МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ EN 12823-2— 2014

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания витамина А методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Часть 2

Измерение содержания бета-каротина

(EN 12823-2:2000, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» Комитета технического регулирования и метрологии и Техническим комитетом по стандартизации ТК 71 «Экологическая безопасность сырья, материалов, веществ и сооружений» на основе собственного перевода немецкоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5.

2 ВНЕСЕН Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 июня 2014 г. № 45-2014)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 5 мая 2016 г. № 289-ст межгосударственный стандарт ГОСТ EN 12823-2-2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен европейскому стандарту EN 12823-2:2000 «Продукты пищевые. Определение содержания витамина А методом жидкостной хроматографии высокого разрешения. Часть 2. Измерение содержания бета-каротина» («Foodstuffs - Determination of vitamin A by high performance liquid chromatography - Part 2: Measurement of β-carotene», IDT).

Европейский стандарт EN 12823-2:2000 подготовлен Техническим комитетом CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы», Европейского комитета по стандартизации (CEN).

Официальный экземпляр европейского стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и европейского и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Сведения о соответствии ссылочных европейских региональных стандартов межгосударственным стандартам приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2016

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Сущность метода 1
4 Реактивы 1
5 Оборудование 3
6 Отбор проб 3
7 Порядок проведения испытания 3
8 Обработка результатов 5
9 Прецизионность 5
10 Протокол испытаний 6
Приложение А (справочное) Пример хроматограммы 7
Приложение В (справочное) Данные о прецизионности. 8
Приложение С (справочное) Альтернативные варианты условий хроматографического анализа . . 10
Библиография 11
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным и европейским стандартам 12

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ
Определение содержания витамина А методом высокоэффективной жидкостной хроматографии
Часть 2
Измерение содержания бета-каротина

Foodstuffs.
Determination of vitamin A by high performance liquid chromatography.
Part 2. Measurement of β-carotene

Дата введения — 2017—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения полного β-каротина в пищевых продуктах при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее — ВЭЖХ).

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного документа, для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения):

EN ISO 3696:1987 Water for analytical laboratory use. Specification and test methods (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний).

ISO 5555:2001 Animal and vegetable fats and oils. Sampling (Масла и жиры животные и растительные. Отбор проб).

EN 12823-1:2000 Foodstuffs. Determination of vitamin A by high performance liquid chromatography. Measurement of all-trans-retinol and 13-cis-retinol (Продукты питания. Определение содержания витамина А методом жидкостной хроматографии высокого разрешения. Часть 1. Измерение содержания полного транс-ретинола и 13-цис-ретинола).

3 Сущность метода

Сумму изомеров β-каротина в испытуемом растворе пробы определяют методом ВЭЖХ с помощью спектрофотометрического детектора в видимом диапазоне. Экстракт, полученный после омыления, описанного в EN 12823-1, может использоваться для количественного анализа. Информация по идентификации на основании времени удерживания и определению по площади или высоте пиков указана в [3], [7].

Может быть также использован метод внутреннего стандарта, если соответствующие проверки полноты обнаружения подтверждают, что поведение внутреннего стандарта и аналита тождественно.

4 Реактивы

Для испытаний используют реактивы гарантированной чистоты и воду не ниже 1-й степени чистоты в соответствии с EN ISO 3696.

4.1 Метанол.

4.2 Этанол абсолютный, объемной долей 100 %.

4.3 Этанол, объемной долей 96 %.

4.4 Сульфат натрия (сернокислый натрий) безводный.

4.5 Растворы гидроксида калия (KOH) для омыления с соответствующими массовыми концентрациями, например: KOH = 50 г/100 см^3 или 60 г/100 см^3 или спиртовые растворы, например: 28 г KOH в 100 см^3 смеси этанол/вода (в объемном соотношении 9:1).

Издание официальное

4.6 Антиоксиданты: аскорбиновая кислота (АК), аскорбат натрия, сульфид натрия (Na_2S), бутилгидрокситолуол, пирогаллол или гидрохинон.

4.7 Растворители и экстрагенты: ацетонитрил, диэтиловый эфир (без пероксидов), диизопропиловый эфир, петролейный эфир (кипящий при температуре от 40 °С до 60 °С), *н*-гексан, дихлорметан, тетрагидрофуран, толуол или их смеси.

4.8 Раствор ацетата аммония в метаноле, например, с($CH_3CO_2NH_4$) = 0,05 моль/дм^3.

4.9 Триэтиламин.

4.10 Растворители, выполняющие роль подвижной фазы в ВЭЖХ, например, смесь ацетонитрил (см. 4.7) — метанольный раствор ацетата аммония (см. 4.8) — дихлорметан (см. 4.7) (75:20:5 в объемном соотношении), содержащий 0,1 % (по массе) бутилгидрокситолуола (см. 4.6) и 0,05 % (по массе) триэтиламина (см. 4.9). Информация о подвижных фазах для альтернативных систем ВЭЖХ приведена в приложении С.

4.11 Образцы сравнения

4.11.1 Общие положения

Чистота образцов сравнения *β*-каротина и *α*-каротина варьируется между 90 % и 100 %. Поэтому необходимо определить массовую концентрацию градуировочного раствора спектрофотометрическим методом (см. 4.12.2).

4.11.2 *β*-каротин, М ($C_{40}H_{56}$) = 536,85 г/моль, с массовой долей *β*-каротина не менее 95 %.

4.11.3 *α*-каротин, М ($C_{40}H_{56}$) = 536,85 г/моль, для качественного анализа.

4.11.4 Ликопин, М ($C_{40}H_{56}$) = 536,85 г/моль, для качественного анализа.

4.12 Приготовление исходного раствора

4.12.1 Исходный раствор *β*-каротина

Растворяют 3 мг образца сравнения *β*-каротина (см. 4.11.2) в 20 см^3 дихлорметана, тетрагидрофурана или толуола (см. 4.7), помещая мерную колбу на 30 с в ультразвуковую баню (см. 5.6).

Разбавляют этот раствор *н*-гексаном до объема 100 см^3.

Разбавляют 10,0 см^3 полученного раствора *н*-гексаном до 100 см^3.

1 см^3 этого раствора содержит 3 мкг *β*-каротина в смеси *н*-гексан/дихлорметан (98:2) (по объему), смеси *н*-гексан/тетрагидрофуран (98:2) (в объемном соотношении) или *н*-гексан/толуол (98:2) (в объемном соотношении).

Хранят исходный раствор в защищенном от света месте при температуре ниже 4 °С.

4.12.2 Проверка концентрации и чистоты

Измеряют оптическую плотность исходного раствора *β*-каротина (см. 4.12.1) при длине волны 453 нм на спектрофотометре (см. 5.1). Вычисляют массовую концентрацию *c*, мкг/см^3, по формуле

$$c = \frac{A_{453} \cdot 10^4}{2592}, \quad (1)$$

где A_{453} — оптическая плотность исходного раствора при максимальной длине волны 453 нм;

2592 — значение коэффициента экстинкции $E\frac{1\,\%}{1\,см}$ для раствора *β*-каротина в *н*-гексане. Оно может значительно отличаться для других растворителей [8].

Соотношение A_{455}/A_{340} должно быть больше 15, а соотношение A_{455}/A_{483} должно находиться в диапазоне от 1,14 до 1,18 для чистого полного транс-*β*-каротина [8].

4.12.3 Стандартный раствор *β*-каротина

Пипеткой отмеряют 20 см^3 исходного раствора *β*-каротина (см. 4.12.1) в круглодонную колбу и удаляют растворитель в условиях пониженного давления (см. 5.2) при температуре не выше 50 °С. Растворяют полученный осадок в 20 см^3 растворителя, совместимого с обращено-фазовой ВЭЖХ.

Стандартный раствор хранят в защищенном от света месте при температуре ниже 4 °С. Раствор стабилен в течение одной недели.

4.12.4 Стандартные растворы *α*-каротина и ликопина[1)]

Для качественного анализа растворяют 0,3 мг *α*-каротина (см. 4.11.3) или ликопина (см. 4.11.4) в 10 см^3 тетрагидрофурана (см. 4.7) и разбавляют в этаноле до объема 100 см^3 (см. 4.3) или другом растворителе, совместимым с обращенно-фазовой ВЭЖХ.

[1)] Данные стандартные растворы *α*-каротина и ликопина не обязательны для количественного определения *β*-каротина в экстракте пробы, но способствуют четкой идентификации различных соединений.

Стандартный раствор хранят в защищенном от света месте при температуре ниже 4 °С. Раствор стабилен в течение одной недели.

5 Оборудование

Используется стандартное лабораторное оборудование, а также следующее:

5.1 Спектрофотометр УФ и видимой области спектра, способный измерять оптическую плотность на указанных длинах волн, с соответствующими кварцевыми кюветами, например с толщиной слоя 1 см.

5.2 Испаритель ротационный с водяной баней и вакуумным насосом.

Примечание — Для сброса вакуума рекомендуется использовать азот.

5.3 Система ВЭЖХ, состоящая из насоса, устройства для ввода проб, спектрофотометрического детектора для ультрафиолетовой и видимой области и системы регистрации и обработки, например интегратора.

5.4 Колонки ВЭЖХ

Аналитическая колонка для обращенно-фазовой хроматографии, например, С18, с размером частиц неподвижной фазы 5 мкм, диаметром от 4,0 до 4,6 мм, длиной 250 мм.

Могут использоваться другие типы колонок и размеры частиц наполнителя (адсорбента), отличных от указанных в настоящем стандарте. Для получения аналогичных результатов может потребоваться корректировка условий проведения хроматографических измерений для таких колонок.

Показателем эффективности для соответствующих аналитических колонок является степень разделения для пиков полного транс-α-каротина и полного транс-β-каротина, которая должна быть более 1.

Подходящими аналитическими колонками с обращенной фазой являются, например, Vydac®201TP54[1)], Vydac®218TP54[1)], Eurospher®100–C18[1)], Ultrasper®ODS[1)], Spherisorb®ODS2[1)], Zorbax®ODS[1)] и LiChrospher®RP18[1)]. Колонки могут использоваться с последовательным включением. Также рекомендуется использовать защитную колонку для продления срока службы аналитической колонки.

5.5 Фильтр

Мембранные фильтры большого и малого размера для фильтрации подвижных фаз ВЭЖХ и растворов проб, например с размером пор 0,45 мкм.

Примечание — Фильтрация подвижной фазы и растворов испытуемых проб через мембранный фильтр перед использованием или вводом увеличивает срок службы колонок.

5.6 Ультразвуковая баня.

5.7 Фильтры для разделения фаз (применяются по выбору пользователя стандарта).

6 Отбор проб

Отбор проб — по ISO 5555.

7 Порядок проведения испытания

7.1 Подготовка пробы для испытания

Пробу перед испытанием гомогенизируют. Крупнозернистый материал перемалывают с помощью соответствующего измельчителя и тщательно перемешивают. Для того, чтобы исключить длительное воздействие высоких температур, пробу охлаждают.

β-каротин чувствителен к ультрафиолетовому излучению и свету.

7.2 Подготовка раствора пробы

7.2.1 Омыление

От 2 до 10 г испытуемой пробы омыляют с обратным холодильником, предпочтительно в атмосфере азота, с использованием соответствующих количеств метанола (см. 4.1) или этанола (см. 4.3),

[1)] Vydac®201TP54, Vydac®218TP54, Eurospher®100–C18, Ultrasper®ODS, Spherisorb®ODS2, Zorbax®ODS и LiChrospher®RP18 — это примеры подходящей продукции, имеющиеся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей данного стандартного метода и не является поддержкой названной продукции.

воды, антиоксидантов (см. 4.6) и одного из растворов гидрооксида калия (см. 4.5.1). Добавляют антиоксиданты к пробе до добавления раствора гидрооксида калия. Также может быть добавлен сульфид натрия (см. 4.6) для устранения окислительных каталитических эффектов остаточных количеств металлов.

Примеры соответствующих соотношений реактивов указаны в таблице 1.

Таблица 1 — Соотношение реактивов для омыления

Масса пробы, г	Объем спирта, $см^3$	Антиоксиданты, г	Гидроксид калия, $см^3$
2–5	50 $см^3$ метанола	0,25 г АК	5 $см^3$ раствора 50 г/100 $см^3$
5–10	100 $см^3$ этанола	1,0 г АК + 0,04 г Na_2S	20 $см^3$ раствора 60 г/100 $см^3$
10	150 $см^3$ этанола	1,0 г АК	50 $см^3$ раствора 60 г/100 $см^3$

Время омыления составляет от 15 до 40 мин при температуре от 80 °С до 100 °С.

Если после окончания омыления на поверхности охлажденной реакционной смеси присутствует жир или масло, то омыление продолжают после добавления дополнительного количества водно-этанольного раствора гидроксида калия.

Примечание — Установлено, что при испытаниях проб с низким содержанием жира, таких, как фрукты или овощи, допускается проводить экстракцию соответствующим растворителем без предварительного омыления (см. [9]–[11]). Однако, в этом случае рекомендуется проверять соблюдение приведенных выше требований к эффективности хроматографического разделения (см. 5.4), из-за возможного мешающего влияния других компонентов пробы.

7.2.2 Экстракция

Во избежание образования эмульсии к раствору омыленной пробы добавляют такое количество воды, чтобы объемное соотношение спирта и воды в полученном растворе составило 1:1.

Экстракцию β-каротина из раствора омыленной пробы проводят с помощью соответствующего растворителя или смеси растворителей (см. 4.7), повторяя процедуру три–четыре раза с объемами от 50 до 150 $см^3$. Объединенный экстракт промывают водой до нейтральной среды (от 2 до 4 раз, от 50 до 150 $см^3$).

7.2.3 Выпаривание

Экстракт выпаривают, используя ротационный испаритель (см. 5.2) при пониженном давлении и температуре не выше 50 °С. Остатки воды удаляют высушиванием над сульфатом натрия или способом азеотропной перегонки с этанолом (см. 4.2) или толуолом (см. 4.6). Другие равноценные способы, такие как использование фильтровальной бумаги для разделения фаз (см. 5.7) для удаления остатков воды используют при условии, что они не влияют на результат испытаний.

7.2.4 Приготовление раствора для хроматографического анализа

Остаток растворяют в той же смеси растворителей, в которой были приготовлены стандартные растворы (см. 4.12.3 и 4.12.4), предпочтительно в подвижной фазе (см. 4.8) или в другом растворителе, совместимом с подвижной фазой для ВЭЖХ таким образом, чтобы получить массовую концентрацию β-каротина вплоть до 5 мкг/$см^3$. Полученный раствор используют для хроматографического анализа.

7.3 Идентификация

Идентификацию β-каротина проводят путем сравнения времени удерживания индивидуальных пиков на хроматограммах раствора испытуемой пробы (см. 7.2.4) и стандартного раствора (см. 4.12.3 и 4.12.4). Идентификация пиков также возможна путем добавления небольшого количества соответствующих стандартных образцов в раствор испытуемой пробы.

Примечание — Разделение и количественный анализ является удовлетворительным при соблюдении следующих хроматографических условий (в соответствии с рисунком А.1).

Неподвижная фаза:	Spherisorb®[1] ODS2, 5 мкм, картридж размером 100×4,6 мм, комбинированный с Vydac®[1] 201TP54, 5 мкм, 250×4,6 мм
Подвижная фаза:	Ацетонитрил/метанольный раствор ацетата аммония/дихлорметан (в объемном соотношении 75:20:5), с массовой долей бутилгидрокситолуола 0,1 % и триэтиламина 0,05 %
Скорость потока:	1,5 см^3/мин
Объем вводимой пробы:	50 мм^3
Детектирование:	450 нм

7.4 Определение

Соответствующие объемы (например, 20 мм^3) стандартного раствора (см. 4.12.3) и раствора испытуемой пробы (см. 7.2.4) вводят в систему ВЭЖХ (см. 5.3). Для количественного определения методом внешнего стандарта определяют площадь или высоту пика и сравнивают результаты с соответствующими значениями стандартного вещества с ближайшей площадью/высотой пика или используют градуировочную характеристику.

Вводят равные объемы пробы и исходных растворов (см. 4.12.3 и 4.12.4) или компенсируют различие, применяя соответствующий коэффициент при расчетах результатов. Проверяют линейность градуировочной характеристики, используя минимальный из трех значений уровней разбавления исходного раствора β-каротина (см. 4.12.1).

7.5 Количество определений

Проводят не менее двух независимых определений.

8 Обработка результатов

Вычисления основываются либо на градуировочной характеристике, либо их проводят с использованием программ интегратора или по следующей упрощенной процедуре.

Массовую долю общего каротина в пробе ρ, мг/100 г, вычисляют по формуле

$$\rho = \frac{A_s \cdot c \cdot V_s \cdot V_{st}}{A_{st} \cdot m \cdot V_{is} \cdot 1000} \cdot 100, \quad (2)$$

где A_s — площадь или высота пика для изомеров β-каротина, полученного в растворе испытуемой пробы (см. 7.2.4), единицы площади или высоты;

c — массовая концентрация β-каротина в стандартном растворе, скорректированная на чистоту (см. 4.12.2), мкг/см^3.

V_s — объем раствора анализируемой пробы (см. 7.2.4) в см^3;

V_{st} — объем введенного стандартного раствора, в мм^3;

A_{st} — площадь или высота пика для β-каротина, полученного в стандартном растворе (см. 4.12.3), единицы площади или высоты;

m — масса пробы, г;

V_{is} — объем введенного раствора испытуемой пробы, мм^3;

1000 — коэффициент для перевода из мкг в мг;

100 — коэффициент для вычисления массовой доли в пересчете на 100 г.

9 Прецизионность

Подробная информация о межлабораторном испытании прецизионности данного метода по [12] приведена в приложении В. Значения, полученные в ходе этого исследования, могут оказаться неприменимыми к диапазонам содержания компонентов и матрицам проб, отличным от указанных в приложении В.

[1] Spherisorb® — это продукт, поставляемый PhaseSeparationsInc; Vydac® — это продукт, поставляемый TheSeparationsGroup. Данная информация приведена только для удобства пользователей этого стандартного метода и не является рекламированием указанных продуктов. Могут использоваться эквивалентные продукты, если они дают аналогичные результаты.

9.1 Повторяемость

Абсолютная разность между результатами двух отдельных испытаний, полученных на идентичном исследуемом материале одним оператором на одном и том же оборудовании за минимально возможный промежуток времени, превысит предел повторяемости r не более чем в 5 % случаев.

Значения для общего β-каротина:

маргарин	$\overline{x}$ = 0,253	мг/100 г	r = 0,032	мг/100 г
витаминизированный напиток	$\overline{x}$ = 2,248	мг/100 г	r = 0,19	мг/100 г
порошок для пудинга	$\overline{x}$ = 1,531	мг/100 г	r = 0,24	мг/100 г
овощная смесь	$\overline{x}$ = 18,05	мг/100 г	r = 2,0	мг/100 г

9.2 Воспроизводимость

Абсолютная разность между результатами двух отдельных испытаний, полученных на идентичном исследуемом материале в двух лабораториях, превысит предел воспроизводимости R не более чем в 5 % случаев.

Значения для общего β-каротина:

маргарин	$\overline{X}$ = 0,253	мг/100 г	R = 0,069	мг/100 г
витаминизированный напиток	$\overline{X}$ = 2,248	мг/100 г	R = 0,41	мг/100 г
порошок для пудинга	$\overline{X}$ = 1,531	мг/100 г	R = 0,10	мг/100 г
овощная смесь	$\overline{X}$ = 18,05	мг/100 г	R = 7,6	мг/100 г

10 Протокол испытаний

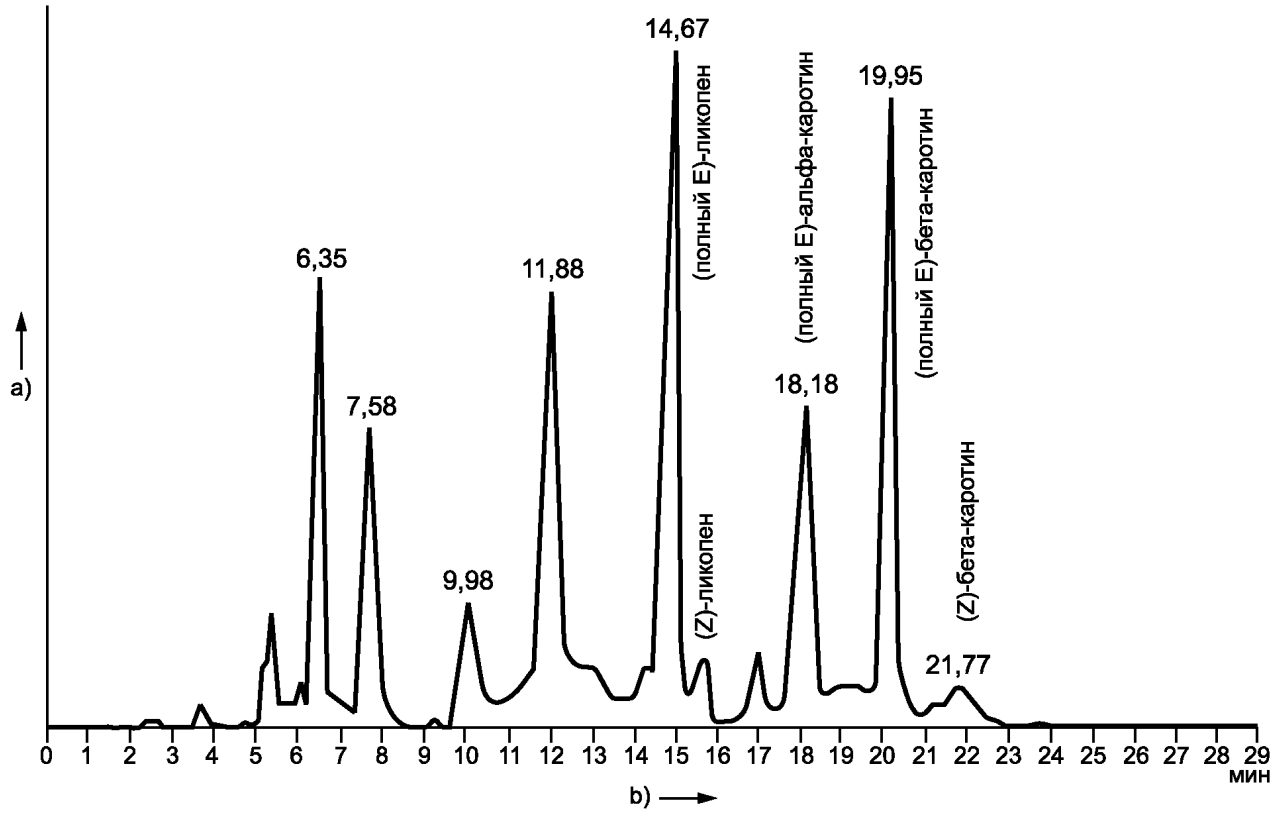
Протокол испытаний должен содержать следующую информацию:

- информацию, необходимую для идентификации пробы;
- ссылку на настоящий стандарт или на использованный метод;
- результаты и единицы, в которых выражены результаты;
- дату и тип процедуры отбора пробы (если известны);
- дату поступления пробы;
- дату проведения испытаний;
- любые особенности, наблюдавшиеся при проведении испытаний;
- любые операции, не указанные в данном методе или считающиеся необязательными, которые могут повлиять на результаты испытаний.

Приложение А
(справочное)

Пример хроматограммы

А.1 Пример хроматограммы приведен на рисунке А.1.



a) поглощение
b) время

Рисунок А.1 — Пример хроматографического разделения α и β-каротинов и ликопина в пробе овощной смеси

Неподвижная фаза: Spherisorb®5ODS2[1)] м, картридж 100 × 4,6 мм, комбинированный с Vydac®[1)] 201TP54, 5 мкм, 250 × 4,6 мм.

Подвижная фаза: Ацетонитрил/метанольный раствор ацетата аммония/дихлорметан (в объемном соотношении 75:20:5) с массовой долей бутилгидрокситолуола 0,1 % и триэтиламина 0,05 %.

Скорость потока: 1,5 $см^3$/мин.

Объем вводимой пробы: 50 $мм^3$.

Детектирование: 450 нм.

[1)] Spherisorb® — торговое название продукции, поставляемой PhaseSeparationsInc; Vydac® — торговое название продукции, поставляемой TheSeparationsGroup. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламированием названной продукции. Могут использоваться аналогичные изделия, если они дают аналогичные результаты.

Приложение В
(справочное)

Данные о прецизионности

Статистические результаты и данные о прецизионности, указанные в таблице В.1 для определения общего β-каротина, были установлены в межлабораторном испытании [12], организованном W. Schuep и J. Schierte [11].

Таблица В.1

Проба	Маргарин	Витаминизированный напиток	Порошок для пудинга	Овощная смесь
Определяемый компонент	Полный β-каротин			
Год проведения межлабораторных испытаний	1995			
Число лабораторий	13			
Число проб	1			
Число лабораторий, оставшихся после удаления выбросов	12	12	11	12
Число исключенных лабораторий	1	1	2	1
Число принятых результатов	55	59	51	56
Среднее значение, мг/100 г	0,253	2,248	1,531	18,05
Стандартное отклонение повторяемости S_r, мг/100г	0,011	0,065	0,085	0,71
Относительное стандартное отклонение повторяемости, RSD_r, %	4,5	2,9	5,6	3,9
Предел повторяемости r ($2,83 \cdot s_r$), мг/100 г	0,032	0,19	0,24	2,0
Стандартное отклонение воспроизводимости S_R, мг/100г	0,024	0,15	0,14	2,7
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, RSD_R, %	9,7	6,5	9,3	15
Предел воспроизводимости R ($2,83 \cdot s_R$), мг/100 г	0,069	0,41	0,40	7,6

Данные о валидации, представленные в таблице В.2, были получены в ходе сравнительных испытаний, которые проводились в рамках программы по измерению общего β-каротина в пробе овощной смеси, организованной Европейской комиссией по стандартизации, измерениям и испытаниям, Институтом исследования пищевых продуктов, г. Норвич, Великобритания в 1996 году [10].

Таблица В.2

Проба	Проба
Год проведения межлабораторных испытаний	1996
Число лабораторий	14
Число проб	1
Число лабораторий, оставшихся после удаления выбросов	14
Число исключенных лабораторий	0
Число наборов данных	14
Число принятых результатов	60
Среднее значение, мг/100 г	2,37
Стандартное отклонение повторяемости S_r, мг/100г	0,159
Относительное стандартное отклонение повторяемости, RSD_r,%	6,7

Окончание таблицы В.2

Проба	Проба
Предел повторяемости r (2,83·s_r), мг/100 г	0,450
Стандартное отклонение воспроизводимости S_R, мг/100 г	0,241
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, RSD_R, %	10,2
Предел воспроизводимости R (2,83·s_R), мг/100 г	0,682
Примечание — Данные межлабораторных сравнительных испытаний были получены при помощи различных установленных методов, идентичных обычным аналитическим процедурам, принятым в участвующих лабораториях, с использованием ВЭЖХ-систем, описанных в приложении С.	

Приложение С
(справочное)

Альтернативные варианты условий хроматографического анализа

Идентификация и количественное определение дали удовлетворительные результаты при использовании хроматографических условий в таблице С.1 [10], а также в [11].

Таблица С.1[1)]

Неподвижная фаза	Размер колонки, мм	Подвижная фаза	Скорость потока	Детектирование
Spherisorb®ODS2, 5 мкм плюс Vydac®201TP54, 5 мкм	100 × 4,6 250 × 4,6	CH_3CN :(MeOH+0,05 моль/дм^3 NH_4Ac): DCM (75 : 20 : 5), содержащий 0,1% BHT и 0,05% TEA	1,5 см^3/мин	450 нм
Nucleosil® 3мкм Vydac® TP54, 5 мкм	125 × 4,6 250 × 4,6	CH_3CN : (MeOH :0,05 моль/дм^3 NH_4Ac) : DCM (70 : 20 : 10), содержащий 0,1% BHT и 0,05% TEA		диодная матрица
Vydac® 201TP54, 5 мкм	250 × 4,6	MeOH: THF (95:5) + 0,1% BHT	1,0 см^3/мин	диодная матрица
VydacR 218TP54, 5 мкм	250 × 4,6	MeOH:THF (99 : 1) + 50 ч./млн. АК	1,5 см^3/мин	450 нм
Eurosher® 100–C18, 5 мкм	250 × 4,0	CH_3CN :MeOH (85 :15)	0–6 мин: 1,8 см^3/мин 6–20 мин: 3,5 см^3/мин	диодная матрица
Spheri–5–ODS, 5 мкм	220 × 4,6	Градиентный с: CH_3CN : MeOH (85 : 15) и CH_3CN : DCM : MeOH (70 : 20 : 10)		диодная матрица
Hypersil® ODS, 3 мкм		CH_3CN :MeOH : DCM : H_2O (700 : 150 : 100 : 25)		Ультрафиолетовая и видимая область спектра
LichrospherR RP18, 5 мкм	220 × 4,6	MeOH : THF (95 :5)	2,0 см^3 см^3/мин	Ультрафиолетовая и видимая область спектра

[1)]MeOH — метанол;
EtOH — этанол;
АК — аскорбиновая кислота или аскорбат натрия;
KOH — гидрооксид калия;
THF — тетрагидрофуран;
CH_3CN — ацетонитрил;
DCM — дихлорметан;
NH_4Ac — ацетат аммония;
TEA — триэтиламин;
BHT — бутилированный бензиловый спирт.

Библиография

[1] IS World Health Organization, Expert Committee on Biological Standardization, Techn. Report No. 147. 11. WHO, Geneva, 1958 and Techn. Report 222, 10, 51–52, WHO, Geneva, 1961 (Всемирная организация здравоохранения, Экспертный комитет по биологической стандартизации, технический отчет № 147, 11, ВОЗ, Женева, 1958 и технический отчет №222, 10, ВОЗ, Женева, 1961)

[2] Int. Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), The Vitamin A Potency of β-carotene. Butterworths Scientific Publications, London 1959 (Международный союз теоретической и прикладной химии (ИЮПАК), Витамин А активность β-каротина, Научные издания Баттерворт, Лондон 1959)

[3] Bushway, R.J.: Separation of Carotenoids in Fruits and Vegetables by High–Performance Liquid Chromatography. J. Liq. Chromatogr. 8, 1985, 1527-47 (Разделение каротиноидов в фруктах и овощах метод высокоэффективной жидкостной хроматографии)

[4] Quackenbush, F.W.: Reversed Phase HPLC Separation of Cis- and Trans-Carotenoids and its Application in Food Materials, J. Liq. Chromatogr. 10. 1987. 643–653 (Обращенно-фазовая ВЭЖХ. Разделение цис- и транс-каротиноидов и их применение в питательных веществах)

[5] O Neil, C.A., Schwartz, S.J., Catignani, G.L.: Comparison of Liquid Chromatographic Methods for Determination of Cis-Trans Isomers of β-Carotene. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 74, 1991. 36–42 (Сравнение жидкостно-хроматографических методов для определения цис-транс-изомеров в β-каротинах)

[6] Saleh, H.M.. Tan, B.: Separation and Identification of Cis/Trans Carotenoid Isomers, J. Agric. Food Chem., 39, 1991, 1438–1443 (Разделение и определение цис-транс-каротиноидных изомеров)

[7] Lumley, I. D.: in The Technology of Vitamins in Food, ed. by P. B. Ottaway, Blacie Academic & Professional, Glasgow, 1993, 183–186 (Технология витаминов в пищевых продуктах)

[8] De Ritter, E. and Purcell. A.E.: Carotenoids as Coloranls and Vitamin A Precursors, ed..by J. Christopher Bauernfeind. Academic Press Inc.. New York. 1981, 889 (Каротиноиды как красители и предшественники витамина А)

[9] Hart.D.J. and Scott. K.J., 1995. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. Food Chem 54, 101–111 (Развитие и оценка методов ВЭЖХ для анализа каротиноидов в пищевых продуктах, измерение содержания каротиноидов в овощах и фруктах, часто потребляемых в Великобритании)

[10] Finglas, P.M., Scott. K.J..Wilthoft, C. M, van der Berg, H. & de Froidrnont – Gortz, I., 1999. The certification of the mass fractions of vitamins in four reference materials: whole meal flour (CRM 121), milk powder (CRM 421), lyophilized mixed vegetables (CRM 485) and lyophilized pig's liver (CRM 487). EUR-Report DOC/BCR/01/98. Commission of the European Union, Luxembourg (Определение массовой доли витаминов в четырех эталонных веществах: обойная мука (CRM 121), сухое молоко (CRM 421), сублимированная овощная смесь (CRM 485) и сублимированная свиная печень (CRM 487)

[11] Schuep, W. and Schierle, J., 1997. Determination of β-Carotene in Commercial Foods: Interlaboratory Study. Journal of AOAC International Vol. 80 No. 5, 1057-1064 (Определение β-каротина в промысловых пищевых продуктах: 16 межлабораторных испытаний, Международный журнал Ассоциации химиков-аналитиков, работающих в государственных организациях)

[12] ISO 5725-2:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility for a standard measurement method (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения)

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным и европейским стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение международного и европейского стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 5555:2001	–	*
EN ISO 3696:1987	–	*
EN 12823-1:2000	–	*

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного или европейского стандарта. Перевод данного международного или европейского стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

УДК 641.1:577.161.1:543.544.5.068.7:006.354 МКС 67.050 IDT

Ключевые слова: витамин А, высокоэффективная жидкостная хроматография, бета-каротин

Редактор *К. В. Дудко*
Технический редактор *В. Ю. Фотиева*
Корректор *О. В. Лазарева*
Компьютерная верстка *А. С. Тыртышного*

Сдано в набор 19.07.2016. Подписано в печать 25.07.2016. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,74. Тираж 34 экз. Зак. 1828.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru