ГОСТ 29140—91

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МУКА, ХЛЕБ И ХЛЕБОБУЛОЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ ПШЕНИЧНЫЕ ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА РР (НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2007

gost.e-ecolog.ru

Группа Н39

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МУКА, ХЛЕБ И ХЛЕБОБУЛОЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ ПШЕНИЧНЫЕ ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ

Метод определения витамина РР (никотиновой кислоты)

ГОСТ 29140—91

Wheat vitaminized flour, bread and baked products.
Method for vitamin PP (nicotinic acid) determination

МКС 67.060
ОКСТУ 9109, 9209

Дата введения 01.01.93

Настоящий стандарт распространяется на витаминизированные пшеничные муку, хлеб и хлебобулочные изделия, обогащаемые смесью витаминов, и устанавливает метод определения в продукте суммарного количества витамина РР (никотиновой кислоты) — свободной и связанной форм.

Сущность метода заключается в освобождении связанных форм никотиновой кислоты гидролизом, очистке полученного гидролизата, количественном получении окрашенного производного глутаконового альдегида и колориметрическом определении его массы в сравнении со стандартным раствором.

1. ОТБОР ПРОБ

1.1. Отбор проб муки — по ГОСТ 27668.
1.2. Отбор проб хлеба и хлебобулочных изделий — по ГОСТ 5667.
1.3. Отбор проб сухарей — по ГОСТ 8494.
1.4. Отбор проб бараночных изделий — по ГОСТ 7128.

2. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ

Мельница типа ЛЗМ или аналогичного типа, обеспечивающая необходимую степень измельчения продукта.

Спектрофотометр или колориметр фотоэлектрический, обеспечивающие измерение в диапазоне длин волн 400—425 нм.

Полотно решетное типа I, № 11 по ТУ 23.2.2068.

Весы лабораторные общего назначения с допускаемой погрешностью взвешивания ±0,01 г.

Весы лабораторные общего назначения с допускаемой погрешностью взвешивания ±0,001 г.

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025.

Нож.

Баня водяная лабораторная.

Баня водяная лабораторная, обеспечивающая поддержание температуры 50 °С с погрешностью ±2 °С.

Центрифуга, обеспечивающая 4—6 тыс. об/мин.

Стакан фарфоровый № 8 вместимостью 2000 $см^3$ по ГОСТ 9147.

Стаканы химические типов В и Н, исполнений 1, 2, вместимостью 1000 и 2000 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Колба типа II ТХС, исполнений 1, 2, вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Колба коническая типа Кн, исполнений 1, 2, вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Колбы мерные исполнения 2, вместимостью 100 и 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Цилиндр исполнений 2 и 4, вместимостью 50 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Пробирки исполнения 2, вместимостью 20 или 25 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Бюретка исполнения 3, вместимостью 25 $см^3$ по ГОСТ 29251.

Пипетки исполнений 4, 5, вместимостью 1 и 2 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Издание официальное Перепечатка воспрещена

Пипетки исполнений 6, 7, вместимостью 5 и 10 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Воронки лабораторные диаметром 75 и 100 мм по ГОСТ 25336.

Воронка Бюхнера № 3 или № 4 по ГОСТ 9147.

Палочки стеклянные по ГОСТ 21400.

Склянки из темного стекла с притертыми пробками вместимостью 200—500 $см^3$.

Штатив химический.

Кислота никотиновая по ФС 42—2357.

Кислота серная по ГОСТ 4204, х. ч. или ч. д. а., растворы концентрации 0,05; 1,0 и 2,5 моль/$дм^3$.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,5 моль/$дм^3$.

Окись кальция по ГОСТ 8677, х. ч. или ч. д. а.

Бром по ГОСТ 4109, х. ч.

Калий роданистый по ГОСТ 4139 или аммоний роданистый по ГОСТ 27067, х. ч., раствор концентрации 0,1 г/$см^3$ и 0,01 г/$см^3$.

Кальций углекислый по ГОСТ 4530, х. ч. или ч. д. а.

Метол по ГОСТ 25664, раствор концентрации 0,08 г/$см^3$.

Спирт этиловый по ГОСТ 18300.

Спирт изобутиловый по ГОСТ 9536, х. ч.

Уголь активный осветляющий древесный по ГОСТ 4453.

Сернокислый цинк по ГОСТ 4174, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,8 г/$см^3$.

Фенолфталеин по ТУ 6—09—5360, 1 %-ный спиртовой раствор.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Фильтр обеззоленный диаметром 11 см (синяя лента).

Толуол по ГОСТ 5789, ч. д. а.

Гидроокись натрия по ГОСТ 4328, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 4 и 10 моль/$дм^3$.

3. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЮ

3.1. Бараночные изделия и сухари измельчают на лабораторной мельнице так, чтобы весь размолотый продукт прошел при просеивании через решетное полотно с отверстиями диаметром 1,1 мм.

Хлебные изделия разрезают на четыре части по двум взаимно перпендикулярным направлениям. Затем берут две диаметрально противоположные четверти, которые разрезают ножом на небольшие ломтики. Последние пропускают через мясорубку или тщательно измельчают ножом.

Измельченную пробу тщательно перемешивают.

3.2. Приготовление основного стандартного раствора никотиновой кислоты

Навеску никотиновой кислоты массой 0,050 г помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, добавляют 300 $см^3$ дистиллированной воды и 5 $см^3$ раствора серной кислоты концентрации 2,5 моль/$дм^3$.

После растворения никотиновой кислоты объем полученного раствора доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают, затем переносят в склянку из темного стекла с притертой пробкой и добавляют 0,5 $см^3$ толуола.

Концентрация основного стандартного раствора никотиновой кислоты составит 100 мкг/$см^3$.

Раствор хранят в склянке из темного стекла в холодильнике не более 3 мес.

3.3. Приготовление рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты

3—5 $см^3$ основного стандартного раствора никотиновой кислоты помещают в химический стакан и выдерживают до приобретения раствором комнатной температуры.

2 $см^3$ основного стандартного раствора никотиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$; объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

Концентрация рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты составит 2,0 мкг/$см^3$.

Раствор готовят в день проведения анализа.

3.4. Приготовление бромной воды

В темную склянку с притертой пробкой наливают 100 $см^3$ дистиллированной воды, добавляют под тягой 5—6 $см^3$ брома, хорошо встряхивают и оставляют под тягой на 3—5 сут для лучшего насыщения воды бромом.

3.5. Приготовление роданбромидного раствора

К охлажденной в течение 30 мин в емкости со льдом бромной воде, взятой в объеме 30 см^3, по каплям приливают охлажденный раствор роданистого калия или роданистого аммония концентрации 0,1 г/см^3 до приобретения им соломенно-желтой окраски. Затем так же по каплям приливают те же растворы концентрации 0,01 г/см^3 до полного обесцвечивания бромной воды.

К обесцвеченному раствору постепенно добавляют небольшими порциями углекислый кальций до прекращения выделения пузырьков газа.

Образующийся при этом осадок удаляют путем фильтрации в склянку из темного стекла с притертой пробкой, помещенную в ледяную баню.

Все операции проводят под тягой.

Раствор готовят непосредственно перед употреблением.

3.6. Приготовление раствора метола

Навеску перекристаллизованного метола массой 8,0 г вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят объем до метки раствором соляной кислоты концентрации 0,5 моль/дм^3.

Концентрация раствора метола составит 0,08 г/см^3.

Раствор готовят непосредственно перед употреблением.

3.6.1. *Перекристаллизация метола*

Раствор серной кислоты концентрации 0,05 моль/дм^3 в объеме 500 см^3 наливают в химический стакан вместимостью 1000 см^3 и нагревают до кипения. Затем добавляют навеску метола массой 100 г и снова доводят до кипения. Если раствор сильно окрашен, то к нему добавляют навеску активного угля массой 10 г, перемешивают и сразу фильтруют через воронку Бюхнера, предварительно нагретую кипящей водой, в химический стакан вместимостью 2000 см^3.

К фильтрату добавляют 700 см^3 этилового спирта и перемешивают. Затем стакан помещают в ледяную баню и оставляют в темноте на 4—5 ч или на ночь в холодильнике. Выпавшие кристаллы отделяют фильтрованием на воронке Бюхнера, промывают их охлажденным этиловым спиртом 3—4 порциями по 30—40 см^3. Осадок переносят на лист фильтровальной бумаги и высушивают на воздухе в темном помещении при комнатной температуре.

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

3.7. Приготовление водной суспензии гидроксида кальция (известкового молочка)

В фарфоровый стакан вместимостью 2000 см^3 вносят навеску окиси кальция массой 25 г, добавляют 500 см^3 дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой.

Полученный раствор известкового молочка хранят в склянке с притертой пробкой.

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

4.1. Никотиновую кислоту определяют в двух параллельных навесках продукта.

4.2. Гидролиз

4.2.1. Гидролиз осуществляют с помощью известкового молочка или серной кислоты (кислотный гидролиз).

4.2.1.1. При гидролизе с известковым молочком навеску продукта массой 5,0 г* помещают в колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 10 см^3 известкового молочка и перемешивают стеклянной палочкой. Затем добавляют 40 см^3 дистиллированной воды и снова тщательно перемешивают.

4.2.1.2. При кислотном гидролизе навеску продукта массой 5,0 г* помещают в колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 40 см^3 раствора серной кислоты концентрации 1,0 моль/дм^3 и тщательно перемешивают.

4.2.2. Гидролиз осуществляют на кипящей водяной бане в течение 40 мин, закрыв горло колбы воронкой.

По окончании гидролиза колбу охлаждают до комнатной температуры и доводят общий объем гидролизата до 75 см^3 дистиллированной водой. Содержимое колбы перемешивают и выдерживают в холодильнике не менее 10—12 ч.

Охлажденный гидролизат фильтруют или центрифугируют.

---

* Масса навески должна обеспечить концентрацию никотиновой кислоты в измеряемом растворе в диапазоне 2,0—5,0 мкг/см^3, что при данных навеске и разведениях будет соответствовать содержанию никотиновой кислоты в продукте 3,0—7,5 мг/100 г.

Затем 30 см^3 фильтрата помещают в цилиндр вместимостью 50 см^3, добавляют к нему 1—2 капли 1 %-ного раствора фенолфталеина и нейтрализуют при кислотном гидролизе раствором гидроокиси натрия концентрации 10 моль/дм^3, при гидролизе с известковым молочком — раствором серной кислоты концентрации 2,5 моль/дм^3 до слабо-розового окрашивания.

Нейтрализованный раствор фильтрата охлаждают.

4.3. Очистка нейтрализованного фильтрата

В цилиндр с нейтрализованным фильтратом вносят 2 см^3 раствора сернокислого цинка концентрации 0,8 г/см^3, добавляют по каплям раствор гидроокиси натрия концентрации 4 моль/дм^3 до получения слабо-розового окрашивания. Содержимое цилиндра тщательно перемешивают стеклянной палочкой, розовое окрашивание удаляют несколькими каплями раствора серной кислоты концентрации 2,5 моль/дм^3. Полученный раствор оставляют на 10 мин, периодически перемешивая, затем добавляют 1—2 капли изобутилового или этилового спирта (для устранения пены) и доводят объем до 50 см^3 дистиллированной водой. Затем раствор перемешивают и фильтруют в колбу вместимостью 100 см^3 с притертой пробкой.

При необходимости на этом этапе анализ можно прервать на 3—5 сут, сохраняя фильтрат в холодильнике.

4.4. Проведение цветной реакции

Цветную реакцию проводят в восьми пробирках с притертыми пробками вместимостью 20—25 см^3:

в одну пробирку вносят 5 см^3 дистиллированной воды (контрольный раствор на реактивы);

в три пробирки вносят по 5 см^3 рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты;

в четыре пробирки вносят по 5 см^3 очищенного фильтрата испытуемой пробы.

Все восемь пробирок на 5 мин помещают в водяную баню при температуре 50 °С, после чего в две пробирки с очищенным фильтратом вносят по 2 см^3 дистиллированной воды (контрольные растворы на присутствие окрашенных и способных реагировать с метолом веществ), а во все остальные пробирки — по 2 см^3 роданбромидного раствора (из бюретки под тягой). Все пробирки закрывают пробками, встряхивают и помещают в водяную баню при температуре 50 °С на 10 мин. По истечении этого времени пробирки вынимают, охлаждают под струей воды до комнатной температуры и ставят на 10 мин в темное место при комнатной температуре. Затем в каждую из пробирок приливают по 3 см^3 раствора метола, энергично встряхивают и оставляют на 1 ч в темном месте при комнатной температуре. По истечении этого времени приступают к измерению оптической плотности растворов. Если растворы мутные, то перед измерением оптической плотности их фильтруют через плотный бумажный фильтр.

4.5. Измерение оптической плотности

Оптическую плотность растворов, полученных по п. 4.4, измеряют по отношению к дистиллированной воде на спектрофотометре с длиной волны 400 нм или фотоэлектроколориметре со светофильтром с длиной волны 400—425 нм.

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Массовую долю никотиновой кислоты (X) в мг на 100 г продукта вычисляют по формуле

$$X = \frac{(A - A_1) \cdot X_1 \cdot V \cdot V_2}{(B - B_1) \cdot m \cdot V_1 \cdot V_3 \cdot 10} \quad \text{или} \quad X = \frac{(A - A_1) \cdot 25}{(B - B_1) \cdot m},$$

где A — оптическая плотность испытуемого раствора, среднее из двух параллельных определений, ед. прибора;

A_1 — оптическая плотность контрольного раствора на окрашенные и аминореагирующие вещества, среднее из двух параллельных определений, ед. прибора;

B — оптическая плотность стандартного раствора никотиновой кислоты, среднее из трех параллельных определений;

B_1 — оптическая плотность контрольного раствора на реактивы;

X_1 — массовая доля никотиновой кислоты в измеряемом стандартном растворе никотиновой кислоты, мкг;

m — масса пробы продукта, взятая для анализа, г;

V — общий объем гидролизата, см^3;

V_1 — объем гидролизата, взятый на очистку, см^3;

V_2 — объем очищенного фильтрата, см^3;

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

10 — коэффициент пересчета из мкг/г в мг/100 г продукта;

25 — коэффициент, включающий постоянные величины: X_1 = 10 мкг; V = 75 см^3; V_1 = 30 см^3; V_2 = 50 см^3; V_3 = 5 см^3 и коэффициент пересчета равен 10.

5.2. Вычисления проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

Полученный результат должен быть в диапазоне 3,0—7,5 мг/100 г продукта. В противном случае анализ повторяют с уточненной навеской продукта (см. пп. 4.2.1.1 и 4.2.1.2).

5.3. За окончательный результат испытания принимают среднеарифметическое значение ($\overline{X}$) результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение (d) между которыми в мг/100 г не должно превышать 0,14 $\overline{X}$.

5.4. При контрольных определениях допускаемое расхождение (D) между контрольным и первоначальным определениями в мг/100 г не должно превышать 0,36 $\overline{\overline{X}}$ ($\overline{\overline{X}}$ — среднеарифметическое значение результатов контрольного и первоначального определений).

При контрольном определении за окончательный результат испытания принимают результат первоначального определения, если расхождение между результатами контрольного и первоначального определений не превышает допускаемого значения; если расхождение превышает допускаемое значение, то за окончательный результат испытаний принимают результат контрольного определения.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН ВНПО «Зернопродукт»

РАЗРАБОТЧИКИ

Г.С. Зелинский, канд. техн. наук; **К.А. Чурусов,** канд. техн. наук (руководитель темы); **А.Ф. Шухнов,** канд. техн. наук; **А.М. Каменецкая,** канд. техн. наук; **Н.А. Игорянова,** канд. техн. наук; **А.И. Быстрова; Л.И. Гусева,** канд. биол. наук; **Е.Н. Степанова,** канд. с.-х. наук

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 29.11.91 № 1835

3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

4. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер раздела, пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер раздела, пункта
ГОСТ 1770—74	2	ГОСТ 8677—76	2
ГОСТ 3118—77	2	ГОСТ 9147—80	2
ГОСТ 4025—95	2	ГОСТ 9536—79	2
ГОСТ 4109—79	2	ГОСТ 12026—76	2
ГОСТ 4139—75	2	ГОСТ 18300—87	2
ГОСТ 4174—77	2	ГОСТ 21400—75	2
ГОСТ 4204—77	2	ГОСТ 25336—82	2
ГОСТ 4328—77	2	ГОСТ 25664—83	2
ГОСТ 4453—74	2	ГОСТ 27067—86	2
ГОСТ 4530—76	2	ГОСТ 27668—88	1.1
ГОСТ 5667—65	1.2	ГОСТ 29227—91	2
ГОСТ 5789—78	2	ГОСТ 29251—91	2
ГОСТ 6709—72	2	ФС 42—2357—85	2
ГОСТ 7128—91	1.4	ТУ 6—09—5360—87	2
ГОСТ 8494—96	1.3	ТУ 23.2.2068—89	2

5. ПЕРЕИЗДАНИЕ

gost.e-ecolog.ru