МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод измерения массовой доли витамина РР (ниацина)

Издание официальное

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ
ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
Минск

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН МТК 186 Научно-исследовательским институтом детского питания

ВНЕСЕН Госстандартом России

2 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 12 ноября 1998 г. № 14)

За принятие проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Азербайджанская Республика	Азгосстандарт
Республика Беларусь	Госстандарт Беларуси
Грузия	Грузстандарт
Киргизская Республика	Киргизстандарт
Республика Молдова	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Республика Таджикистан	Таджикгосстандарт
Туркменистан	Главная Государственная инспекция Туркменистана
Республика Узбекистан	Узгосстандарт
Украина	Госстандарт Украины

3 Постановлением Государственного комитета Российской Федерации по стандартизации и метрологии от 28 апреля 1999 г. № 145 межгосударственный стандарт ГОСТ 30627.4—98 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 мая 2000 г.

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2009 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1999
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2009

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод измерения массовой доли витамина РР (ниацина)

Infant milk products.
Method for determination of mass part of vitamin PP (Nicotinamidum)

Дата введения 2000—05—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молочные продукты для детского питания и устанавливает колориметрический метод измерения массовой доли витамина РР (ниацина).

Метод основан на реакции, протекающей в две стадии: 1-я — взаимодействие пиридинового кольца никотиновой кислоты с бромистым роданом, 2-я — образование окрашенного производного глутаконового альдегида. Интенсивность окраски образующегося соединения прямо пропорциональна массовой доле витамина РР, измеряется колориметрически.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3145—84 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 4109—79 Реактивы. Бром. Технические условия

ГОСТ 4139—75 Реактивы. Калий роданистый. Технические условия

ГОСТ 4174—77 Реактивы. Цинк сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4212—76 Реактивы. Приготовление растворов для колориметрического и нефелометрического анализа

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4530—76 Реактивы. Кальций углекислый. Технические условия

ГОСТ 4919.1—77 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов индикаторов

ГОСТ 4919.2—77 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления буферных растворов

ГОСТ 5962—67* Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6016—77 Реактивы. Спирт изобутиловый. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

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

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

** С 1 июля 2002 г. действует ГОСТ 24104—2001.

Издание официальное

ГОСТ 25664—83 Метол (4-метиламинофенол сульфат). Технические условия

ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

ГОСТ 27067—86 Реактивы. Аммоний роданистый. Технические условия

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

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

ГОСТ 29251—91 (ИСО 835-1—84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть I. Общие требования

3 Методы отбора проб

Отбор проб и подготовка их к измерению по ГОСТ 26809.

4 Аппаратура, материалы и реактивы

Баня водяная с обогревом, позволяющая поддерживать температуру от 0 до 100 °С с погрешностью ±2 °С.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Бюретка исполнения 1 2-го класса точности номинальной вместимостью 25 $см^3$ по ГОСТ 29251.

Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г по ГОСТ 24104.

Весы лабораторные общего назначения 4-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г по ГОСТ 24104.

Воронка Бюхнера для горячего фильтрования.

Воронки стеклянные лабораторные типа В по ГОСТ 25336.

Капельница стеклянная лабораторная по ГОСТ 25336.

Колбы для фильтрования под вакуумом (колба Бунзена) вместимостью 2000 $см^3$.

Колбы мерные исполнения 1 2-го класса точности номинальной вместимостью 50, 100, 250, 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Колбы типа Кн исполнения 2 номинальной вместимостью 250, 1000 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Насос стеклянный водоструйный лабораторный.

Пипетки исполнений 4, 5 2-го класса точности номинальной вместимостью 1, 2, 5, 10 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Пипетки исполнений 6, 7 2-го класса точности номинальной вместимостью 25 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Пробирки стеклянные исполнений П1 и П2 номинальной вместимостью 50 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Секундомер 2-го класса [1].

Стакан фарфоровый номинальной вместимостью 1000 $см^3$ по ГОСТ 9147.

Термометр жидкостный (нертутный) диапазоном измерения от 0 до 100 °С, ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

Фотометр фотоэлектрический диапазоном измерения от 220 до 1100 нм [2] или колориметр фотоэлектрический диапазоном измерения от 200 до 2000 нм, диапазоном измерения коэффициента пропускания от 100 до 1 % [3].

Цилиндры исполнения 1 вместимостью 50, 100, 250, 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Часы 2-го класса по ГОСТ 3145.

Шкаф вытяжной.

Активированный уголь.

Аммоний роданистый ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 27067.

Бром ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4109.

Витамин РР (никотиновая кислота) [4].

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий роданистый ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4139.

Кальций углекислый ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4530.
Кислота серная ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4204.
Кислота соляная ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 3118.
Метол х.ч. по ГОСТ 25664.
Натрия гидроокись ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4328.
Спирт изобутиловый по ГОСТ 6016.
Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.
Фенолфталеин [5].
Цинк сернокислый ч. по ГОСТ 4174.

Допускается применение других средств измерения с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а также реактивов и материалов по качеству не ниже вышеуказанных.

Хранение растворов по ГОСТ 4212.

Хранение реактивов и особо чистых веществ по ГОСТ 4919.1 и ГОСТ 4919.2.

5 Подготовка к выполнению измерений

5.1 Приготовление водного раствора серной кислоты молярной концентрации $c(H_2SO_4) = 2{,}5$ моль/дм^3

139 см^3 концентрированной серной кислоты плотностью 1,84 г/см^3 осторожно приливают к 300 см^3 дистиллированной воды в фарфоровом стакане, перемешивают, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят дистиллированной водой до метки и вновь перемешивают.

5.2 Приготовление основного стандартного раствора никотиновой кислоты массовой концентрации 100 мкг/см^3

Взвешивают (0,050±0,004) г никотиновой кислоты на весах 2-го класса точности, растворяют в 300 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 500 см^3, приливают 5 см^3 раствора серной кислоты молярной концентрации $c(H_2SO_4) = 2{,}5$ моль/дм^3. После растворения доводят объем до метки дистиллированной водой и добавляют 0,5 см^3 толуола.

Раствор хранят при (6±2) °С не более 3 мес.

5.3 Приготовление рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты массовой концентрации 2 мкг/см^3

2 см^3 основного стандартного раствора никотиновой кислоты растворяют в 30—50 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.4 Приготовление раствора бромной воды

В темную склянку с притертой пробкой наливают 100 см^3 дистиллированной воды, добавляют в вытяжном шкафу 4 см^3 брома, хорошо встряхивают и выдерживают в защищенном от света месте 3—5 сут для лучшего насыщения.

5.5 Приготовление раствора роданистого калия или роданистого аммония массовой концентрации 0,1 г/см^3

Взвешивают (10,00±0,04) г роданистого калия или роданистого аммония на весах 4-го класса точности, растворяют в 50 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.6 Приготовление роданбромидного раствора

К 20 см^3 охлажденной на льду бромной воде прибавляют по каплям охлажденный раствор роданистого калия или роданистого аммония массовой концентрации 0,1 г/см^3 до полного обесцвечивания бромной воды. К обесцвеченному раствору постепенно добавляют небольшими порциями 0,10—0,15 г углекислого кальция, взвешенного на весах 4-го класса точности, до прекращения выделения пузырьков газа и образования осадка углекислого кальция.

Раствор фильтруют в склянку из темного стекла с притертой пробкой и до использования оставляют во льду.

Готовят роданбромидный раствор только в вытяжном шкафу и непосредственно перед применением.

5.7 Приготовление водного раствора серной кислоты молярной концентрации c (H_2SO_4) = 0,05 моль/дм^3

2,8 см^3 концентрированной серной кислоты плотностью 1,84 г/см^3 растворяют в 300 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.8 Перекристаллизация метола

Отмеривают 500 см^3 раствора серной кислоты молярной концентрации c (H_2SO_4) = = 0,05 моль/дм^3 в коническую колбу вместимостью 1000 см^3 и нагревают до кипения. В кипящий раствор добавляют (100±0,4) г метола, взвешенного на весах 4-го класса точности, и вновь доводят до кипения. Если раствор сильно окрашен, к нему добавляют (10±0,1) г активированного угля, взвешенного на весах 4-го класса точности. Затем раствор немедленно фильтруют через воронку Бюхнера в колбу Бунзена, предварительно нагретые в сушильном шкафу при (80±5) °С. Фильтрат переносят в химический стакан вместимостью 1000 см^3, добавляют 700 см^3 этилового спирта, размешивают стеклянной палочкой и выдерживают в холодильнике 14—16 ч. После этого фильтруют через воронку Бюхнера. Кристаллы на фильтре промывают трижды порциями 30—40 см^3 охлажденного до (6±2) °С этилового спирта и высушивают на воздухе в темном месте.

Перекристаллизованный метол хранят в склянке из темного стекла с притертой пробкой и в защищенном от света месте.

5.9 Приготовление раствора метола массовой концентрации 0,08 г/см^3

(8,00±0,04) г метола, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют в 30—50 см^3 раствора соляной кислоты молярной концентрации c (HCl) = 0,5 моль/дм^3 в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят объем до метки тем же раствором и перемешивают. Раствор готовят перед применением.

5.10 Приготовление раствора серной кислоты молярной концентрации c (H_2SO_4) = 1 моль/дм^3

56 см^3 концентрированной серной кислоты плотностью 1,84 г/см^3 растворяют в 300—500 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.11 Приготовление спиртового раствора фенолфталеина массовой концентрации 10 мг/см^3

(1,00±0,04) г фенолфталеина, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют в 70 см^3 этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 см^3, добавляют 30 см^3 дистиллированной воды и перемешивают.

5.12 Приготовление водного раствора сернокислого цинка массовой концентрации 0,8 г/см^3

(80,00±0,04) г сернокислого цинка, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.13 Приготовление водного раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 10 моль/дм^3

(400,0±0,4) г гидроокиси натрия, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют при перемешивании в 500—700 см^3 дистиллированной воды в фарфоровом стакане, раствор охлаждают до (20±5) °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.14 Приготовление водного раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 4 моль/дм^3

Взвешивают (160,0±0,4) г гидроокиси натрия на весах 4-го класса точности и растворяют при перемешивании в 500—700 см^3 дистиллированной воды в фарфоровом стакане. Раствор охлаждают до (20±5) °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.15 Кислотный гидролиз

Взвешивают (6,00±0,04) г продукта на весах 4-го класса точности, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и приливают 75 см^3 раствора серной кислоты молярной концентрации c (H_2SO_4) = 1 моль/дм^3, смывая воронку и горлышко колбы этим же раствором. Колбу помещают в водяную баню температурой (90±5) °С на (90±1) мин. По истечении времени колбы охлаждают, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр.

5.16 Очистка фильтрата

25 см^3 полученного фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 см^3, пипеткой добавляют две капли спиртового раствора фенолфталеина и приливают раствор гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 10 моль/дм^3 до получения бледно-розового окрашивания. Избыток щелочи нейтрализуют раствором серной кислоты молярной концентрации c (H_2SO_4) = = 2,5 моль/дм^3 до обесцвечивания.

Затем раствор охлаждают до (20±5) °С, добавляют 2 см^3 раствора сернокислого цинка массовой концентрации 0,8 г/см^3 и для устранения пены 1—2 капли этилового или изобутилового спирта. Перемешивая содержимое колбы, добавляют по каплям раствор гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 4 моль/дм^3 до образования густого осадка гидроокиси цинка и появления бледно-розового окрашивания. Избыток щелочи устраняют, добавляя по каплям раствор серной кислоты молярной концентрации c (H_2SO_4) = 2,5 моль/дм^3 до исчезновения бледно-розового окрашивания.

Оставляют смесь на (10±1) мин, периодически перемешивая. Затем доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр.

При необходимости на этом этапе анализ можно прервать на 3—5 сут, сохраняя фильтрат при (6±2) °С.

5.17 Цветная реакция

Для проведения цветной реакции используют восемь пробирок. В четыре пробирки наливают по 5 см^3 полученного фильтрата, в три следующие — по 5 см^3 рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты и в восьмую пробирку — 5 см^3 дистиллированной воды (холостая проба).

Все пробирки помещают в водяную баню температурой (50±2) °С на 5 мин. Затем в две пробирки с фильтратом (условно обозначенные «опыт») и во все пробирки со стандартным раствором, а также в пробирку с дистиллированной водой из бюретки в вытяжном шкафу добавляют по 2 см^3 роданбромидного раствора. Закрывают пробирки и перемешивают встряхиванием.

В две другие пробирки с фильтратом добавляют по 2 см^3 дистиллированной воды (контроль на присутствие окрашенных и способных реагировать с метолом веществ). Все пробирки оставляют в водяной бане еще на 10 мин. По истечении времени все пробирки охлаждают водой до (20±5) °С, помещают на 10 мин в темное место и затем в каждую из них добавляют по 3 см^3 раствора метола, перемешивают встряхиванием и оставляют на 60 мин в темном месте.

6 Проведение измерения

Содержимое всех пробирок фильтруют и измеряют оптическую плотность на фотометре при длине волны 425 нм.

7 Обработка результатов измерения

Массовую долю витамина РР (ниацина) X, млн$^{-1}$, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(A - A_1) m V V_1}{(A_2 - A_3) m_1 V_2 V_3},$$

где A — среднеарифметическое значение показаний оптической плотности исследуемого раствора;

A_1 — среднеарифметическое значение показаний оптической плотности контроля на окрашенные вещества;

m — масса никотиновой кислоты в 5 см^3 стандартного раствора, мкг;

V — объем фильтрата после гидролиза, см^3;

V_1 — объем раствора после обработки сернокислым цинком, см^3;

A_2 — среднеарифметическое значение показаний оптической плотности стандартного раствора никотиновой кислоты;

A_3 — показание оптической плотности холостой пробы;

V_2 — объем гидролизата, взятый на обработку сернокислым цинком, см^3;

V_3 — объем раствора, взятый для проведения цветной реакции, см^3;

m_1 — масса продукта, взятая для анализа, г.

За окончательный результат измерения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений. Вычисления проводят до второго десятичного знака и округляют до первого десятичного знака.

Относительная погрешность измерения массовой доли витамина РР — ±30% при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Расхождение между результатами двух параллельных измерений не должно превышать 30% среднеарифметического значения результатов измерений.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать 30% по отношению к среднеарифметическому значению результатов измерений.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Библиография

[1] ТУ 25—1819.0021 Секундомеры механические «Слава» ТУ 3—3.2164—89

[2] Фотометр фотоэлектрический КФК-3

[3] ТУ 3-КРАЮ.414216.001—90 Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2Ц

[4] ГФ СССР—X ст. 19 Никотиновая кислота (витамин РР)

[5] ТУ 6—09—5360—87 Фенолфталеин

УДК 637.1:543.06:006.354 МКС 67.100.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: витамин РР (ниацин), рабочий стандартный раствор, концентрация водного раствора, кислотный гидролиз, очистка фильтрата, цветная реакция

gost.e-ecolog.ru