МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод измерения массовой доли витамина B_1 (тиамина)

Издание официальное

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ
ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
Минск

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН МТК 186 и Научно-исследовательским институтом детского питания

ВНЕСЕН Госстандартом России

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

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. № 146 межгосударственный стандарт ГОСТ 30627.5—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 B_1 (тиамина)

Infant milk products.
Method for determination of mass part of vitamin B_1 (thiamini)

Дата введения 2000—05—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молочные продукты для детского питания и устанавливает флюорометрический метод измерения массовой доли витамина B_1 (тиамин).

Метод основан на окислении витамина B_1 в щелочной среде железосинеродистым калием с образованием сильно флюоресцирующего в ультрафиолетовом свете соединения — тиохрома, интенсивность флюоресценции которого прямо пропорциональна массовой доле витамина B_1.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 199—78 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

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 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4206—75 Реактивы. Калий железосинеродистый. Технические условия

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

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. 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 5789—78 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 6006—78 Реактивы. Бутанол-1. 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 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 19881—74 Анализаторы потенциометрические для контроля pH молока и молочных продуктов. Общие 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

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

Издание официальное

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

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

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

3 Методы отбора проб

Отбор проб и подготовка их к измерению по ГОСТ 26809.

4 Аппаратура, материалы и реактивы

Анализатор потенциометрический диапазоном измерения от 3,5 до 8 ед. pH ценой деления шкалы 0,05 ед. pH по ГОСТ 19881.

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

Баня глицериновая или песочная.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

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.

Воронки стеклянные лабораторные типа В по ГОСТ 25336.

Воронки делительные номинальной вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Колбы мерные исполнения 1 2-го класса точности номинальной вместимостью 25, 100, 500, 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Колбы типа Кн исполнения 2 номинальной вместимостью 100, 250 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Пипетки исполнений 4, 5, 6, 7 2-го класса точности номинальной вместимостью 1, 2, 5, 25 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Секундомер [1].

Стаканы типа В исполнения 1 номинальной вместимостью 50, 600 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Стакан фарфоровый номинальной вместимостью 500 $см^3$ по ГОСТ 9147.

Ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 9147.

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

Термостат, обеспечивающий поддержание заданного температурного режима от 0 до 60 °С с погрешностью ±0,8 °С.

Флюорометр любого типа с набором светофильтров.

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

Часы класса 2 по ГОСТ 3145 или часы песочные.

Шкаф вакуумный сушильный, обеспечивающий поддержание заданного температурного режима в диапазоне от 0 до 200 °С с погрешностью ±2 °С.

Шкаф вытяжной.

Эксикатор исполнения 2 по ГОСТ 25336.

Натрия гидроокись ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4328.

Спирт изобутиловый ч.д.а. по ГОСТ 6016 или спирт бутиловый ч.д.а. по ГОСТ 6006.

Активированный уголь.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий железосинеродистый ч.д.а. по ГОСТ 4206.

Кислота соляная х.ч. по ГОСТ 3118.

Кислота серная ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4204.

Натрий уксуснокислый 3-водный ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 199.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 18300.

Тиамина хлорид (витамин B_1) [2].

Толуол ч.д.а. по ГОСТ 5789.

Ферментный препарат амилоризин [3] или пектофоэтидин П10Х [4].

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 измерения

5.1 Приготовление водного раствора железосинеродистого калия массовой концентрации 0,01 г/см^3

Взвешивают (1,00 ± 0,04) г железосинеродистого калия на весах 4-го класса точности и растворяют в 20—30 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят объем дистиллированной водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят в темном месте не более 2 сут.

5.2 Приготовление водного раствора гидроокиси натрия массовой концентрации 0,3 г/см^3

(30,00 ± 0,04) г гидроокиси натрия, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют в 30 — 50 см^3 дистиллированной воды в фарфоровом стакане, охлаждают до (20±5) °С, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят объем дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.3 Приготовление окислительной смеси

К 2 см^3 водного раствора железосинеродистого калия массовой концентрации 0,01 г/см^3 прибавляют 10 см^3 водного раствора гидроокиси натрия массовой концентрации 0,3 г/см^3 и перемешивают.

Смесь пригодна не более 3 ч.

5.4 Приготовление основного стандартного раствора тиамина массовой концентрации 0,1 мг/см^3

Взвешивают (0,100 ± 0,001) г тиамина хлорида на весах 2-го класса точности, высушенного в эксикаторе над серной кислотой в течение 10 сут или 1 — 2 ч в вакуумном сушильном шкафу при (60±5) °С, растворяют в 200 — 300 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, доводят объем дистиллированной водой до метки и перемешивают.

Раствор хранят при (6±2) °С в темном месте не более 2 мес.

5.5 Приготовление рабочего раствора тиамина массовой концентрации 1 мкг/см^3

1 см^3 основного стандартного раствора тиамина массовой концентрации 0,1 мг/см^3, приготовленного по 5.4, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Рабочий раствор готовят в день проведения измерения.

5.6 Приготовление водного раствора соляной кислоты молярной концентрации c (HCl) = 0,1 моль/дм^3

8,3 см^3 концентрированной соляной кислоты плотностью 1,185 г/см^3 растворяют в 300 — 500 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см^3, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.7 Приготовление насыщенного раствора уксуснокислого натрия

Взвешивают (200,0 ± 0,4) г уксуснокислого натрия на весах 4-го класса точности и растворяют в 100 — 200 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 500 см^3, доводят объем дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.8 Очистка бутилового и изобутилового спиртов

Перед проведением анализа спирты проверяют на отсутствие флюоресценции (измеряют флюоресценцию используемых в работе спиртов в сравнении с дистиллированной водой).

В случае наличия флюоресценции спирт очищают. К 1 дм^3 спирта прибавляют 15 — 20 г активированного угля, встряхивают 30 мин и оставляют на сутки, затем декантируют, фильтруют через бумажный фильтр и перегоняют: бутиловый и изобутиловый спирты — на глицериновой или песочной бане, этиловый спирт — на водяной бане.

5.9 Гидролиз

Взвешивают (6,00 ± 0,04) г продукта на весах 4-го класса точности, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, приливают 150 см^3 водного раствора соляной кислоты молярной концентрации c (HCl) = 0,1 моль/дм^3 и кипятят на водяной бане (40±1) мин.

Затем гидролизат охлаждают до (20±5) °С, доводят активную кислотность до pH = 4,5 с помощью насыщенного раствора уксуснокислого натрия (5 — 7 $см^3$), добавляют (0,100 ± 0,001) г амилоризина или пектофоэтидина, взвешенного на весах 2-го класса точности, 0,5 $см^3$ толуола, помещают в термостат и выдерживают 14 — 16 ч при (37±1) °С.

Затем гидролизат охлаждают до (25±5) °С, переносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, доводят объем до метки дистиллированной водой и фильтруют.

Если необходимо прервать измерение на 1—2 дня, то перед доведением объема до 250 $см^3$ гидролизат кипятят 5 мин на водяной бане.

До проведения измерения фильтрат хранят в плотно закрытой колбе в темном месте при (6±2) °С.

5.10 Очистка фильтрата

Смешивают 25 $см^3$ фильтрата, полученного по 5.9 и 25 $см^3$ изобутилового спирта, встряхивают 5 мин и разделяют слои с помощью делительной воронки. Нижний слой сливают в мерную колбу вместимостью 25 $см^3$ и доводят объем до метки дистиллированной водой. Верхний спиртовой слой отбрасывают. Количество проб фильтрата и стандартного раствора для проведения измерений берут с учетом двух параллельных измерений.

5.11 Окисление тиамина в тиохром

По 5 $см^3$ фильтрата отбирают в четыре колбы вместимостью 100 $см^3$, добавляют по 2 $см^3$ этилового спирта и встряхивают 1 мин.

В две колбы добавляют по 1,2 $см^3$ окислительной смеси, в две другие — по 1,2 $см^3$ водного раствора гидроокиси натрия массовой концентрации 0,3 $г/см^3$ (холостая проба), встряхивают 2 мин.

Во все четыре колбы добавляют по 13 $см^3$ изобутилового спирта, встряхивают 3 мин, ставят в темное место на 10 мин и разделяют слои в делительной воронке.

Нижний слой отбрасывают, к верхнему приливают 2 $см^3$ этилового спирта для осветления и переносят в конические колбы.

Окисление тиамина в тиохром проводят и в рабочем растворе витамина B_1 (стандарт). В четыре колбы отбирают по 1 $см^3$ рабочего раствора витамина B_1, добавляют по 4 $см^3$ дистиллированной воды и далее повторяют операции, как при окислении фильтрата.

6 Проведение измерения

Интенсивность флюоресценции тиохрома измеряют на флюорометре со светофильтрами, используемыми для витамина B_1, имеющими максимум пропускания в области от 320 до 390 нм (B_1-первичный) и от 400 до 580 нм (B_1-вторичный), начиная с проб стандартного раствора.

Интервал определяемых концентраций тиамина составляет от 0,1 до 0,4 $мкг/см^3$ раствора, поступающего на измерение флюоресценции.

7 Обработка результатов измерения

Массовую долю витамина B_1 (тиамина) X, $млн^{-1}$, вычисляют по формуле

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

где A — среднеарифметическое значение из показаний флюорометра для анализируемого образца;

A_1 — среднеарифметическое значение из показаний флюорометра для холостой пробы к анализируемому образцу;

m — масса тиамина в 1 $см^3$ рабочего раствора, мкг;

V — общий объем гидролизата, $см^3$;

V_2 — объем гидролизата, взятый на очистку от примесей, $см^3$;

A_2 — среднеарифметическое значение из показаний флюорометра для стандартного раствора тиамина;

A_3 — среднеарифметическое значение из показаний флюорометра для холостой пробы к стандартному образцу;

m_1 — масса продукта, взятая для анализа, г;

V_1 — объем анализируемого раствора, взятый для окисления тиамина в тиохром, $см^3$;

V_3 — объем после стадии очистки фильтрата, $см^3$.

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 B_1 — ±30 % при доверительной вероятности $P = 0,95$.

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

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать 30 % среднеарифметического значения результатов измерений.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Библиография

[1] ТУ 25—1819.0021—90 Секундомеры механические «Слава»
[2] ГФ СССР—X ст. 673 Тиамина хлорид (витамин B_1)
[3] ОСТ 64 037—87 Препарат ферментный. Амилоризин П10Х. Технические условия
[4] ТУ 64 1304—87 Пектофоэтидин П10Х

УДК 637.1:543.06:006.354 МКС 67.100.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: витамин B_1 (тиамин), рабочий раствор, основной стандартный раствор, массовая концентрация, гидролиз, окисление, флюоресценция

gost.e-ecolog.ru