ГОСТ 29138—91

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МУКА, ХЛЕБ И ХЛЕБОБУЛОЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ ПШЕНИЧНЫЕ ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА B_1 (ТИАМИНА)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2007

gost.e-ecolog.ru

Группа Н39

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МУКА, ХЛЕБ И ХЛЕБОБУЛОЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ ПШЕНИЧНЫЕ ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ

Метод определения витамина B_1 (тиамина)

ГОСТ 29138—91

Wheat vitaminized flour, bread and baked products.
Method for vitamin B_1 (tiamin) 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 B_1 (тиамина) — свободной и связанной форм.

Сущность метода заключается в освобождении связанных форм тиамина гидролизом, экстракционной очистке полученного гидролизата от соединений, мешающих флюорометрическому определению, количественном переводе в щелочной среде тиамина в тиохром, экстракции тиохрома и измерении интенсивности флюоресценции тиохрома 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 360—390 нм и флюоресценции 400—450 нм.

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

Мясорубка бытовая по ГОСТ 4025.

Нож.

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

Баня водяная лабораторная.

Баня глицериновая или песчаная.

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

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

Смеситель-качалка.

Секундомер.

Иономер.

Полотно решетное типа I, № 11 по ТУ 23.2.2068.

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, 500 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Цилиндры исполнений 2 и 4, вместимостью 25 и 250 $см^3$ по ГОСТ 1770.

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

Издание официальное Перепечатка воспрещена

Воронки лабораторные диаметром 35 и 75 мм по ГОСТ 25336.

Стаканы химические типов В и Н, исполнений 1, 2, вместимостью 25 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Палочки стеклянные по ГОСТ 21400.

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.

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

Тиамин хлорид по ФС 42—2413.

Амилоризин П10Х по ОСТ 64—037.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,1 моль/$дм^3$.

Спирт изобутиловый по ГОСТ 9536, х. ч. или бутиловый по ТУ 09—664.

Толуол по ГОСТ 5789, ч. д. а.

Калий железосинеродистый по ГОСТ 4206, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,01 г/$см^3$; хранят в темной склянке не более 2 сут.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч. или ч. д. а., раствор концентрации 0,3 г/$см^3$.

Натрий уксуснокислый по ГОСТ 199, х. ч. или ч. д. а., насыщенный водный раствор.

Уголь активный осветляющий древесный по ГОСТ 4453.

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 тиамина

Навеску тиамина хлорида массой 0,126 г* помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, доводят объем дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивают, переносят в склянку из темного стекла с притертой пробкой и добавляют 0,5 $см^3$ толуола.

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

Раствор хранят в холодильнике не более 2 мес.

3.3. Приготовление рабочего стандартного раствора тиамина

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

Затем 1 $см^3$ основного стандартного раствора тиамина, отобранного пипеткой вместимостью 1 $см^3$, переносят в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, доводят объем дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

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

Раствор готовят в день проведения анализа.

3.4. Приготовление окислительной смеси

К 2 $см^3$ раствора железосинеродистого калия концентрации 0,01 г/$см^3$ прибавляют 10 $см^3$ раствора гидроокиси натрия концентрации 0,3 г/$см^3$ и тщательно перемешивают. Смесь пригодна к употреблению в течение 2—3 ч.

3.5. Очистка бутилового и изобутилового спиртов

Перед проведением анализа измеряют флюоресценцию используемых спиртов в сравнении с дистиллированной водой. При наличии флюоресценции спирт очищают.

Для этого к 1 $дм^3$ спирта прибавляют навеску активного угля массой от 15 до 20 г, встряхивают в течение 30 мин на смесителе-качалке, оставляют на сутки, затем декантируют, фильтруют и перегоняют на глицериновой или песчаной бане при температуре 117 °С (бутанол) и 108 °С (изобутанол).

После очистки проверяют отсутствие флюоресценции спирта в сравнении с дистиллированной водой.

---

* Данная навеска тиамина хлорида соответствует 0,100 г основного биологически активного вещества (тиамина).

4. ПРОВЕДЕНИЕ ИСПЫТАНИЯ

4.1. Тиамин 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.

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 объем до 250 см^3 дистиллированной водой и фильтруют. В фильтрате определяют содержание тиамина.

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

4.3. Очистка фильтрата от примесей, мешающих определению

В день проведения испытания 25 см^3 фильтрата переносят в делительную воронку вместимостью 250 см^3, добавляют 25 см^3 бутилового или изобутилового спирта. Воронку встряхивают в течение 1 мин и после отстаивания для разделения слоев водный слой (нижний) собирают в колбу вместимостью 100 см^3.

Аналогичным образом поступают с приготовленным рабочим стандартным раствором тиамина.

4.4. Окисление тиамина в тиохром

В три конические колбы отмеривают по 5 см^3 очищенного гидролизата. Затем в две из них добавляют по 1,2 см^3 окислительной смеси, а в третью — 1,2 см^3 раствора гидроокиси натрия концентрации 0,3 г/см^3 (контрольный раствор к испытуемому раствору). Все колбы энергично встряхивают, прибавляют по 10 см^3 изобутилового спирта и снова энергично встряхивают в течение 1 мин для извлечения тиохрома. Водный и спиртовой слои разделяют отстаиванием в темном месте. Затем спиртовой слой (верхний) сливают в кюветы для измерения интенсивности флюоресценции.

Аналогичным образом поступают с очищенным рабочим стандартным раствором тиамина.

Время с момента начала экстракции тиохрома до измерения его флюоресценции не должно превышать 30 мин.

4.5. Измерение флюоресценции тиохрома

При работе на флюорометре марки ЭФ-ЗМА устанавливают светофильтры для B_1, стрелка прибора выводится на нулевое деление по воздуху, затем на деление 50 единиц — по экстракту тиохрома из рабочего стандартного раствора.

При работе на флюорометре марки ФМ-Ц-2 устанавливают светофильтры, дающие длины волн возбуждения 360 нм и флюоресценции — 420 нм.

Измерение интенсивности флюоресценции растворов осуществляют по отношению к бутиловому или изобутиловому спирту.

При работе на флюорометрах других марок интенсивность флюоресценции тиохрома измеряют при светофильтрах, дающих диапазон длин волн возбуждения в области 360—390 нм и флюоресценции — 400—450 нм.

5. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1. Массовую долю тиамина (X), мг на 100 г продукта, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(A - A_1) \cdot X_1 \cdot V}{(B - B_1) \cdot V_1 \cdot m \cdot 10} \quad \text{или} \quad X = \frac{(A - A_1)}{(B - B_1) \cdot 2},$$

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

---

* Масса навески должна обеспечить концентрацию тиамина в измеряемом растворе в диапазоне 0,10—0,40 мкг/см^3, что при данных навеске и разведениях будет соответствовать содержанию тиамина в продукте 0,25—1,00 мг/100 г.

A_1 — интенсивность флюоресценции контрольного раствора к испытуемому раствору, ед. прибора;
B — интенсивность флюоресценции стандартного раствора тиамина, среднее из двух параллельных определений, ед. прибора;
B_1 — интенсивность флюоресценции контрольного раствора к стандартному раствору тиамина, ед. прибора;
X_1 — массовая доля тиамина в используемом для окисления тиамина в тиохром объеме стандартного раствора, мкг;
m — масса пробы продукта, используемая для испытания, г;
V — общий объем гидролизата, $см^3$;
V_1 — объем испытуемого раствора, используемый для окисления тиамина в тиохром, $см^3$;
10 — коэффициент пересчета из мкг/г в мг/100 г продукта;
2 — коэффициент, включающий постоянные величины: X_1=1 мкг; m=10 г; V=250 $см^3$; V_1=5 $см^3$ и коэффициент пересчета =10.

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

Полученный результат должен быть в диапазоне 0,25—1,00 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 0,15 $\overline{X}$.

5.4. При контрольных определениях допускаемое расхождение (D) между контрольным и первоначальным определениями в мг/100 г не должно превышать 0,42 $\overline{\overline{X}}$ ($\overline{\overline{X}}$ — 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 199—78	2
ГОСТ 1770—74	2
ГОСТ 3118—77	2
ГОСТ 4025—95	2
ГОСТ 4206—75	2
ГОСТ 4328—77	2
ГОСТ 4453—74	2
ГОСТ 5667—65	1.2
ГОСТ 5789—78	2
ГОСТ 6709—72	2
ГОСТ 7128—91	1.4
ГОСТ 8494—96	1.3
ГОСТ 9536—79	2
ГОСТ 12026—76	2
ГОСТ 21400—75	2
ГОСТ 25336—82	2
ГОСТ 27668—88	1.1
ГОСТ 29227—91	2
ОСТ 64—037—87	2
ТУ 09—664—77	2
ТУ 23.2.2068—89	2
ФС 42—2413—85	2

5. **ПЕРЕИЗДАНИЕ**

gost.e-ecolog.ru