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

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

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

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 $A^{1\%}_{1\,см}$ 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 печать14.10.2019. 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 info@gostinfo.ru