МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод измерения массовой доли витамина Е (токоферола)

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 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	Молдовастандарт
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. № 144 межгосударственный стандарт ГОСТ 30627.3—98 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 мая 2000 г.

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Госстандарта России

© ИПК Издательство стандартов, 1999
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2008
Переиздание (по состоянию на сентябрь 2008 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод измерения массовой доли витамина Е (токоферола)

Infant milk products.
Method for determination of mass part of vitamin E (Tocopheroli)

Дата введения 2000—05—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молочные продукты для детского питания, обогащенные витамином Е (токоферолом), и устанавливает колориметрический метод измерения массовой доли витамина Е.

Метод основан на реакции восстановления токоферолами трехвалентного железа в двухвалентное с образованием окрашенного комплекса двухвалентного железа с ортофенантролином (батофенантролином или α, α-дипиридилом).

2 Нормативные ссылки*

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 334—73 Бумага масштабно-координатная. Технические условия

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

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

ГОСТ 4147—74 Железо (III) хлорид 6-водный. Технические условия

ГОСТ 4166—76 Натрий сернокислый. Технические условия

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

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 требования

ГОСТ 6552—80 Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 8981—78 Эфиры этиловый и нормальный бутиловый уксусной кислоты технические. 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 24363—80 Калия гидроокись. Технические условия

Издание официальное

* См. примечание ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 9).

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

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

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

ГОСТ 29227—91 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

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

Бумага масштабно-координатная (миллиметровая) по ГОСТ 334.

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

Воронки стеклянные типа В диаметром 56 мм по ГОСТ 25336.

Испаритель ротационный ИР-1М [1].

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

Колбы типа К исполнения 1 номинальной вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Пипетки исполнений 4, 6, 7 2-го класса точности номинальной вместимостью 1, 2, 5, 10, 25 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Пробирки стеклянные типа П4 номинальной вместимостью 10 и 20 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Секундомер 2-го класса [2].

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

Термометр жидкостный (не ртутный) диапазоном измерения 0—100 °С ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

Фотометр фотоэлектрический диапазоном измерения 220—1100 нм [3] или колориметр фотоэлектрический диапазоном измерения 200—2000 нм, диапазоном измерения коэффициента пропускания 100—1 % [4].

Холодильник обратимый со шлифом и водяным охлаждением по ГОСТ 25336.

Цилиндры исполнения 1 вместимостью 25, 50 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Часы 2-го класса по ГОСТ 3145.

Шкаф сушильный лабораторный, обеспечивающий поддержание заданного температурного режима от 50 до 200 °С с погрешностью ± 2 °С.

Эксикатор исполнения 2 по ГОСТ 25336.

Аскорбиновая кислота (витамин С) [5].

Батофенантролин α, α-дипиридил (4, 4-дипиридил) [6].

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Железо треххлорное 6-водное ч. по ГОСТ 4147.

Калия гидроокись х.ч. по ГОСТ 24363.

Натрий сернокислый безводный х.ч. по ГОСТ 4166.

Ортофенантролин [7].

Ортофосфорная кислота ч. по ГОСТ 6552.

Спирт абсолютный [8].

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

Токоферола ацетат (витамин Е ацетат) [9] или масляный раствор массовой концентрации α-токоферола ацетата 300 $г/дм^3$ (с массовой долей α-токоферола ацетата в масле 30 %) [10].

Фенолфталеин ч.д.а. [11].

Эфир петролейный [12], перегнанный при температуре (50 ± 10) °С, не содержащий перекисей.

Эфир этиловый по ГОСТ 8981.

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 Условия выполнения измерения

Измерение должно проводиться при красном или затемненном свете, в связи с разрушением витамина Е под воздействием ультрафиолетовых лучей.

Работу с эфиром необходимо проводить в вытяжном шкафу и в хорошо вентилируемом помещении.

6 Подготовка к выполнению измерения

6.1 Приготовление спиртового раствора треххлористого железа массовой концентрации 2 мг/см^3.

(0,200 ± 0,001) г треххлористого железа, взвешенного на весах 2-го класса точности, растворяют в 25—50 см^3 абсолютного спирта в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят до метки тем же спиртом и перемешивают.

Раствор хранят в склянке из темного стекла при (6 ± 2) °С.

6.2 Приготовление спиртового раствора треххлористого железа массовой концентрации 0,25 мг/см^3

1,25 см^3 раствора треххлористого железа массовой концентрации 2 мг/см^3 смешивают с 8,75 см^3 абсолютного спирта и тщательно перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед применением.

6.3 Приготовление раствора молярной концентрации $c(H_3PO_4)$ = = 0,03 моль/дм^3 в абсолютном спирте

(0,327 ± 0,001) г ортофосфорной кислоты, взвешенной на весах 2-го класса точности, растворяют в 25—50 см^3 абсолютного спирта в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят до метки тем же спиртом и перемешивают.

6.4 Приготовление спиртового раствора ортофенантролина или батофенантролина массовой концентрации 1 мг/см^3

(0,100 ± 0,001) г ортофенантролина, взвешенного на весах 2-го класса точности, растворяют в 25—50 см^3 абсолютного спирта в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят до метки тем же спиртом и перемешивают.

6.5 Приготовление спиртового раствора α, α-дипиридила (4, 4-дипиридила) массовой концентрации 5 мг/см^3

(0,500 ± 0,001) г α, α-дипиридила, взвешенного на весах 2-го класса точности, растворяют в 25—50 см^3 абсолютного спирта в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят до метки тем же спиртом и перемешивают.

Спиртовые растворы ортофенантролина, батофенантролина и α, α-дипиридила хранят в склянке из темного стекла при (6 ± 2) °С.

6.6 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.

6.7 Приготовление водного раствора гидроокиси калия массовой концентрации 0,5 г/см^3

(125,0 ± 0,1) г гидроокиси калия, взвешенной на весах 4-го класса точности, растворяют в 100—150 см^3 дистиллированной воды в фарфоровом стакане, охлаждают до (20 ± 5) °С, количес-

твенно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

6.8 Обезвоживание сернокислого натрия

Сернокислый натрий высушивают в сушильном шкафу при (150 ± 10) °С 8—12 ч. Хранят в эксикаторе.

6.9 Приготовление стандартного раствора α-токоферола

(0,040 ± 0,001) г 100 %-ного препарата витамина Е, взвешенного на весах 2-го класса точности, растворяют в 50 см^3 абсолютного спирта в мерной колбе вместимостью 100 см^3 и доводят объем до метки этим же спиртом.

6.9.1 *Гидролиз*

В круглодонную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 5 см^3 полученного по 6.9 стандартного раствора витамина, добавляют 15 см^3 этилового спирта, (0,10 ± 0,03) г аскорбиновой кислоты, взвешенной на весах 4-го класса точности, 1 см^3 гидроокиси калия массовой концентрации 0,5 г/см^3 и перемешивают. Колбу соединяют с обратным водяным холодильником и выдерживают в кипящей водяной бане (18 ± 2) мин.

6.9.2 *Экстракция*

По окончании гидролиза содержимое колбы охлаждают до (20 ± 5) °С и количественно переносят в делительную воронку. Колбу ополаскивают 50 см^3 дистиллированной воды, воду сливают в ту же воронку.

Признаком полного омыления служит то, что при добавлении воды к смеси муть не образуется. При образовании мути гидролиз повторяют, увеличивая при этом объем щелочи до 2 см^3 или время гидролиза до (30 ± 2) мин.

Неомыляемые вещества экстрагируют диэтиловым или петролейным эфиром три раза по 25 см^3. После чего нижний (водный) слой отбрасывают.

6.9.3 *Промывка*

Объединенный эфирный экстракт (верхний слой) переносят в делительную воронку и отмывают от щелочи до нейтральной реакции по фенолфталеину, расходуя при этом 50—60 см^3 дистиллированной воды.

Промытую эфирную вытяжку фильтруют в сухую круглодонную колбу со шлифом через слой безводного сернокислого натрия (20—30 г), не допуская заполнения воронки выше уровня этого слоя. По окончании фильтрования фильтр промывают эфиром объемом не менее 15 см^3.

6.9.4 *Отгонка растворителя*

Колбу с фильтратом подсоединяют к роторному испарителю и отгоняют эфир под вакуумом при температуре водяной бани не более 30 °С для диэтилового эфира и не более 50 °С — для петролейного эфира.

Неомыляемый остаток растворяют в абсолютном спирте и доводят объем до 100 см^3 этим же спиртом.

Если используют препарат витамина Е другой концентрации, то навеску рассчитывают так, чтобы конечная концентрация стандартного раствора (после гидролиза) составляла не менее 20 мкг/см^3.

6.9.5 *Проверка концентрации стандартного раствора* α-токоферола

В полученном растворе определяют массовую концентрацию α-токоферола, измеряя оптическую плотность спиртового раствора при длине волны 292 нм.

Массовую концентрацию α-токоферола ρ_E, мкг/см^3, вычисляют по формуле

$$\rho_E = D\ 10000/\text{E}, \qquad (1)$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 292 нм против абсолютного спирта;

10000 — масса α-токоферола в 1 см^3 1 %-ного раствора, мкг;

E — удельный показатель поглощения при длине волны 292 нм для 1 %-ного раствора α-токоферола в абсолютном спирте, равен 74,7.

6.9.6 *Построение калибровочного графика*

В пять пробирок вносят по 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 см^3 полученного стандартного раствора и доводят объем в каждой пробирке абсолютным спиртом до 5 см^3. В шестую пробирку вносят 5,0 см^3 абсолютного спирта (холостая проба). Затем во все пробирки приливают по 0,5 см^3 раствора ортофенантролина или батофенантролина массовой концентрации 1 мг/см^3, или α, α-дипиридила массовой концентрации 5 мг/см^3, добавляют 0,5 см^3 раствора треххлористого железа массовой кон-

центрации 0,25 мг/см^3, перемешивают и не более чем через 20 с добавляют 0,5 см^3 раствора ортофосфорной кислоты молярной концентрации c (H_3PO_4) = 0,03 моль/дм^3 и снова перемешивают. Реакцию проводят с каждой пробиркой отдельно.

Определяют оптическую плотность на колориметре или фотометре при длине волны 490 нм, устанавливая в параллельный световой поток кювету, наполненную абсолютным спиртом.

Для построения калибровочного графика по оси абсцисс откладывают массу α-токоферола от 5 до 20 мкг, а по оси ординат — разность показаний прибора между испытуемым раствором и холостой пробой.

Построение калибровочного графика повторяют при смене прибора или одного из реактивов, необходимых для проведения реакции.

6.10 Щелочной гидролиз продукта

Для жидких и пастообразных продуктов отобранную для анализа пробу прогревают при 37 °С 20—30 мин и перемешивают для равномерного распределения жира в продукте.

Навеску сухого продукта на гидролиз берут с учетом массовой доли витамина Е в продукте.

Массовая доля витамина Е, млн$^{-1}$	Навеска сухого продукта, г
8,5—15	10,0 ± 0,4
15—45	5,0 ± 0,4
45—120	2,0 ± 0,4

Навеска жидкого и пастообразного продукта — (15 ± 0,01) г.

Навеску помещают в круглодонную колбу роторного испарителя вместимостью 100 см^3. К навеске для сухого продукта добавляют (9 ± 1) см^3 дистиллированной воды и перемешивают до полного растворения. В круглодонную колбу ротационного испарителя к навеске продукта добавляют 100—150 мг аскорбиновой кислоты, взвешенной на весах 4-го класса точности, приливают 40 см^3 этилового спирта и, перемешивая, вносят 5—7 см^3 раствора гидроокиси калия массовой концентрации 0,5 г/см^3.

Колбу соединяют с обратным холодильником и выдерживают при температуре кипения смеси на водяной бане в течение (30 ± 1) мин.

6.11 Экстракция

Экстракцию и последующие операции проводят в соответствии с 6.9.2—6.9.4.

Эфирный экстракт помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 см^3. Эфир выпаривают на ротационном испарителе согласно 6.9.4, а сухой остаток немедленно растворяют в 15 см^3 абсолютного спирта.

7 Проведение измерения

Оптическую плотность измеряют на колориметре или фотометре при длине волны 490 нм, устанавливая в параллельный световой поток кювету, наполненную абсолютным спиртом.

1,0—5,0 см^3 полученного раствора (в зависимости от массовой доли витамина Е в продукте) помещают в пробирку, доводят объем раствора до 5 см^3 абсолютным спиртом и перемешивают. Затем проводят реакцию согласно 6.9.6. Проводят параллельные измерения в двух пробирках и берут средний результат. В третьей пробирке готовят холостую пробу согласно 6.9.6.

8 Обработка результатов

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

$$X = \frac{mV_1}{V_2 m_1}, \qquad (2)$$

где m — масса витамина Е в анализируемом растворе продукта, установленная по калибровочному графику (по разнице показаний оптической плотности между анализируемым раствором и холостой пробой), мкг;

V_1 — общий объем анализируемого раствора в абсолютном спирте после экстракции, см^3;

V_2 — объем спиртового раствора, взятый на проведение цветной реакции, см^3;

m_1 — масса продукта, взятая на гидролиз, г.

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

Относительная погрешность измерения массовой доли витамина Е — ± 20 % при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Расхождение между результатами двух параллельных измерений не должно превышать 15 % среднего арифметического значения результатов измерений.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать 20 % среднего арифметического значения результатов измерений.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Библиография

[1] ТУ 25—11—917—76 Испаритель ротационный ИР-1М
[2] ТУ 25—1819.0021—90 Секундомеры механические «Слава»
[3] ТУ 3-3.2164—89 Фотометр фотоэлектрический КФК-3
[4] ТУ 3-КРАЮ.414216.001—90 Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2Ц
[5] ГФ СССР—X ст. 6 Кислота аскорбиновая
[6] ТУ 6—09—15—139—86 Батофенантролин
[7] ТУ 8П-399—70 Ортофенантролин
[8] ТУ 18—3—2—76 Спирт абсолютный
[9] ГФ СССР—X ст. 695 Токоферола ацетат (витамина Е ацетат)
[10] ВФС 42—1642 Раствор α-токоферола ацетата 5, 10 или 30 % в масле
[11] ТУ 6—09—5360—87 Фенолфталеин
[12] ТУ 6—02—1244—83 Эфир петролейный

УДК 637.1:543.06:006.354 МКС 67.100.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: витамин Е (токоферол), гидролиз, экстракция, построение калибровочного графика

ПРИМЕЧАНИЕ ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

Указанные в разделе 2 «Нормативные ссылки» к ГОСТ 30627.3—98:

ГОСТ 5962—67. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия;

ГОСТ 24104—88. С 1 июля 2002 г. действует ГОСТ 24104—2001.

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 08.10.2008. Подписано в печать 14.11.2008. Формат 60 × 84 $^{1}/_{8}$. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,80. Тираж 94 экз. Зак. 1347.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6

gost.e-ecolog.ru