

ГОСТ 24556—89

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА С

Издание официальное

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ

Москва



М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т**ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ****Методы определения витамина С**Products of fruits and vegetables processing.
Methods for determination of vitamin C**ГОСТ
24556—89**МКС 67.080.01
ОКСТУ 9109Дата 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 флуориметрический 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 флуориметрического 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 визуальным или потенциометрическим 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 $\pm 0,01$ 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 $\pm 0,05$ 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 см³.

* 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 см³.

Микробюретка по НТД с ценой деления не более 0,01 см³.

Палочки стеклянные.

Пипетки мерные лабораторные стеклянные по НТД исполнений 1,4 и 5 1-го класса точности вместимостью 1 см³; исполнений 1,4 и 5, 1 и 2-го классов точности вместимостью 2 см³; исполнений 2,3,6 и 7, 1 и 2-го классов точности вместимостью 5, 10, 20, 25 см³.

Стаканы лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 50, 100, 1000 см³.

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 см³.

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/дм³.

Кислота аскорбиновая должна соответствовать требованиям Государственной фармакопеи СССР, изд. X, растворы массовыми концентрациями 1,0 и 0,1 г/дм³.

Кислота азотная по ГОСТ 4461 плотностью 1,41 г/см³, 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/см³, 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/дм³. Готовят перед обработкой электродов.

Кислота этилендиаминтетрауксусная или двунариевая 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 плавленный, насыщенный раствор, готовят следующим образом: 200 г соли растворяют в 300 см³ 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 см³ дистиллированной воды, прибавляют 40 см³ ледяной уксусной кислоты, доводят водой до объема 500 см³, 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/дм³ взвешивают 0,1000 г аскорбиновой кислоты с погрешностью не более $\pm 0,0001$ г, растворяют в экстрагирующем растворе в мерной колбе вместимостью 100 см³, доводят до метки тем же раствором и перемешивают.

Для приготовления раствора концентрации 0,1 г/дм³ вносят пипеткой 10 см³ раствора аскорбиновой кислоты концентрации 1,0 г/дм³ в мерную колбу вместимостью 100 см³, 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 см³ горячей воды, предварительно прокипяченной в течение 30 мин или содержащей 0,042 г двууглекислого натрия, охлаждают до комнатной температуры, доводят до объема 200 см³ 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/дм³ в день проведения испытания. Для этого в две колбы вместимостью 50 или 100 см³, в которые предварительно прибавлено по 9 см³ воды, вносят пипеткой по 1 см³ 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 см³ вносят 1 см³ экстрагирующего раствора, 9 см³ 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 см³ стандартного раствора, г;

V_1 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на титрование стандартного раствора аскорбиновой кислоты, см³;

V_2 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см³.

2.3.4. Приготовление раствора ацетатного буферного, с рН 4 готовят следующим образом: растворяют 300 г безводного уксуснокислого натрия в 700 см³ дистиллированной воды, добавляют 1000 см³ ледяной уксусной кислоты, перемешивают и с помощью рН-метра устанавливают рН 4, добавляя, при необходимости, снова кислоту.

2.3.5. Подготовка электродов для потенциометрического титрования

Измерительный платиновый электрод помещают в стакан вместимостью 50 см³ 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 см³ 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 см³: 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 $\pm 0,01$ 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 см³ раствора на 1 г пробы) и песка, переносят в мерную колбу или мерный цилиндр вместимостью 100 см³, 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 см³ раствора на 1 г пробы) и переносят в мерную колбу или цилиндр вместимостью 100 см³, 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 см³, 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 (SO₂), 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 мерную колбу или цилиндр вместимостью 100 см³, добавляют ацетон в объеме, равном 1/3 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 см³ при помощи экстрагирующего раствора, доводят до объема 50 см³ и перемешивают. Через 10 мин прибавляют 10 см³ насыщенного уксуснокислого натрия или 30 см³ ацетатного буферного раствора, прибавляют 10 см³ 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 см³ пипеткой вносят от 1 до 10 см³ экстракта, полученного по п. 2.4.1, доводят объем водой до 10 см³ 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 см³ вносят пипеткой объем экстракта, полученного по п. 2.4.1, но не более 25 см³, прибавляют экстрагирующий раствор приблизительно до объема 30 см³ и погружают электроды рН-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 см³ при постоянном перемешивании. Записывают показания прибора в милливольтках, 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 милливольтках 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, см³;

V_2 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см³;

T — титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г/см³;

V_3 — объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см³;

V_4 — объем экстракта, используемый для титрования, см³;

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 $\lambda_{\text{max}} = (500 \pm 10) \text{ нм}$.

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 $149 \text{ }^\circ\text{C}$, бутилацетат — при $126 \text{ }^\circ\text{C}$, ксилол — при $137\text{—}141 \text{ }^\circ\text{C}$.

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 — $5,0 \text{ см}^3$ экстрагирующего раствора кислот, в остальные последовательно по $0,2$; $0,4$; $0,6$; $0,8 \text{ см}^3$ раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и добавляют экстрагирующий раствор до объема $5,0 \text{ см}^3$. 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 см³. Перемешивают и прибавляют 10 см³ 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 см³ 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, см³;

V_2 — объем избытка раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, найденный по градуировочному графику, см³;

V_3 — объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, см³;

T — титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г/см³;

V_4 — объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см³;

V_5 — объем экстракта, используемый для испытания, см³;

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 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Колбы мерные лабораторные стеклянные по ГОСТ 1770 вместимостью 50 см³.

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 см³ дистиллированной воды, прибавляют 1 см³ раствора соляной кислоты плотностью 1,19 г/см³ 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 см³ экстракта пипеткой приливают в мерную колбу вместимостью 50 см³. Одновременно в стакан вместимостью 50 см³ вносят такой же объем экстракта и приливают порциями раствор фосфорнокислого калия двузамещенного до установления рН 7,0—7,5, измеряя его с помощью рН-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 рН, близкого к нулю, и снова охлаждают. Необходимый для подкисления объем серной кислоты также устанавливают предварительно, пользуясь рН-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 см³ — для визуального титрования или стакан вместимостью 50 см³ — для потенциометрического титрования вносят пипеткой от 10 до 20 см³ полученного раствора, прибавляют 2—3 см³ раствора формальдегида, закрывают крышкой и выдерживают 8 мин, приливают раствор метафосфорной кислоты до объема 30 см³. 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, см³;

T — титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, г/см³;

V_2 — объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см³;

V_3 — объем раствора, полученный после восстановления, см³;

V_4 — объем экстракта, используемый для восстановления, см³;

V_5 — объем раствора, используемый для титрования, см³;

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 *o*-фенилендиаминном с образованием флуоресцирующего соединения и измерения 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 $115 \text{ }^\circ\text{C}$, с погрешностью не более $5 \text{ }^\circ\text{C}$.

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 $0,06 \text{ г/дм}^3$. 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 $1,19 \text{ г/см}^3$, раствор с объемной долей 10 %.

o-Фенилендиамин солянокислый, раствор массовой концентрацией $0,2 \text{ г/дм}^3$. 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 $0,06 \text{ г/дм}^3$

Для приготовления раствора концентрации $0,06 \text{ г/дм}^3$ в мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят $6,0 \text{ см}^3$ раствора аскорбиновой кислоты концентрации $1,0 \text{ г/дм}^3$, 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 $115 \text{ }^\circ\text{C}$ 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 $0,1 \text{ г/дм}^3$. 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 см³ каждая помещают по 5 см³ раствора борной кислоты и по 5 см³ 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 см³ пипеткой в две пробирки. Всего восемь пробирок. Затем во все пробирки прибавляют по 5 см³ раствора *o*-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/дм³;

V — общий объем экстракта, полученный при экстрагировании витамина С из навески продукта, см³;

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. Рыбовой*

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.
<http://www.standards.ru> e-mail: info@standards.ru
 Набрано и отпечатано в ИПК Издательство стандартов.