ГОСТ 29139—91

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МУКА, ХЛЕБ И ХЛЕБОБУЛОЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ ПШЕНИЧНЫЕ ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА B_2 (РИБОФЛАВИНА)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2007

gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ 29139—91 Мука, хлеб и хлебобулочные изделия пшеничные витаминизированные. Метод определения витамина B_2 (рибофлавина) (см. сб. «Мука. Отруби. Методы анализа»)

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Первая страница **стандарта**	МКС 69.070	МКС 67.060

(ИУС № 1 2008 г.)

Группа Н39

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МУКА, ХЛЕБ И ХЛЕБОБУЛОЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ ПШЕНИЧНЫЕ ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ

Метод определения витамина B_2 (рибофлавина)

ГОСТ 29139—91

Wheat vitaminized flour, bread and baked products. Method for vitamin B_2 (rhyboflavin) determination

МКС 69.070
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 B_2 (рибофлавина) — свободной и связанной форм.

Сущность метода заключается в освобождении связанных форм рибофлавина гидролизом, экстракционной очистке полученного гидролизата от соединений, мешающих флюорометрическому определению, переводе при облучении в щелочной среде рибофлавина в люмифлавин, извлечении его хлороформом и измерении интенсивности флюоресценции люмифлавина в сравнении со стандартным раствором с помощью флюорометра.

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

Флюорометр лабораторный электронный марки ЭФ-ЗМА или медицинский марки ФМ-Ц-2 или других марок, обеспечивающий длины волн возбуждения в области 350—480 нм, флюоресценции — 475—650 нм.

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

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025.

Нож.

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

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

Баня водяная лабораторная.

Иономер.

Термостат, обеспечивающий создание и поддержание температуры 37 °С с погрешностью ±2 °С.

Секундомер.

Светильник по ГОСТ 8607 с лампой накаливания 100 Вт по ГОСТ 2239.

Электровентилятор бытовой по ГОСТ 7402.

Полотно решетное типа I, № 11 по ТУ 23.2.2068.

Воронка делительная исполнения 3, вместимостью 250 $см^3$, из химически стойкого стекла группы ХС по ГОСТ 25336.

Воронки лабораторные диаметром 35, 75 мм по ГОСТ 25336.

Палочки стеклянные по ГОСТ 21400.

Склянки из темного стекла с притертыми пробками вместимостью от 300 до 1000 $см^3$.

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.

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

Колбы мерные исполнения 2, вместимостью 100 и 1000 см^3 по ГОСТ 1770.
Бюретка исполнения 3, вместимостью 10 см^3 по ГОСТ 29251.
Цилиндр исполнений 2 и 4, вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770.
Пробирка исполнения 2, вместимостью 20 см^3 по ГОСТ 1770.
Цилиндр исполнений 1 и 3, вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 1770.
Пипетки исполнений 4, 5, вместимостью 1 и 2 см^3 по ГОСТ 29227.
Пипетки исполнений 6, 7, вместимостью 5 и 10 см^3 по ГОСТ 29227.
Стакан химический типов В и Н, исполнений 1, 2, вместимостью 25 см^3 по ГОСТ 25336.
Рибофлавин по ГФК ст. 585.
Кислота серная по ГОСТ 4204, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,3 г/см^3.
Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,1 моль/дм^3.
Кислота уксусная ледяная по ГОСТ 61, х. ч. или ч. д. а.
Натрий сернокислый безводный по ГОСТ 4166, х. ч. или ч. д. а.
Натрий уксуснокислый по ГОСТ 199, х. ч. или ч. д. а., насыщенный водный раствор.
Натрий гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 7 моль/дм^3.
Калий марганцовокислый по ГОСТ 20490, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,03 г/см^3, готовится еженедельно.
Водорода перекись по ГОСТ 177, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,03 г/см^3, готовится еженедельно.
Хлороформ по ГОСТ 20015.
Толуол по ГОСТ 5789, ч. д. а.
Амилоризин П10Х по ОСТ 64—037.
Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

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 рибофлавина

Навеску рибофлавина массой 0,020 г помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, добавляют 750 см^3 дистиллированной воды и 1 см^3 ледяной уксусной кислоты и слегка нагревают для лучшего растворения. После полного растворения рибофлавина раствор охлаждают до комнатной температуры и доводят объем дистиллированной водой до метки.

Приготовленный раствор переносят в склянку из темного стекла с притертой пробкой.

Концентрация основного стандартного раствора рибофлавина составит 20 мкг/см^3.

Раствор хранят в холодильнике не более 1 мес.

3.3. Приготовление рабочего стандартного раствора рибофлавина

7—10 см^3 основного стандартного раствора рибофлавина помещают в химический стакан и выдерживают в темном месте до приобретения раствором комнатной температуры.

Затем 5 см^3 основного стандартного раствора рибофлавина переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят объем дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

Концентрация рабочего стандартного раствора рибофлавина составит 1 мкг/см^3.

Раствор готовят в день проведения анализа.

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

4.1. Рибофлавин определяют в двух параллельных навесках продукта.

4.2. Гидролиз

Навеску продукта массой 10,0 г* помещают в колбу вместимостью 250 см^3 и приливают 150 см^3 раствора соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3.

---

* Масса навески должна обеспечить концентрацию рибофлавина в измеряемом растворе в диапазоне 0,04—0,25 мкг/см^3, что при данных навеске и разведениях будет соответствовать содержанию рибофлавина в продукте 0,10—0,60 мг/100 г.

Гидролиз осуществляют на кипящей водяной бане в течение 40 мин, закрыв горло колбы воронкой диаметром 35 мм.

Содержимое колбы следует периодически перемешивать, особенно в первые 5 мин.

По окончании гидролиза колбу охлаждают до комнатной температуры и с помощью насыщенного водного раствора уксуснокислого натрия доводят pH гидролизата до 4,5±0,1 (потенциометрически).

После этого к гидролизату добавляют навеску амилоризина массой 0,10 г, 2—3 капли толуола и затем колбу помещают в термостат на 14—16 ч при температуре 37 °С. После этого гидролизат охлаждают, доводят его объем до 250 см^3 дистиллированной водой и фильтруют. В фильтрате определяют содержание рибофлавина.

Если имеется необходимость прервать анализ на 1—2 дня, то перед доведением объема до 250 см^3 гидролизат кипятят 5 мин, охлаждают, доводят объем до 250 см^3 и фильтруют.

Одновременно аналогичным образом готовят контрольный раствор на содержание рибофлавина в амилоризине, используя то же количество ферментного препарата и реактивов, но без навески исследуемой пробы.

До проведения анализа фильтрат хранят в холодильнике в плотно закрытой колбе.

4.3. Очистка гидролизата от примесей, мешающих определению

К 100 см^3 фильтрата добавляют 2 см^3 раствора серной кислоты концентрации 0,3 г/см^3 и с помощью пипетки или бюретки по каплям раствор марганцовокислого калия концентрации 0,03 г/см^3, постоянно перемешивая до получения малинового окрашивания.

Избыток марганцовокислого калия удаляют добавлением по каплям раствора перекиси водорода до обесцвечивания фильтрата.

Количество израсходованных растворов серной кислоты, марганцовокислого калия и перекиси водорода (в кубических сантиметрах) приплюсовывают к первоначально взятому на окисление объему фильтрата, чтобы определить конечный объем раствора.

Полученный раствор переносят в делительную воронку, добавляют 30—50 см^3 хлороформа и встряхивают в течение 1 мин. После разделения слоев хлороформный слой (нижний) отбрасывают, а водную фазу используют для дальнейшего определения.

4.4. Фотолиз

Фотолиз проводят в пяти конических колбах с притертыми пробками.

В четыре колбы наливают по 20 см^3 очищенного гидролизата, в две из которых добавляют по 2 см^3 рабочего стандартного раствора рибофлавина.

В пятую колбу наливают 20 см^3 контрольного раствора.

Во все пять колб добавляют по 4 см^3 раствора гидроокиси натрия концентрации 7 моль/дм^3, закрывают колбу пробками, перемешивают содержимое и облучают их светом двух светильников с лампами накаливания по 100 Вт каждая с расстояния 30 см в течение 40 мин.

Температура окружающего воздуха должна быть не более 25 °С. Для поддержания указанной температуры воздуха используют настольный вентилятор.

Немедленно по окончании облучения растворы во всех колбах подкисляют 4 см^3 ледяной уксусной кислоты, добавляют к ним по 20 см^3 хлороформа, закрывают притертыми пробками и встряхивают в течение 2 мин, избегая образования эмульсии.

Затем все колбы оставляют на 10—15 мин для расслоения водной и хлороформной фаз.

После этого пипеткой отбирают по 10—12 см^3 хлороформного раствора (нижний слой), который фильтруют через бумажный фильтр с безводным сернокислым натрием в флюорометрические пробирки.

Время с момента начала фильтрации раствора люмифлавина до измерения его флюоресценции не должно превышать 30 мин.

4.5. Измерение флюоресценции хлороформного раствора

При работе на флюорометре марки ЭФ-ЗМА устанавливают светофильтры для витамина B_2.

При работе на флюорометре марки ФМ-Ц-2 устанавливают светофильтры, дающие длины волн возбуждения и флюоресценции 450 и 550 нм соответственно.

Измерение интенсивности флюоресценции растворов осуществляют по отношению к хлороформу.

При работе на флюорометрах других марок интенсивность флюоресценции люмифлавина измеряют при светофильтрах, дающих длины волн возбуждения в области 350—480 нм, флюоресценции — 475—650 нм.

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Массовую долю рибофлавина (X), мг на 100 г продукта, вычисляют по формулам:

$$X = \frac{(A - A_1) \cdot X_1 \cdot V \cdot V_1}{(A_2 - A) \cdot m \cdot V_2 \cdot V_3 \cdot 10},$$

или

$$X = \frac{(A - A_1) \cdot V_1}{(A_2 - A) \cdot 400},$$

где A — интенсивность флюоресценции испытуемого раствора без добавления стандартного раствора рибофлавина, среднее из двух параллельных определений, ед. прибора;

A_1 — интенсивность флюоресценции контрольного раствора, ед. прибора;

A_2 — интенсивность флюоресценции испытуемого раствора с добавлением стандартного раствора рибофлавина, среднее из двух параллельных определений, ед. прибора;

X_1 — массовая доля добавленного рибофлавина, мкг;

m — масса пробы продукта, используемая для испытания, г;

V — общий объем гидролизата, см^3;

V_1 — объем гидролизата после окисления, см^3;

V_2 — объем гидролизата, используемый для очистки от примесей, см^3;

V_3 — объем гидролизата, используемый для облучения, см^3;

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

400 — коэффициент, включающий постоянные величины: X_1 = 2 мкг; m = 10 г; V = 250 см^3, V_2 = 100 см^3, V_3 = 20 см^3 и коэффициент пересчета = 10.

5.2. Вычисления проводят с точностью до третьего десятичного знака с последующим округлением до второго десятичного знака.

Полученный результат должен быть в диапазоне 0,10—0,60 мг/100 г продукта. В противном случае испытание повторяют с уточненной навеской продукта (см. п. 4.2).

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 0,24 $\overline{X}$.

5.4. При контрольных определениях допускаемое расхождение (D) между контрольным и первоначальным определениями в мг/100 г не должно превышать 0,38 $\overline{\overline{X}}$ ($\overline{\overline{X}}$ — 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
ГОСТ 61—75	2
ГОСТ 177—88	2
ГОСТ 199—78	2
ГОСТ 1770—74	2
ГОСТ 2239—79	2
ГОСТ 3118—77	2
ГОСТ 4025—95	2
ГОСТ 4166—76	2
ГОСТ 4204—77	2
ГОСТ 4328—77	2
ГОСТ 5667—65	1.2
ГОСТ 5789—78	2
ГОСТ 6709—72	2
ГОСТ 7128—91	1.4
ГОСТ 7402—84	2
ГОСТ 8494—96	1.3
ГОСТ 8607—82	2
ГОСТ 12026—76	2
ГОСТ 20015—88	2
ГОСТ 20490—75	2
ГОСТ 21400—75	2
ГОСТ 25336—82	2
ГОСТ 27668—88	1.1
ГОСТ 29227—91	2
ГОСТ 29251—91	2
ОСТ 64—037—87	2
ТУ 23.2.2068—89	2
ГФК ст. 585	2

5. **ПЕРЕИЗДАНИЕ**

gost.e-ecolog.ru