

**ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ
ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ**

**Метод измерения массовой доли
витамина РР (ниацина)**

Издание официальное

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН МТК 186 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	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
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. № 145 межгосударственный стандарт ГОСТ 30627.4—98 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 мая 2000 г.

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2009 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1999
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2009

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

ПРОДУКТЫ МОЛОЧНЫЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Метод измерения массовой доли витамина РР (ниацина)

Infant milk products.
Method for determination of mass part of vitamin РР (Nicotinamidum)

Дата введения 2000—05—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молочные продукты для детского питания и устанавливает колориметрический метод измерения массовой доли витамина РР (ниацина).

Метод основан на реакции, протекающей в две стадии: 1-я — взаимодействие пиридинового кольца никотиновой кислоты с бромистым роданом, 2-я — образование окрашенного производного глутаконового альдегида. Интенсивность окраски образующегося соединения прямо пропорциональна массовой доле витамина РР, измеряется колориметрически.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

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

ГОСТ 4109—79 Реактивы. Бром. Технические условия

ГОСТ 4139—75 Реактивы. Калий роданистый. Технические условия

ГОСТ 4174—77 Реактивы. Цинк сернистый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

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

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4530—76 Реактивы. Кальций углекислый. Технические условия

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 условия

ГОСТ 6016—77 Реактивы. Спирт изобутиловый. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. 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 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

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

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

- ГОСТ 25664—83 Метол (4-метиламинофенол сульфат). Технические условия
ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу
ГОСТ 27067—86 Реактивы. Аммоний роданистый. Технические условия
ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний
ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть I. Общие требования
ГОСТ 29251—91 (ИСО 835-1—84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть I. 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 фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Бюретка исполнения 1 2-го класса точности номинальной вместимостью 25 см³ по ГОСТ 29251.

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.

Воронка Бюхнера для горячего фильтрования.

Воронки стеклянные лабораторные типа В по ГОСТ 25336.

Капельница стеклянная лабораторная по ГОСТ 25336.

Колбы для фильтрования под вакуумом (колба Бунзена) вместимостью 2000 см³.

Колбы мерные исполнения 1 2-го класса точности номинальной вместимостью 50, 100, 250, 1000 см³ по ГОСТ 1770.

Колбы типа Кн исполнения 2 номинальной вместимостью 250, 1000 см³ по ГОСТ 25336.

Насос стеклянный водоструйный лабораторный.

Пипетки исполнений 4, 5 2-го класса точности номинальной вместимостью 1, 2, 5, 10 см³ по ГОСТ 29227.

Пипетки исполнений 6, 7 2-го класса точности номинальной вместимостью 25 см³ по ГОСТ 29227.

Пробирки стеклянные исполнений П1 и П2 номинальной вместимостью 50 см³ по ГОСТ 25336.

Секундомер 2-го класса [1].

Стакан фарфоровый номинальной вместимостью 1000 см³ по ГОСТ 9147.

Термометр жидкостный (нертутный) диапазоном измерения от 0 до 100 °С, ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

Фотометр фотоэлектрический диапазоном измерения от 220 до 1100 нм [2] или колориметр фотоэлектрический диапазоном измерения от 200 до 2000 нм, диапазоном измерения коэффициента пропускания от 100 до 1 % [3].

Цилиндры исполнения 1 вместимостью 50, 100, 250, 500 см³ по ГОСТ 1770.

Часы 2-го класса по ГОСТ 3145.

Шкаф вытяжной.

Активированный уголь.

Аммоний роданистый ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 27067.

Бром ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4109.

Витамин РР (никотиновая кислота) [4].

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Калий роданистый ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4139.

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

Кислота серная ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4204.

Кислота соляная ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 3118.

Метол х.ч. по ГОСТ 25664.

Натрия гидроокись ч.д.а. или х.ч. по ГОСТ 4328.

Спирт изобутиловый по ГОСТ 6016.

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

Фенолфталеин [5].

Цинк сернистый ч. по ГОСТ 4174.

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 Подготовка к выполнению измерений

5.1 Приготовление водного раствора серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2,5$ моль/дм³

139 см³ концентрированной серной кислоты плотностью 1,84 г/см³ осторожно приливают к 300 см³ дистиллированной воды в фарфоровом стакане, перемешивают, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, доводят дистиллированной водой до метки и вновь перемешивают.

5.2 Приготовление основного стандартного раствора никотиновой кислоты массовой концентрации 100 мкг/см³

Взвешивают $(0,050 \pm 0,004)$ г никотиновой кислоты на весах 2-го класса точности, растворяют в 300 см³ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 500 см³, приливают 5 см³ раствора серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2,5$ моль/дм³. После растворения доводят объем до метки дистиллированной водой и добавляют 0,5 см³ толуола.

Раствор хранят при (6 ± 2) °С не более 3 мес.

5.3 Приготовление рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты массовой концентрации 2 мкг/см³

2 см³ основного стандартного раствора никотиновой кислоты растворяют в 30—50 см³ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 см³, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.4 Приготовление раствора бромной воды

В темную склянку с притертой пробкой наливают 100 см³ дистиллированной воды, добавляют в вытяжном шкафу 4 см³ брома, хорошо встряхивают и выдерживают в защищенном от света месте 3—5 сут для лучшего насыщения.

5.5 Приготовление раствора роданистого калия или роданистого аммония массовой концентрации 0,1 г/см³

Взвешивают $(10,00 \pm 0,04)$ г роданистого калия или роданистого аммония на весах 4-го класса точности, растворяют в 50 см³ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 см³, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.6 Приготовление роданбромидного раствора

К 20 см³ охлажденной на льду бромной воде прибавляют по каплям охлажденный раствор роданистого калия или роданистого аммония массовой концентрации 0,1 г/см³ до полного обесцвечивания бромной воды. К обесцвеченному раствору постепенно добавляют небольшими порциями 0,10—0,15 г углекислого кальция, взвешенного на весах 4-го класса точности, до прекращения выделения пузырьков газа и образования осадка углекислого кальция.

Раствор фильтруют в склянку из темного стекла с притертой пробкой и до использования оставляют во льду.

Готовят роданбромидный раствор только в вытяжном шкафу и непосредственно перед применением.

5.7 Приготовление водного раствора серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05$ моль/дм³

2,8 см³ концентрированной серной кислоты плотностью 1,84 г/см³ растворяют в 300 см³ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см³, охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.8 Перекристаллизация метола

Отмеривают 500 см³ раствора серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05$ моль/дм³ в коническую колбу вместимостью 1000 см³ и нагревают до кипения. В кипящий раствор добавляют (100±0,4) г метола, взвешенного на весах 4-го класса точности, и вновь доводят до кипения. Если раствор сильно окрашен, к нему добавляют (10±0,1) г активированного угля, взвешенного на весах 4-го класса точности. Затем раствор немедленно фильтруют через воронку Бюхнера в колбу Буизена, предварительно нагретые в сушильном шкафу при (80±5) °С. Фильтрат переносят в химический стакан вместимостью 1000 см³, добавляют 700 см³ этилового спирта, размешивают стеклянной палочкой и выдерживают в холодильнике 14—16 ч. После этого фильтруют через воронку Бюхнера. Кристаллы на фильтре промывают трижды порциями 30—40 см³ охлажденного до (6±2) °С этилового спирта и высушивают на воздухе в темном месте.

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

5.9 Приготовление раствора метола массовой концентрации 0,08 г/см³

(8,00±0,04) г метола, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют в 30—50 см³ раствора соляной кислоты молярной концентрации $c(\text{HCl}) = 0,5$ моль/дм³ в мерной колбе вместимостью 100 см³, доводят объем до метки тем же раствором и перемешивают. Раствор готовят перед применением.

5.10 Приготовление раствора серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1$ моль/дм³

56 см³ концентрированной серной кислоты плотностью 1,84 г/см³ растворяют в 300—500 см³ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 см³, охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.11 Приготовление спиртового раствора фенолфталеина массовой концентрации 10 мг/см³

(1,00±0,04) г фенолфталеина, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют в 70 см³ этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 см³, добавляют 30 см³ дистиллированной воды и перемешивают.

5.12 Приготовление водного раствора сернокислого цинка массовой концентрации 0,8 г/см³

(80,00±0,04) г сернокислого цинка, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе вместимостью 100 см³, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.13 Приготовление водного раствора гидроокиси натрия молярной концентрации $c(\text{NaOH}) = 10$ моль/дм³

(400,0±0,4) г гидроокиси натрия, взвешенного на весах 4-го класса точности, растворяют при перемешивании в 500—700 см³ дистиллированной воды в фарфоровом стакане, раствор охлаждают до (20±5) °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.14 Приготовление водного раствора гидроокиси натрия молярной концентрации $c(\text{NaOH}) = 4$ моль/дм³

Взвешивают (160,0±0,4) г гидроокиси натрия на весах 4-го класса точности и растворяют при перемешивании в 500—700 см³ дистиллированной воды в фарфоровом стакане. Раствор охлаждают до (20±5) °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

5.15 Кислотный гидролиз

Взвешивают (6,00±0,04) г продукта на весах 4-го класса точности, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³ и приливают 75 см³ раствора серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1$ моль/дм³, смывая воронку и горлышко колбы этим же раствором. Колбу помещают в водяную баню температурой (90±5) °С на (90±1) мин. По истечении времени колбу охлаждают, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр.

5.16 Очистка фильтрата

25 см³ полученного фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 см³, пипеткой добавляют две капли спиртового раствора фенолфталеина и приливают раствор гидроокиси натрия молярной концентрации $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ моль/дм}^3$ до получения бледно-розового окрашивания. Избыток щелочи нейтрализуют раствором серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2,5 \text{ моль/дм}^3$ до обесцвечивания.

Затем раствор охлаждают до $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$, добавляют 2 см³ раствора сернокислого цинка массовой концентрации 0,8 г/см³ и для устранения пены 1—2 капли этилового или изобутилового спирта. Перемешивая содержимое колбы, добавляют по каплям раствор гидроокиси натрия молярной концентрации $c(\text{NaOH}) = 4 \text{ моль/дм}^3$ до образования густого осадка гидроокиси цинка и появления бледно-розового окрашивания. Избыток щелочи устраняют, добавляя по каплям раствор серной кислоты молярной концентрации $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2,5 \text{ моль/дм}^3$ до исчезновения бледно-розового окрашивания.

Оставляют смесь на (10 ± 1) мин, периодически перемешивая. Затем доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр.

При необходимости на этом этапе анализ можно прервать на 3—5 сут, сохраняя фильтрат при $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$.

5.17 Цветная реакция

Для проведения цветной реакции используют восемь пробирок. В четыре пробирки наливают по 5 см³ полученного фильтрата, в три следующие — по 5 см³ рабочего стандартного раствора никотиновой кислоты и в восьмую пробирку — 5 см³ дистиллированной воды (холостая проба).

Все пробирки помещают в водяную баню температурой $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ на 5 мин. Затем в две пробирки с фильтратом (условно обозначенные «опыт») и во все пробирки со стандартным раствором, а также в пробирку с дистиллированной водой из бюретки в вытяжном шкафу добавляют по 2 см³ роданбромидного раствора. Закрывают пробирки и перемешивают встряхиванием.

В две другие пробирки с фильтратом добавляют по 2 см³ дистиллированной воды (контроль на присутствие окрашенных и способных реагировать с метолом веществ). Все пробирки оставляют в водяной бане еще на 10 мин. По истечении времени все пробирки охлаждают водой до $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$, помещают на 10 мин в темное место и затем в каждую из них добавляют по 3 см³ раствора метола, перемешивают встряхиванием и оставляют на 60 мин в темном месте.

6 Проведение измерения

Содержимое всех пробирок фильтруют и измеряют оптическую плотность на фотометре при длине волны 425 нм.

7 Обработка результатов измерения

Массовую долю витамина РР (ниацина) X , мг·л⁻¹, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(A - A_1)mV_1}{(A_2 - A_3)m_1V_2V_3}$$

где A — среднеарифметическое значение показаний оптической плотности исследуемого раствора;

A_1 — среднеарифметическое значение показаний оптической плотности контроля на окрашенные вещества;

m — масса никотиновой кислоты в 5 см³ стандартного раствора, мг;

V — объем фильтрата после гидролиза, см³;

V_1 — объем раствора после обработки сернокислым цинком, см³;

A_2 — среднеарифметическое значение показаний оптической плотности стандартного раствора никотиновой кислоты;

A_3 — показание оптической плотности холостой пробы;

V_2 — объем гидролизата, взятый на обработку сернокислым цинком, см³;

V_3 — объем раствора, взятый для проведения цветной реакции, см³;

m_1 — масса продукта, взятая для анализа, г.

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

Относительная погрешность измерения массовой доли витамина РР — $\pm 30\%$ при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Расхождение между результатами двух параллельных измерений не должно превышать 30% среднеарифметического значения результатов измерений.

Расхождение между результатами измерений, выполненных в двух разных лабораториях, не должно превышать 30% по отношению к среднеарифметическому значению результатов измерений.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Библиография

- [1] ТУ 25—1819.0021 Секундомеры механические «Слава» ТУ 3—3.2164—89
- [2] Фотометр фотоэлектрический КФК-3
- [3] ТУ 3-КРАЮ.414216.001—90 Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2Ц
- [4] ГФ СССР—Х ст. 19 Никотиновая кислота (витамин РР)
- [5] ТУ 6—09—5360—87 Фенолфталеин

УДК 637.1:543.06:006.354

МКС 67.100.10

Н19

ОКСТУ 9209

Ключевые слова: витамин РР (ниацин), рабочий стандартный раствор, концентрация водного раствора, кислотный гидролиз, очистка фильтрата, цветная реакция
