МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНОВ B_1 И B_2

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

УДК 664.841:543.06:006.354 Группа Н59

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ И ОВОЩЕЙ

Методы определения витаминов B_1 и B_2

ГОСТ 25999—83

Products of fruits and vegetables processing.
Methods of determination of vitamins B_1 and B_2

МКС 67.080.01
ОКСТУ 9109

Дата введения 01.01.85

Настоящий стандарт распространяется на пищевые консервированные продукты из овощей, фруктов, ягод, овощей с мясом, крупами, молоком и устанавливает методы определения витаминов B_1 и B_2.

Предел обнаружения массовой доли витамина B_1 составляет $0{,}008 \cdot 10^{-3}$ %, витамина B_2 — $0{,}005 \cdot 10^{-3}$ % при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

1. ОТБОР ПРОБ

1.1. Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 8756.0.

2. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА B_1 (ТИАМИНА)

2.1. Сущность метода

Сущность метода основана на кислотном и ферментативном гидролизе связанных форм витамина, очистке гидролизата на колонке с катионитом, окислении тиамина в тиохром и измерении интенсивности флуоресценции при длинах волн 320—390 нм возбуждающего и 400—580 нм излучаемого света.

2.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104*, 1 класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104*, с наибольшим пределом взвешивания 500 г и допускаемой погрешностью ±0,01 г.

pH-метр лабораторный с диапазоном измерений величины pH от 4 до 9 и допускаемой погрешностью ±0,05 pH в диапазоне измерений.

Термостат, обеспечивающий поддерживание температуры 37 °С, с погрешностью ±0,5 °С.

Флуорометр, с основной приведенной погрешностью не более 2 %.

Электрошкаф сушильный лабораторный, обеспечивающий поддержание температуры 100 °С, с погрешностью ±8 °С.

Баня водяная.

Воронки делительные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 50 или 100 $см^3$.

Воронки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 диаметром от 56 до 150 мм.

Колбы мерные лабораторные стеклянные по ГОСТ 1770 вместимостью 100, 250, 1000 $см^3$.

Колбы лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 250 $см^3$.

Колонки для хроматографии. Состоят из соединенных между собой стеклянных трубок различного диаметра. Верхняя часть колонки должна быть длиной 9—10 см и внутренним диаметром 2,5—3,0 см, нижняя — длиной 14—15 см, внутренним диаметром 0,6—0,7 см. Колонку должны закрывать краном. При отсутствии крана в колонке она должна состоять из трех трубок: две верхние

* С 1 июля 2002 г. действует ГОСТ 24104—2001. С 1 января 2010 г. на территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**
© Издательство стандартов, 1983
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

трубки должны иметь те же параметры, нижняя является капиллярной трубкой длиной 2,5—3,0 см, внутренним диаметром 0,10—0,15 см.

Палочки стеклянные по ГОСТ 25336.

Пипетки мерные лабораторные стеклянные по НТД вместимостью 1, 2, 5, 10, 20 $см^3$.

Прибор для перегонки на шлифах.

Пробирки градуированные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 20, 25 $см^3$.

Стаканы лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 50, 200 $см^3$.

Цилиндры мерные лабораторные стеклянные по ГОСТ 1770 вместимостью 10, 25, 50, 100, 250 $см^3$.

Бумага индикаторная универсальная.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Аммоний роданистый по ГОСТ 27067, раствор с массовой долей 50 %.

Калий железосинеродистый по ГОСТ 4206, раствор с массовой долей 1 %. Хранят в темной склянке в течение двух дней.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, растворы с молярной концентрацией c (HCl) = 0,1 $моль/дм^3$ и объемной долей 50 %.

Калий хлористый по ГОСТ 4234, раствор с массовой долей 25 % в растворе соляной кислоты c (HCl) = 0,1 $моль/дм^3$.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, ледяная и раствор с массовой долей 3 %.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, растворы с массовой долей 10 и 30 %.

Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199, насыщенный раствор. Готовят растворением 200 г соли в 300 $см^3$ дистиллированной воды.

Катионит КРС-1п, КРС-3пТ40 или КРС-8п, фракция 0,5—1,0 мм.

Препарат ферментный амилоризин П10Х по ГОСТ 26142.

Препарат ферментный пектаваморин П10Х по НТД.

Спирт изобутиловый по ГОСТ 6016 (или *н*-бутиловый, изоамиловый). Перед использованием измеряют интенсивность флуоресценции. При наличии флуоресценции спирт очищают перегонкой.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962*.

Тиамина хлорид (или тиамина бромид), растворы с массовыми концентрациями 0,1; 0,001; 0,0001 $г/дм^3$.

Фермент пепсин.

2.3. Подготовка к анализу

2.3.1. *Приготовление стандартного раствора тиамина*

Раствор готовят из тиамина следующим образом: тиамин предварительно высушивают в течение 2 ч в сушильном шкафу при 100 °С. Раствор с массовой концентрацией 0,1 $г/дм^3$ хранят в темной склянке в холодильнике в течение месяца. Растворы с массовыми концентрациями 0,01 и 0,0001 $г/дм^3$ готовят в день проведения анализа.

Для приготовления раствора с массовой концентрацией 0,1 $г/дм^3$ растворяют 0,100 г тиамина в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 1000 $см^3$, прибавляют 10 капель концентрированной соляной кислоты, доводят до метки водой и перемешивают.

Для приготовления раствора тиамина с массовой концентрацией 0,001 $г/дм^3$ 1,0 $см^3$ раствора с концентрацией 0,1 $г/дм^3$ отбирают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Для приготовления раствора тиамина с массовой концентрацией 0,0001 $г/дм^3$ 10,0 $см^3$ раствора с концентрацией 0,001 $г/дм^3$ отбирают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

2.3.2. *Обработка, регенерация катионита и заполнение колонок*

Неиспользованный катионит предварительно заливают раствором соляной кислоты с объемной долей 50 %, выдерживают в течение суток и промывают декантацией дистиллированной водой до удаления ионов железа. Отсутствие ионов железа проверяют по раствору роданистого аммония. Для этого в стакан вместимостью 50 $см^3$ прибавляют 5—10 $см^3$ воды после промывания катионита, 10 капель раствора соляной кислоты с объемной долей 50 %, 3 $см^3$ раствора роданистого аммония. Промытый катионит должен иметь бесцветную реакцию промывной воды.

---

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

Перед заполнением колонки катионитом в нижнюю часть колонки над краном или над капиллярной трубкой помещают небольшое количество стеклянной ваты. Для заполнения колонки в нее наливают смесь катионита с водой после взбалтывания. Высота слоя катионита в колонке — 9—10 см.

Для регенерации катионита после проведения анализа в колонку наливают раствор гидроокиси натрия с массовой долей 10 %, пропускают его до выхода из колонки и затем, закрыв кран, выдерживают 20—30 мин. При отсутствии в колонке крана на нижний конец ее должна быть надета резиновая трубка внутренним диаметром 0,3—0,4 см и поднята на уровень слоя жидкости в колонке. Катионит на колонке промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции по универсальной индикаторной бумаге.

2.3.3. *Приготовление окислительной смеси*

Окислительную смесь готовят смешиванием 2,0 $см^3$ раствора железосинеродистого калия с 10,0 $см^3$ раствора гидроокиси натрия с массовой долей 30 %.

2.3.4. *Приготовление гидролизата*

Навеску пробы массой 50,0 г — для консервированного продукта без добавления витаминов, 20,0 г — с добавлением витаминов переносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, прибавляют 150 $см^3$ раствора соляной кислоты *с* (HCl) = 0,1 моль/$дм^3$ и нагревают на кипящей водяной бане в течение 40 мин. Затем охлаждают до комнатной температуры и проводят ферментативный гидролиз.

При анализе фруктовых и ягодных консервов с большим содержанием пектиновых веществ (из яблок, крыжовника, черной смородины и др.) используют ферментный препарат амилоризин П10Х и пектаваморин П10Х.

В остальных случаях используют только амилоризин П10Х.

Предварительно устанавливают величину pH 4,2—4,5. Для этого содержимое колбы помещают в стакан вместимостью 200 $см^3$, прибавляют при постоянном перемешивании раствор уксуснокислого натрия до нужной величины pH. Измерение величины pH производят pH-метром, после этого содержимое стакана переносят в ту же колбу вместимостью 250 $см^3$. Затем прибавляют 0,10 г амилоризина П10Х, или по 0,10 г амилоризина П10Х и пектаваморина П10Х перемешивают, закрывают пробкой и выдерживают в термостате при 37 °С в течение 12—16 ч. Гидролизат охлаждают до комнатной температуры, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют.

Овощные консервы с мясом обрабатывают ферментами пепсином и амилоризином П10Х. Для этого в колбу помещают 0,10 г пепсина и выдерживают в термостате при 37 °С в течение 4 ч. Затем устанавливают величину pH 4,2—4,5, прибавляют 0,10 г амилоризина П10Х, перемешивают и снова выдерживают в термостате при той же температуре в течение 12—16 ч. После этого гидролизат охлаждают, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют.

2.4. Проведение анализа

2.4.1. *Очистка гидролизата*

Перед очисткой гидролизата катионит на колонке переводят в Н-форму. Для этого через колонку пропускают 20,0 $см^3$ раствора уксусной кислоты, нагретой до температуры 60—70 °С. Затем в одну колонку вносят 20,0 $см^3$ гидролизата, в другую 20,0 $см^3$ стандартного раствора тиамина с массовой концентрацией 0,0001 г/$дм^3$. Скорость пропускания через колонку — не менее 15 капель в 1 мин. После прохождения раствора катионит на колонке промывают дистиллированной водой три раза по 10 $см^3$ и вносят 20,0 $см^3$ раствора хлористого калия, нагретого до температуры 60—70 °С. Собирают 20,0 $см^3$ элюата в градуированные пробирки или цилиндры вместимостью 20 или 25 $см^3$.

2.4.2. *Окисление тиамина в тиохром*

В две делительные воронки помещают по 5,0 $см^3$ элюата, полученного после очистки гидролизата пробы. В две другие — по 5,0 $см^3$ элюата, полученного после пропускания через колонку стандартного раствора тиамина. Затем в две воронки (с элюатами пробы и стандартного раствора) прибавляют по 1,20 $см^3$ окислительной смеси (окисленная форма), в две другие (с теми же растворами) — по 1,20 $см^3$ раствора гидроокиси натрия с массовой долей 30 % (неокисленная форма). Содержимое воронок перемешивают, прибавляют по 10,0 $см^3$ изобутилового спирта и встряхивают в течение 1 мин. Для ускорения расслаивания после взбалтывания прибавляют по 0,50 $см^3$ этилового спирта. После расслаивания жидкостей нижний водный слой удаляют, а верхний

органический слой сливают в кювету для измерения интенсивности флуоресценции. Измеряют сначала интенсивность флуоресценции стандартных растворов (окисленная и неокисленная форма), затем анализируемых проб.

2.5. Обработка результатов

Массовую долю витамина B_1 (X_1) в процентах вычисляют по формуле

$$X_1 = \frac{(C - C_1) \cdot a \cdot K \cdot V \cdot 100}{(Д - Д_1) \cdot V_1 \cdot m},$$

где C — интенсивность флуоресценции окисленной формы анализируемого раствора;

C_1 — интенсивность флуоресценции неокисленной формы анализируемого раствора;

$Д$ — интенсивность флуоресценции окисленной формы стандартного раствора;

$Д_1$ — интенсивность флуоресценции неокисленной формы стандартного раствора;

a — масса тиамина в 5 см^3 стандартного раствора, взятая для окисления, г;

K — коэффициент пересчета тиамина бромида на тиамина хлорид, при использовании для приготовления стандартного раствора тиамина хлорида $K = 1$; тиамина бромида $K = 1{,}17$;

V — общий объем гидролизата, см^3;

V_1 — объем элюата, взятый для окисления, см^3;

m — масса навески продукта, г.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений с доверительной вероятностью 0,95, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать: $0{,}004 \cdot 10^{-3}$ % абс. — при массовой доле витамина B_1 не более $0{,}050 \cdot 10^{-3}$ %; $0{,}060 \cdot 10^{-3}$ % абс. — при массовой доле витамина B_1 более $0{,}050 \cdot 10^{-3}$ %.

3. РИБОФЛАВИНОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА B_2

3.1. Сущность метода

Сущность метода основана на кислотном и ферментативном гидролизе связанных форм витамина, окислении пигментов марганцовокислым калием, восстановлении рибофлавина гидросульфитом натрия и измерении интенсивности флуоресценции до и после восстановления при длинах волн 360—480 нм возбуждающего и 510—650 нм излучаемого света.

Метод предназначен для анализа слабоокрашенных овощных, фруктовых и ягодных консервированных продуктов.

3.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения анализа применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в п. 2.2, со следующими дополнениями.

Эксикатор вакуумный по ГОСТ 25336.

Колбы лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 вместимостью 50 см^3.

Водорода перекись по ГОСТ 10929, раствор с массовой долей 3 %. Срок хранения семь дней.

Калий марганцовокислый по ГОСТ 20490, раствор с массовой долей 3 %. Срок хранения семь дней.

Кислота серная по ГОСТ 4204, раствор с массовой долей 93,6—95,6 %.

Натрия гидросульфит технический по ГОСТ 246.

Рибофлавин, растворы с массовыми концентрациями 0,02 и 0,001 г/дм^3.

3.3. Подготовка к анализу

3.3.1. *Приготовление стандартного раствора рибофлавина*

Раствор готовят из рибофлавина следующим образом: предварительно высушивают рибофлавин в вакуум-эксикаторе над концентрированной серной кислотой. Раствор с концентрацией 0,02 г/дм^3 хранят в холодильнике в течение месяца. Раствор с концентрацией 0,001 г/дм^3 готовят в день проведения анализа.

Для приготовления стандартного раствора рибофлавина с массовой концентрацией 0,02 г/дм^3 в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 помещают 0,020 г рибофлавина, прибавляют около 750 см^3 дистиллированной воды, 1,0 см^3 ледяной уксусной кислоты и слегка нагревают при перемешивании до растворения. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, доводят до метки дистиллированной водой и снова перемешивают.

Для приготовления раствора рибофлавина с массовой концентрацией 0,001 г/дм^3 отбирают 5,0 см^3 раствора с массовой концентрацией 0,02 г/дм^3 в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

3.3.2. *Приготовление гидролизата*

Приготовление гидролизата проводят по п. 2.3.4, с дополнением, указанным ниже.

Для определения поправки на содержание витамина B_2 в ферментах одновременно проводят контрольный опыт. В мерную колбу вместимостью 250 см^3 помещают 150 см^3 раствора соляной кислоты c (HCl) = 0,1 моль/дм^3, устанавливают с помощью раствора уксуснокислого натрия величину pH 4,2—4,5. Прибавляют 0,10 г амилоризина П10Х или по 0,10 г амилоризина П10Х и пектаваморина П10Х и выдерживают в термостате при 37 °С в течение 12—16 ч.

При использовании амилоризина П10Х и пепсина в колбу с раствором соляной кислоты c (HCl) = 0,1 моль/дм^3 прибавляют сначала 0,10 г пепсина и выдерживают в термостате 4 ч при той же температуре. Затем устанавливают величину pH 4,2—4,5, прибавляют 0,10 г амилоризина П10Х и снова выдерживают 12—16 ч при 37 °С. После этого содержимое колбы охлаждают, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют.

Контрольный опыт проводят один раз для каждой партии ферментов.

3.4. Проведение анализа

3.4.1. В две колбы вместимостью 50 см^3 каждая помещают по 10,0 см^3 гидролизата пробы, в третью колбу — 10,0 см^3 гидролизата контрольного опыта. В одну колбу с анализируемым гидролизатом прибавляют 1,0 см^3 стандартного раствора рибофлавина с концентрацией 0,001 г/дм^3, в две другие — по 1,0 см^3 дистиллированной воды. Во все колбы прибавляют по 1,0 см^3 ледяной уксусной кислоты, 0,50 см^3 раствора марганцовокислого калия, перемешивают и выдерживают 2 мин. Затем прибавляют по 0,50 см^3 раствора перекиси водорода и снова перемешивают. Через 5 мин измеряют интенсивность флуоресценции сначала раствора с добавкой рибофлавина, затем раствора без добавки и контрольного опыта. Измерение интенсивности флуоресценции каждого раствора производят сначала без прибавления гидросульфита натрия, затем после его прибавления. Гидросульфит натрия прибавляют порциями по 0,02—0,05 г, быстро перемешивают и снова производят измерение. Эту операцию повторяют до установления наименьшей интенсивности флуоресценции.

3.5. Обработка результатов

Массовую долю витамина B_2 (X_2) в процентах вычисляют по формуле

$$X_2 = \frac{[(A - A_1) - (C - C_1)] \cdot b \cdot V \cdot 100}{[(Д - Д_1) - (A - A_1)] \cdot V_1 \cdot m},$$

где A — интенсивность флуоресценции раствора анализируемой пробы до прибавления гидросульфита натрия;

A_1 — интенсивность флуоресценции раствора анализируемой пробы после прибавления гидросульфита натрия;

C — интенсивность флуоресценции раствора контрольного опыта до прибавления гидросульфита натрия;

C_1 — интенсивность флуоресценции раствора контрольного опыта после прибавления гидросульфита натрия;

$Д$ — интенсивность флуоресценции раствора анализируемой пробы с добавкой рибофлавина до прибавления гидросульфита натрия;

$Д_1$ — интенсивность флуоресценции раствора анализируемой пробы с добавкой рибофлавина после прибавления гидросульфита натрия;

b — масса рибофлавина в стандартном растворе рибофлавина, добавленная в гидролизат анализируемой пробы, г;

V — общий объем гидролизата, см^3;

V_1 — объем гидролизата, взятый для окисления, см^3;

m — масса навески продукта, г.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений с доверительной вероятностью 0,95, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать: $0{,}008 \cdot 10^{-3}$ % абс. при массовой доле витамина B_2 не более $0{,}050 \cdot 10^{-3}$ %; $0{,}020 \cdot 10^{-3}$ % абс. — при массовой доле витамина B_2 более $0{,}050 \cdot 10^{-3}$ %.

4. ЛЮМИНОФЛАВИНОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА B_2

4.1. Сущность метода

Сущность метода основана на кислотном и ферментативном гидролизе связанных форм витамина, окислении пигментов марганцовокислым калием, облучении светом для перевода рибофлавина в люмифлавин, экстракции люмифлавина хлороформом и измерении интенсивности флуоресценции при длинах волн 360—480 нм возбуждающего и 510—650 нм излучаемого света.

Метод предназначен для анализа овощных консервов с мясом и крупами, а также темноокрашенных консервированных продуктов.

4.2. Аппаратура, материалы и реактивы

Для проведения анализа применяют аппаратуру, материалы и реактивы, указанные в пп. 2.2; 3.2, с дополнениями, указанными ниже.

Вентилятор бытовой по ГОСТ 7402.

Лампа накаливания электрическая общего назначения по ГОСТ 2239*, мощностью 100, 150, 200 Вт.

Бюретки по НТД вместимостью 50, 100 $см^3$.

Воронки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 диаметром 36 мм.

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

Колбы лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336 плоскодонные или конические с взаимозаменяемым конусом, вместимостью 100 $см^3$.

Кислота серная по ГОСТ 4204, раствор с массовой долей 30 %.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, раствор с молярной концентрацией c (NaOH) = 7 моль/$дм^3$.

Натрий сернокислый по ГОСТ 4166, безводный.

Хлороформ технический по ГОСТ 20015, высшего сорта. Перед использованием измеряют интенсивность флуоресценции. При наличии флуоресценции очищают перегонкой.

4.3. Подготовка к анализу

Подготовку к анализу проводят по пп. 2.3.4; 3.3.1; 3.3.2.

4.4. Проведение анализа

4.4.1. *Очистка гидролизата*

В колбу вместимостью 250 $см^3$ помещают 100 $см^3$ анализируемого гидролизата, в другую — 100 $см^3$ гидролизата контрольного опыта. В обе колбы прибавляют по 2,0 $см^3$ раствора серной кислоты. Затем пипеткой с делениями по каплям при постоянном перемешивании прибавляют раствор марганцовокислого калия до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Избыток розового окрашивания устраняют прибавлением по каплям раствора перекиси водорода. Отмечают израсходованные объемы растворов марганцовокислого калия и перекиси водорода. Полученный раствор переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, прибавляют 30—50 $см^3$ хлороформа и встряхивают 0,5 мин. Хлороформный слой удаляют, а водный экстракт используют для анализа.

4.4.2. *Облучение экстракта и получение люмифлавина*

В две колбы вместимостью 100 $см^3$ каждая прибавляют по 20,0 $см^3$ анализируемого экстракта, в третью — экстракт контрольного опыта. В колбу с анализируемым экстрактом прибавляют 2,0 $см^3$ стандартного раствора рибофлавина с массовой концентрацией 0,001 г/$дм^3$ и затем во все колбы по 4,0 $см^3$ раствора гидроокиси натрия с молярной концентрацией c (NaOH) = 7 моль/$дм^3$. Содержимое перемешивают, колбы закрывают пришлифованными пробками и облучают светом электролампы мощностью 100—200 Вт с расстояния (30±1) см в течение 40 мин.

Температура раствора должна быть от 15 до 25 °С. Для охлаждения используют настольный вентилятор. После облучения в колбы прибавляют по 4,0 $см^3$ ледяной уксусной кислоты, переме-

* На территории Российской Федерации в части ламп накаливания типов Б, В и Г действует ГОСТ Р 52706—2007.

шивают, прибавляют по 20,0 см^3 хлороформа и снова перемешивают в течение 0,5 мин. Содержимое колб переносят в делительные воронки вместимостью 50 см^3 и после расслаивания хлороформный раствор фильтруют в кюветы для измерения интенсивности флуоресценции. Для обезвоживания хлороформного раствора на воронку с фильтром помещают около 2,5 г безводного сернокислого натрия.

После этого измеряют интенсивность флуоресценции сначала раствора с добавкой рибофлавина, затем раствора без добавки и контрольного опыта.

4.5. Обработка результатов

Массовую долю витамина B_2 (X_3) в процентах вычисляют по формуле

$$X_3 = \frac{(A - C) \cdot n \cdot V \cdot (V_1 + V_1^1 + V_1^2 + V_1^3) \cdot 100}{(Д - A) \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot m},$$

где A — интенсивность флуоресценции хлороформного экстракта анализируемой пробы;

C — интенсивность флуоресценции хлороформного экстракта контрольного опыта;

$Д$ — интенсивность флуоресценции хлороформного экстракта анализируемой пробы с добавкой рибофлавина;

n — масса рибофлавина в стандартном растворе, добавленная в экстракт анализируемой пробы, г;

V — общий объем гидролизата, см^3;

V_1 — объем гидролизата, взятый для окисления, см^3;

V_1^1 — объем раствора серной кислоты с массовой долей 30 %, прибавленный в гидролизат перед окислением, см^3;

V_1^2 — объем раствора марганцовокислого калия, израсходованный на окисление гидролизата, см^3;

V_1^3 — объем раствора перекиси водорода, израсходованный на устранение избытка марганцовокислого калия, см^3;

V_2 — объем экстракта, взятый для облучения, см^3;

m — масса навески продукта, г.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений с доверительной вероятностью 0,95, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать $0{,}010 \cdot 10^{-3}$ % абс. — при массовой доле витамина B_2 не более $0{,}050 \cdot 10^{-3}$ %; $0{,}070 \cdot 10^{-3}$ % абс. — при массовой доле витамина B_2 более $0{,}050 \cdot 10^{-3}$ %.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Министерством плодоовощного хозяйства СССР

РАЗРАБОТЧИКИ

Г.М. Евстигнеев, канд. техн. наук; **В.И. Целинская,** канд. хим. наук; **З.В. Левина,** канд. техн. наук; **Н.В. Михайлова,** канд. хим. наук

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 14.12.83 № 5891

3. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 61—75	2.2	ГОСТ 6016—77	2.2
ГОСТ 199—78	2.2	ГОСТ 6709—72	2.2
ГОСТ 246—76	3.2	ГОСТ 7402—84	4.2
ГОСТ 1770—74	2.2	ГОСТ 8756.0—70	1.1
ГОСТ 2239—79	4.2	ГОСТ 10929—76	3.2
ГОСТ 3118—77	2.2	ГОСТ 12026—76	2.2
ГОСТ 4166—76	4.2	ГОСТ 20015—88	4.2
ГОСТ 4204—77	4.2, 5.2	ГОСТ 20490—75	3.2, 4.2
ГОСТ 4206—75	2.2	ГОСТ 24104—88	2.2
ГОСТ 4234—77	2.2	ГОСТ 25336—82	2.2, 3.2, 4.2
ГОСТ 4328—77	2.2, 4.2	ГОСТ 26142—84	2.2
ГОСТ 5962—67	2.2	ГОСТ 27067—86	2.2

4. Ограничение срока действия снято по протоколу № 4—93 Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 4—94)

5. ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2010 г.

gost.e-ecolog.ru