



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

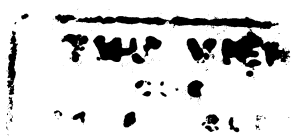
TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

SẢN PHẨM RAU VÀ QUẢ CHẾ BIẾN

Các phương pháp chuẩn độ và so màu xác định
hàm lượng axit ascorbic (vitamin C)

TCVN 5246-90

(ST SEV 6245-1988)



HÀ NỘI

Cơ quan biên soạn: Tiêu Ban kỹ thuật trồng trọt

Cơ quan trình duyệt và đề nghị ban hành:

Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng

Cơ quan xét duyệt và ban hành: Ủy ban Khoa học Nhà nước

Quyết định ban hành số 733/QĐ ngày 31 tháng 12 năm 1990

SẢN PHẨM RAU VÀ QUẢ CHẾ BIẾN

TCVN 5246- 90 !

Các phương pháp chuẩn độ và so màu xác định hàm lượng axit ascobic(Vitamin C) ! (ST SEV 6245- 88) !

!Veget bles and Fruits products.Drterminations of ass-!Khuyến khích !
!cobic acid content(vitaminC)By tit ation and photome-! áp dụng !
! try methods !

Tiêu chuẩn này, quy định các phương pháp xác định hàm lượng axit ascobic (dạng khử của vitamin C) của các sản phẩm rau và quả chế biến.

Phương pháp chuẩn độ - dùng cho các sản phẩm dịch chiết có màu sáng.

Phương pháp so màu - dùng cho các sản phẩm dịch chiết có màu tối.

Tiêu chuẩn này phù hợp với ST SEV 6245-88

1. Phương pháp chuẩn độ

1.1. Bản chất của phương pháp

Phương pháp dựa trên việc chiết axit ascobic bằng hỗn hợp axit axetic và axit metaphotphoric, sau đó chuẩn độ bằng 2,6-natri diclophenolindophenolat đến xuất hiện màu hồng sáng.

1.2. Những quy định chung

1.2.1. Tiến hành thử theo qui định hiện hành

1.2.2. Để tiến hành thử, nếu không có các chỉ dẫn khác, cần sử dụng các thuốc thử loại "tinh khiết phân tích" (t.k.p.t) và nước cất hay nước có độ tinh khiết tương đương.

1.2.3. Nếu sản phẩm đã bị xử lý nhiệt quá lâu hay bảo quản đã lâu ngày thì cần đưa vào các kết quả sự hiệu chỉnh do sự có mặt của một số chất khử khác.

1.3. Mẫu

Chuẩn bị mẫu để thử theo TCVN 5072-90 (ST SEV 5807-86)

1.4. Dụng cụ và vật liệu

Để tiến hành thử cần dùng:

- 1) Cân phòng thí nghiệm có vạch chia không nhỏ hơn 0,1 mg.
- 2) Cân phòng thí nghiệm có độ chính xác loại 2 với vạch chia không lớn hơn 10 mg.
- 3) Máy đồng thể hoá.
- 4) Cối và chày sứ
- 5) Phễu lọc đường kính 5-10 cm
- 6) Bình định mức dung tích 100, 500 và 1000 cm³
- 7) Bình nón dung tích 50 và 100 cm³
- 8) Buret có vạch chia 0,01 và 0,02 cm³
- 9) Pipet dung tích 1, 2, 5 và 10 cm³
- 10) Ống đong dung tích 100 và 200 cm³

11) Cốc đong dung tích 50 và 100 cm³

12) Giấy lọc.

1.5. Thuốc thử và dung dịch

Bể tiến hành thử cần dùng:

1) Hỗn hợp axit axetic và axit metaphotphoric dung dịch chiết, được chuẩn bị như sau: hoà tan 15g axit metaphotphoric vào 250 cm³ nước, thêm vào 40 cm³ axit axetic băng, cho nước đến vạch 500 cm³, khuấy đều và lọc vào bình tối có nút mài. Bảo quản trong tủ lạnh không quá 10 ngày.

2) Axit atcobic, dung dịch chuẩn có nồng độ 1g/dm³, được chuẩn bị bằng cách sau: cân 0,100g axit atcobic với độ sai lệch không quá 0,1mg và hoà tan bằng dung dịch chiết trong bình định mức 100 cm³, thêm tiếp đến vạch mức cũng bằng dung dịch chiết và trộn đều.

3) 2,6-natriciclophenolindophenolat dung dịch có nồng độ 250 mg/dm³, được chuẩn bị như sau: hoà tan 50 mg 2,6-natri diclophenolindophenolat vào nước nóng (50-60)^oC đã được đun sôi trước hay đã hoà tan 42 mg natri bicacbonat, làm lạnh, thêm nước đến thể tích 200 cm³ khuấy đều và lọc vào bình có màu. Bảo quản dung dịch thu được trong tủ lạnh không quá 10 ngày. Độ chuẩn của dung dịch 2,6-natriciclophenolindophenolat được xác định theo dung dịch chuẩn axit atcobic với nồng độ 1g/dm³ trong cùng ngày tiến hành thí nghiệm. Cách làm như sau: từ hai bình nón dung tích 50 hay 100 cm³ đã có sẵn 9 cm³ nước, người ta cho thêm vào mỗi bình 1,0 cm³ dung dịch axit atcobic và chuẩn độ nhanh bằng dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat đến màu hồng sáng không mất đi trong 15-20 giây.

Đồng thời tiến hành thí nghiệm kiểm tra bằng cách cho vào bình nón 1 cm³ dung dịch chiết axit, 9 cm³ nước cất và chuẩn độ bằng dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat.

Độ chuẩn của dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat tính theo miligam axit atcobic tương ứng với 1 cm³ dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat được tính theo công thức:

$$T = \frac{I}{V_1 - V_2}$$

Trong đó:

I- lượng natri atcobic chứa trong 1cm³ dung dịch chuẩn, tính bằng mg;

V₁- thẻ tích trung bình của dung dịch 2,6- natri diclophenolindophenolat đã dùng để chuẩn độ dung dịch chuẩn axit oxalic, tính bằng cm³;

V₂- Thẻ tích dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat đã dùng trong thí nghiệm kiểm tra, tính bằng cm³.

4) Dung dịch đệm axetat, với pH = 4, được chuẩn bị bằng cách: hoà tan 300g natri axetat khan vào trong 700 cm³ nước và trộn đều với 1000 cm³ axit axetic băng.

5) Pơmandehit, dung dịch với nồng độ (36 -40)%;

6) Axeton

7) Axit etylen diamintetraaxetic hay muối dinatri của nó, dung dịch với nồng độ 5%.

8) Natri axetat, dung dịch bão hoà, chuẩn bị bằng cách sau: hoà tan 200g muối trong 300 cm³ nước.

1.6. Chuẩn bị thử

1.6.1. Để chiết các sản phẩm khô, người ta lấy 5-10g mẫu nghiền nhỏ trong cối với một ít dung dịch chiết (không ít hơn 1 cm³ dung dịch trên 1g mẫu) chuyển tất cả vào bình định mức hay ống đong dung tích 100 cm³ bằng dung dịch chiết, đưa thẻ tích đến vạch mức cũng bằng dung dịch chiết này, khuấy trộn đều và qua 10 phút tiến hành lọc.

1.6.2. Để chiết các sản phẩm đặc, người ta lấy 5-50 g mẫu, làm đồng đều không quá 2 phút với một lượng không nhiều dung dịch chiết (không ít hơn 1 cm³ dung dịch trên 1g mẫu), chuyển vào bình định mức hay ống đong dung tích 100 cm³, rửa máy nhiều lần bằng một lượng không nhiều dung dịch chiết tới khi thẻ tích đầy đến vạch mức, trộn đều và sau 10 phút tiến hành lọc.

1.6.3. Để chiết các sản phẩm ở dạng lỏng và nước quả, người ta lấy 5-50 g mẫu, chuyển vào bình định mức hay ống đong dung tích 100cm³ bằng dung dịch chiết, thêm thẻ tích đến vạch mức cũng bằng dung dịch này, trộn đều và sau 10 phút tiến hành lọc.

1.6.4. Để chiết các sản phẩm có chứa lưu huỳnh dioxit (SO₂), người ta lấy 5-50g mẫu, xử lý tùy theo từng loại như đã chỉ ở mục

1.6.1, 1.6.2, 1.6.3 chuyển vào bình định mức hay ống đong dung tích 100 cm³ bằng dung dịch chiết, thêm axeton với một lượng bằng 1/5 khối lượng mẫu, khuấy đều và tiến hành lọc sau 10 phút.

1.6.5. Để chiết các sản phẩm đựng trong các bao bì bằng kim loại người ta lấy 5-30g mẫu, xử lý tùy theo từng loại như đã chỉ ở mục 1.6.1, 1.6.2, 1.6.3, chuyển vào bình định mức hay ống đong dung tích 100 cm³ bằng dung dịch chiết, đổ đến vạch 50 cm³ và khuấy đều. Sau 10 phút thêm vào 10 cm³ dung dịch axit etylendiamin tetra axetic hay muối dinatri của nó, khuấy đều, thêm đến vạch mức bằng dung dịch chiết, khuấy một lần nữa và lọc.

1.7. Tiến hành thử

1.7.1. Dùng pipet cho vào bình nón 1-10 cm³ dịch chiết mẫu thu được theo mục 1.6, sau đó thêm nước cất đến 10 cm³ và chuẩn độ bằng dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat đến xuất hiện màu hồng nhạt không mất đi trong vòng 15 - 20 giây.

1.7.2. Đồng thời tiến hành thí nghiệm kiểm tra như đã chỉ ở mục 1.7.1 nhưng thay thế dung dịch chiết mẫu bằng cùng một lượng như thể dung dịch chiết.

1.7.3. Nếu trong sản phẩm có chứa các chất khử khác thí nghiệm kiểm tra được tiến hành như sau: cho vào bình nón một thể tích dịch chiết mẫu như khi xác định axit escobic theo mục 1.7.1, thêm một lượng đúng như thể đệm axetat và một lượng dung dịch focmandehit bằng 1/2 thể tích dung dịch đệm, khuấy đều và để yên 10 phút. Sau đó chuẩn độ bằng dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat.

1.8. Tính kết quả

1.8.1. Khối lượng axit ascobic (X) tính bằng miligam trên kilôgam sản phẩm được tính theo công thức:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot T \cdot V_4}{m \cdot V_3} \cdot 10^3$$

Trong đó: V₁ - thể tích dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat dùng để chuẩn độ dịch chiết của mẫu

thủ, tính bằng cm^3 ;

V_2 - Thể tích dung dịch 2,6-Netri diclophenolindophenolat dùng để chuẩn độ trong thí nghiệm kiểm tra theo mục 1.7.2 hay mục 1.7.3, tính bằng cm^3 ;

V_3 - Thể tích dịch chiết của mẫu thử lấy để chuẩn độ, tính bằng cm^3

V_4 - Thể tích dịch chiết nhận được khi chiết mẫu thử, tính bằng cm^3 ;

T - độ chuẩn của dung dịch 2,6- netri diclophenolindophenolat, tính bằng mg/cm^3 ;

m - Khối lượng mẫu thử, tính bằng g.

1.8.2. Kết quả cuối cùng là số liệu trung bình của 2 lần xác định song song. Kết quả tính đến một số lẻ sau dấu phẩy và được làm tròn đến số nguyên. Sự sai khác giữa hai phép xác định song song không được vượt quá 3% so với trị số trung bình.

2. Phương pháp so màu

2.1. Bản chất của phương pháp

Phương pháp dựa trên việc chiết axit ascobic bằng hỗn hợp axit axetic và axit metaphosphoric, khử 2,6-netri diclophenolindophenolat bằng axit ascobic sau đó dùng xylen để chiết lượng dư 2,6 - netri diclophenolindophenolat và tiến hành đo mật độ quang của phần chiết xylen này ở bước sóng 500nm.

2.2. Những quy định chung

Những quy định chung-theo mục 1.2 và thêm phần sau:

Tất cả các thao tác với xylen cần phải tiến hành trong tủ hút.

2.3. Mẫu

Chuẩn bị mẫu để thử theo TCVN 5072-90 (ST SEV 5807-86)

2.4. Thiết bị và vật liệu

Thiết bị và vật liệu-theo mục 1.4 và thêm một số sau:

1) Máy li tâm phòng thí nghiệm có tốc độ 2000/phút với các ống li tâm có nút kín, dung tích 25 cm³.

2) Máy so màu quang điện hay quang phổ kế có thể đo mật độ quang ở bước sóng $\lambda = (500 \pm 10) \text{ nm}$

3) Phễu chiết dung tích 50 cm³.

2.5. Dung dịch và thuốc thử

Các dung dịch và thuốc thử-theo mục 1.5 và thêm một số sau:

1) Natri hydroxyt, dung dịch có nồng độ 200g/dm³

2) Xylen, không chứa chất oxy hoá.

Tiến hành kiểm tra độ tinh khiết của xylen theo cách sau: Lấy một ít dung dịch 2,6 -natri diclophenolindophenolat và cho thêm dung dịch axit ascobic đến mất màu, sau đó cho thêm 10 cm³ xylen, lắc đều và để yên trong 10 phút. Nếu lớp xylen có màu thì cần phải làm sạch nó bằng cách chưng cất và thu hồi ở nhiệt độ 137-141°C

Việc làm sạch xylen đã sử dụng sau khi xác định được tiến hành bằng cách trộn vào dung dịch natrihydroxyt và trung hoà bằng axit axetic đến dung dịch có môi trường trung tính, sau đó tiến hành chưng cất như đã chỉ ở trên.

3) Hidroquinon, dung dịch bão hoà của hidroquinon trong axeton được chuẩn bị bằng cách thêm vào dung dịch bão hoà của hidroquinon trong axeton một lượng axeton đúng bằng như thế. Dung dịch được chuẩn bị ngay trước lúc sử dụng.

2.6. Chuẩn bị thử

2.6.1. Việc chiết các mẫu thử được tiến hành tùy theo từng loại sản phẩm như đã chỉ trong mục 1.6.

2.6.2. Để xây dựng đồ thị biểu diễn người ta chuẩn bị 5 dung dịch so sánh, bằng cách cho vào 5 ống nghiệm li tâm hay phễu chiết 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 cm³ dung dịch 2,6-natri.diclophenolindophenolat, thêm dung dịch chiết axit đến thể tích 5 cm³, thêm tiếp 5 cm³ dung dịch đậm axetat, khuấy đều và cho vào mỗi ống 10 cm³ xylen.

Nút ống li tâm hay phễu chiết lại và trộn đều trong 10 giây. Ống

nghiệm đem li tâm, còn phễu chiết thì để lắng đến khi chia thành lớp. Chuyển lớp xylen qua cuvet có chiều dày 10mm và đo mật độ quang của nó ở bước sóng 500nm

Dung dịch đối chứng là xylen tinh khiết.

2.6.3. Theo các kết quả nhận được tiến hành xây dựng đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa mật độ quang của phần chiết xylen dung dịch 2,6-natri diclophenolindophenolat. với thể tích (cm^3) dung dịch 2,6 - natri diclophenolindophenolat.

Việc xây dựng đồ thị biểu diễn được tiến hành cho mỗi lần pha chế dung dịch mới của 2,6-natri diclophenolindophenolat .

2.7. Tiến hành thử

2.7.1. Dùng pipet cho vào ống nghiệm ly tâm hay phễu chiết 1-5 cm^3 dịch chiết của mẫu thử, thêm dung dịch chiết axit đến thể tích 5 cm^3 . Thêm dung một lượng như thể dung dịch đệm axetat và bằng cách nhanh nhất, dùng pipet thêm một lượng không quá 2,0 cm^3 dung dịch 2,5-natri diclophenolindophenolat. Trộn đều và cho tiếp 10,0 cm^3 xylen. Công việc tiếp theo được tiến hành như mục 2.6.2 tính từ lúc li tâm.

Nếu phần chiết xylen thu được bị đục thì trước khi đo mật độ quang cần lọc qua giấy lọc khô.

2.7.2. Đồng thời tiến hành thí nghiệm kiểm tra bằng cách cho vào ống li tâm hay phễu chiết một thể tích dịch chiết đúng bằng thể tích lấy để thí nghiệm. Thêm 10 cm^3 xylen và sau đó tiến hành xác định như mục 2.6.2.

2.7.3. Nếu trong sản phẩm có chứa các chất khử khác thì theo mục 1.2.3 việc xác định chúng được tiến hành bằng cách sau: cho vào ống nghiệm ly tâm hay phễu chiết một thể tích dịch chiết và dung dịch đệm axetat như khi tiến hành xác định mẫu thử, thêm tiếp một thể tích dung dịch focmandehit bằng 1/2 thể tích dung dịch đệm, khuấy đều và để yên 10 phút. Sau đó thêm dung dịch 2,6-natri, diclophenolindo - phenolat lại khuấy một lần nữa và thêm 10 cm^3 xylen. Sau đó tiếp tục xác định như mục 2.6.2.

2.7.4. Khi trong sản phẩm có chứa những chất màu tan được trong

xylen thì việc xác định ảnh hưởng của chúng được tiến hành bằng cách: sau khi tiến hành thử như mục 2.7.1, thêm vào lớp xylen 2 giọt dung dịch nửa bão hòa của hydroquinon, khuấy đều, để lắng sau 30 giây và lại đo mật độ quang. Sau đó lấy giá trị mật độ quang ban đầu của lớp xylen trừ đi giá trị mật độ quang nhận được trong trường hợp này.

2.8. Tính kết quả

2.8.1. Khối lượng axit ascobic(X) tính bằng miligam trên kilôgam sản phẩm được tính theo công thức:

$$X = \frac{(V_1 - V_2 - V_3) \cdot T \cdot V_5}{m \cdot V_4} \cdot 10^3$$

Trong đó:

- V_1 - thể tích dung dịch 2,6-natri diclophenolindo-phenolat lấy để tiến hành thử, tính bằng cm^3 ;
- V_2 - Thể tích dư của dung dịch 2,6-natri diclophenolindo-phenolat tìm thấy trên đồ thị biểu diễn, theo mục 2.7.1, 2.7.4, tính bằng cm^3 ;
- V_3 - Thể tích dung dịch 2,6-natri diclophenolindo-phenolat được dùng trong thí nghiệm kiểm tra hay tác dụng với các chất khử, theo mục 2.7.2 hay 2.7.4, tính bằng cm^3 ;
- T - độ chuẩn của dung dịch 2,6 natri diclophenolindo-phenolat tính bằng mg/cm^3 ;
- V_4 - Thể tích dịch chiết lấy để thử, tính bằng cm^3 ;
- V_5 - Thể tích dịch chiết nhận được khi chiết mẫu thử, tính bằng cm^3 ;
- m - Khối lượng mẫu thử, tính bằng g.

2.8.2. Kết quả cuối cùng là số hiệu trung bình của hai lần xác định song song. Kết quả tính đến một số lẻ sau dấu phẩy và được làm tròn đến số nguyên. Sự sai khác giữa hai phép xác định song song không được vượt quá 3% so với trị số trung bình.