытяжном шкафу.

3.3.2. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика готовят пять растворов. Для этого в центрифужные пробирки или делительные воронки вносят: в первую — 5,0 $см^3$ экстрагирующего раствора кислот, в остальные последовательно по 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 $см^3$ раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и добавляют экстрагирующий раствор до объема 5,0 $см^3$. Во все пробирки или делительные воронки прибавляют по 5 $см^3$ ацетатного буферного раствора, перемешивают и затем прибавляют по 10 $см^3$ органического растворителя.

Пробирки или делительные воронки закрывают пробками и содержимое перемешивают в течение 10 с. Пробирки центрифугируют, а воронки оставляют в покое до разделения слоев. Органический слой переносят в кювету с расстоянием между рабочими гранями 10 мм и измеряют его оптическую плотность при длине волны 500 нм. В качестве контрольного раствора сравнения используют чистый растворитель.

По полученным данным строят график зависимости оптической плотности органического экстракта 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия от объема раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в кубических сантиметрах.

Построение градуировочного графика проводят для каждого свежеприготовленного раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия.

3.4. Проведение испытания

3.4.1. Экстрагирование

Экстрагирование витамина С из продукта проводят по п. 2.4.1.

3.4.2. В центрифужную пробирку или делительную воронку вносят пипеткой от 1 до 5 $см^3$ экстракта испытуемой пробы, добавляют экстрагирующего раствора до объема 5 $см^3$, такой же объем

ацетатного буферного раствора и раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в объеме не более 2 см^3. Перемешивают и прибавляют 10 см^3 органического растворителя. Далее испытание проводят по п. 3.3.2.

При получении мутного органического экстракта перед измерением оптической плотности экстракт фильтруют через фильтровальную бумагу.

3.4.3. Одновременно проводят контрольное испытание на содержание в продукте редуцирующих веществ. Для этого в центрифужную пробирку или делительную воронку вносят такие же объемы экстракта и ацетатного буферного раствора, как при испытании исследуемой пробы по п. 3.4.2, прибавляют раствор формальдегида в объеме, равном половине объема буферного раствора, перемешивают и выдерживают в течение 10 мин. После этого прибавляют раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, снова перемешивают и прибавляют 10 см^3 органического растворителя. Затем продолжают испытание по п. 3.3.2.

3.4.4. При содержании в продукте растворимых в органическом растворителе красящих веществ их влияние определяют следующим образом: после проведения испытания по п. 3.4.2 в кювету с органическим экстрактом прибавляют две капли полунасыщенного раствора гидрохинона, перемешивают палочкой, выдерживают 30 с и снова измеряют оптическую плотность. Полученное значение оптической плотности вычитают из начального значения оптической плотности органического экстракта.

3.5. Обработка результатов

3.5.1. Массовую долю аскорбиновой кислоты (X_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_2 - V_3) \cdot T \cdot V_4 \cdot 100}{V_5 \cdot m},$$

где V_1 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на проведение испытания, см^3;

V_2 — объем избытка раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, найденный по градуировочному графику, см^3;

V_3 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см^3;

T — титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г/см^3;

V_4 — объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см^3;

V_5 — объем экстракта, используемый для испытания, см^3;

m — масса навески продукта, г.

3.5.2. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Вычисления проводят до четырех значащих цифр после запятой, результат округляют до трех значащих цифр и выражают в виде произведения числа на 10^{-3}.

Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 3 % от среднего арифметического значения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

4. ТИТРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИСТЕИНА

4.1. Сущность метода

Метод основан на экстрагировании витамина С из продукта раствором метафосфорной кислоты, восстановлении дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую цистеином солянокислым при pH 7,0—7,5, устранении влияния редуцирующих веществ в присутствии формальдегида при pH, близком к нулю, и титровании раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Метод применяется при возникновении разногласий в оценке качества.

4.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют аппаратуру, материалы и реактивы по п. 2.2 со следующим дополнением.

Термостат электрический с водяной рубашкой или суховоздушный, обеспечивающие измерение температуры (37 ± 1)°С.

Колбы мерные лабораторные стеклянные по ГОСТ 1770 вместимостью 50 см^3.

Калий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 2493, раствор с массовой долей 45 %.

Кислота серная по ГОСТ 4204, раствор с объемной долей 50 %.

L-цистеин солянокислый.

4.3. Подготовка к испытанию

4.3.1. Приготовление растворов по п. 2.3.1 со следующим дополнением.

Свежеприготовленный раствор цистеина в растворе соляной кислоты; готовят следующим образом: 50 мг цистеина растворяют в 4 см^3 дистиллированной воды, прибавляют 1 см^3 раствора соляной кислоты плотностью 1,19 г/см^3 и перемешивают.

4.4. Проведение испытания

4.4.1. Экстрагирование

Экстрагирование витамина С из продуктов проводят по п. 2.4.1.

4.4.2. От 10 до 20 см^3 экстракта пипеткой приливают в мерную колбу вместимостью 50 см^3. Одновременно в стакан вместимостью 50 см^3 вносят такой же объем экстракта и приливают порциями раствор фосфорнокислого калия двузамещенного до установления pH 7,0—7,5, измеряя его с помощью pH-метра. Отмечают объем раствора фосфорнокислого калия. После этого в колбу с экстрактом вносят 50 мг цистерна или его раствор, перемешивают до растворения и прибавляют установленный объем фосфорнокислого калия. Колбу закрывают пробкой и выдерживают в термостате при 37 °С в течение 30 мин. После этого раствор в колбе охлаждают, подкисляют раствором серной кислоты до pH, близкого к нулю, и снова охлаждают. Необходимый для подкисления объем серной кислоты также устанавливают предварительно, пользуясь pH-метром, используя для этого стакан с экстрактом после прибавления в него фосфорнокислого калия. Раствор в колбе доводят до метки экстрагирующим раствором и перемешивают.

В колбу вместимостью 50 или 100 см^3 — для визуального титрования или стакан вместимостью 50 см^3 — для потенциометрического титрования вносят пипеткой от 10 до 20 см^3 полученного раствора, прибавляют 2—3 см^3 раствора формальдегида, закрывают крышкой и выдерживают 8 мин, приливают раствор метафосфорной кислоты до объема 30 см^3. Затем титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия: светлоокрашенные растворы — визуальным титрованием, темноокрашенные — потенциометрическим титрованием, как указано в пп. 2.4.2, 2.4.3.

За результат титрования принимают среднее арифметическое результатов двух титрований одного раствора.

4.5 Обработка результатов

4.5.1. Массовую долю витамина С (X_2) в процентах вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{V_1 \cdot T \cdot V_2 \cdot V_3 \cdot 100}{V_4 \cdot V_5 \cdot m},$$

где V_1 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на титрование, см^3;

T — титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г/см^3;

V_2 — объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см^3;

V_3 — объем раствора, полученный после восстановления, см^3;

V_4 — объем экстракта, используемый для восстановления, см^3;

V_5 — объем раствора, используемый для титрования, см^3;

m — масса навески продукта, г.

4.5.2. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Вычисления проводят до четырех значащих цифр после запятой, результат округляют до трех значащих цифр и выражают в виде произведения числа на 10^{-3}.

Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 3 % от среднего арифметического значения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

5. ФЛУОРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

5.1. Сущность метода

Метод основан на экстрагировании витамина С из продукта раствором метафосфорной кислоты или смесью уксусной и метафосфорной кислот, окислении аскорбиновой кислоты активированным углем в дегидроаскорбиновую кислоту, взаимодействии ее с *о*-фенилендиамином с образованием флуоресцирующего соединения и измерении интенсивности флуоресценции при длинах волн 350 нм возбуждающего и 430 нм излучаемого света. Фоновую флуоресценцию измеряют

после образования нефлуоресцирующего соединения дегидроаскорбиновой кислоты с борной кислотой.

5.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения испытания применяют аппаратуру, материалы и реактивы по п. 2.2 со следующим дополнением.

Флуориметр лабораторный, обеспечивающий измерение светового потока с длиной волны (350 ± 30) нм возбуждающего и (430 ± 10) нм излучаемого света, с погрешностью не более 2,5 %.

Шкаф сушильный, обеспечивающий поддержание температуры нагрева 115 °С, с погрешностью не более 5 °С.

Насос вакуумный пластинчато-роторный и золотниковый.

Воронки лабораторные стеклянные с фильтрами из спекшегося стеклянного порошка по ГОСТ 25336, класс фильтра ПОР 16.

Воронка лабораторная фарфоровая Бюхнера по ГОСТ 9147 с наружным диаметром от 80 до 130 мм.

Колба лабораторная стеклянная с тубусом для фильтрования в вакууме по ГОСТ 25336 вместимостью не менее 1000 $см^3$.

Колба мерная лабораторная стеклянная по ГОСТ 1770 вместимостью 25 $см^3$.

Пробирки стеклянные с взаимозаменяемым конусом по ГОСТ 25336 вместимостью 10, 25 $см^3$.

Чашка лабораторная фарфоровая выпарительная по ГОСТ 9147 вместимостью не менее 150 $см^3$.

Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199, раствор с массовой концентрацией 500 $г/дм^3$.

Кислота аскорбиновая, раствор с массовой концентрацией 0,06 $г/дм^3$. Готовят перед проведением испытания.

Кислота борная по ГОСТ 9656, раствор с массовой долей 3 % в растворе уксуснокислого натрия. Готовят непосредственно перед проведением испытания.

Кислота соляная по ГОСТ 3118 плотностью 1,19 $г/см^3$, раствор с объемной долей 10 %.

о-фенилендиамин солянокислый, раствор массовой концентрацией 0,2 $г/дм^3$. Готовят перед проведением испытания.

Уголь активированный.

Для проведения испытания, если нет других указаний, применяют реактивы квалификации «чистый для анализа» (ч.д.а.) или «химически чистый» (х.ч.) и дистиллированную воду или воду эквивалентной чистоты.

5.3. Подготовка к испытанию

5.3.1. Приготовление растворов по п. 2.3.1 со следующим дополнением.

5.3.1.1. Стандартный раствор аскорбиновой кислоты концентрации 0,06 $г/дм^3$

Для приготовления раствора концентрации 0,06 $г/дм^3$ в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят 6,0 $см^3$ раствора аскорбиновой кислоты концентрации 1,0 $г/дм^3$, полученного по п. 2.3.2, доводят экстрагирующим раствором до метки и перемешивают.

5.3.1.2. Обработка активированного угля

200 г угля помещают в колбу вместимостью 2000 $см^3$, прибавляют 1 $дм^3$ раствора соляной кислоты, доводят до кипения и фильтруют через воронку Бюхнера в вакууме. Уголь переносят в стакан вместимостью 1000 $см^3$, прибавляют 1 $дм^3$ дистиллированной воды, перемешивают и снова фильтруют через воронку Бюхнера, еще раз смешивают уголь с 1 $дм^3$ воды и фильтруют. Обработку водой повторяют. Отфильтрованный уголь помещают в фарфоровую чашку и высушивают при температуре 115 °С в течение 12—14 ч в сушильном шкафу. Хранят в склянке с притертой пробкой.

5.4. Проведение испытания

5.4.1. Экстрагирование

Экстрагирование витамина С из продукта проводят раствором метафосфорной кислоты или смесью уксусной и метафосфорной кислот по п. 2.4.1.

5.4.2. Берут две колбы вместимостью 250 $см^3$. В одну из них вносят 50 или 100 $см^3$ испытуемого экстракта, в другую —такой же объем стандартного раствора аскорбиновой кислоты концентрации 0,06 или 0,1 $г/дм^3$. Затем в обе колбы прибавляют соответственно по 1 или 2 г активированного угля, тщательно перемешивают и фильтруют через воронку с фильтрами из пористой пластинки или фильтровальной бумаги, отбрасывая первые порции фильтрата.

5.4.3. Анализируемые растворы. В две мерные колбы вместимостью 25 $см^3$ помещают по 5 $см^3$ раствора уксуснокислого натрия, затем в одну прибавляют 5 $см^3$ фильтрата анализируемой пробы, в другую — 5 $см^3$ фильтрата стандартного раствора, полученных по п. 5.4.2. Содержимое колб доливают до метки дистиллированной водой и перемешивают.

5.4.4. Контрольные растворы. Для установления влияния фоновой флуоресценции в две мерные колбы вместимостью по 25 см^3 каждая помещают по 5 см^3 раствора борной кислоты и по 5 см^3 фильтрата, полученного по п. 5.4.2: в одну — испытуемую пробу, в другую — стандартный раствор. Растворы в колбах выдерживают в течение 15 мин, периодически встряхивая; затем доливают до метки дистиллированной водой и перемешивают.

5.4.5. Каждый раствор, полученный по пп. 5.4.3 и 5.4.4, вносят по 2 см^3 пипеткой в две пробирки. Всего восемь пробирок. Затем во все пробирки прибавляют по 5 см^3 раствора *о*-фенилендиамина, тщательно перемешивают и выдерживают в темноте 35 мин.

5.4.6. Измеряют интенсивность флуоресценции растворов, полученных по п. 5.4.5, при длинах волн 350 нм возбуждающего и 430 нм излучаемого света.

5.5. Обработка результатов

5.5.1. Массовую долю витамина *С* (X_3) в процентах вычисляют по формуле

$$X_3 = \frac{(A - B) \cdot c \cdot V \cdot 100}{(E - D) \cdot m},$$

где A — среднее значение интенсивности флуоресценции раствора анализируемой пробы;

B — среднее значение интенсивности флуоресценции контрольного раствора анализируемой пробы;

E — среднее значение интенсивности флуоресценции стандартного раствора;

D — среднее значение интенсивности флуоресценции контрольного стандартного раствора;

c — массовая концентрация стандартного раствора аскорбиновой кислоты, г/дм^3;

V — общий объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см^3;

m — масса навески продукта, г.

5.5.2. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Вычисления проводят до четырех значащих цифр после запятой, результат округляют до трех значащих цифр и выражают в виде произведения числа на 10^{-3}.

Расхождение между двумя параллельными определениями не должно превышать 3 % от среднего арифметического значения при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Государственным агропромышленным комитетом СССР**

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 27.03.89 № 743**

3. **Стандарт соответствует СТ СЭВ 6245—88**

4. **В стандарт введены международные стандарты ИСО 6557-1—86, ИСО 6557-2—84**

5. **ВЗАМЕН ГОСТ 24556—81**

6. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 61—75	2.2
ГОСТ 199—78	5.2
ГОСТ 841—76	2.2
ГОСТ 1770—74	2.2, 4.2, 5.2
ГОСТ 2493—75	4.2
ГОСТ 2603—79	2.2
ГОСТ 3118—77	2.2, 5.2
ГОСТ 4204—77	4.2
ГОСТ 4232—74	2.2
ГОСТ 4461—77	2.2
ГОСТ 6709—72	2.2
ГОСТ 9147—80	2.2, 5.2
ГОСТ 9656—75	5.2
ГОСТ 12026—76	2.2
ГОСТ 22300—76	3.2
ГОСТ 24104—88	2.2
ГОСТ 25336—82	2.2, 3.2, 5.2
ГОСТ 26313—84	Разд. 1
ГОСТ 28561—90	2.2

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

8. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2003 г.**

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.С. Черная*
Компьютерная верстка *С.В. Рябовой*

Изд. лиц. № 02354 от 14.07.2000. Сдано в набор 28.04.2003. Подписано в печать 27.05.2003. Усл.печ.л. 1,40. Уч.-изд.л. 1,15. Тираж 100 экз. С 10670. Зак. 147.

ИПК Издательство стандартов, 107076 Москва, Колодезный пер., 14.
gost.e-ecolog.ru e-mail: gost.e-ecolog.ru
Наорано и отпечатано в ИПК Издательство стандартов.

gost.e-ecolog.ru