ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Балалардың тамақтануына арналған қоспалар

СҰЙЫҚТЫҚ ХРОМАТОГРАФИЯ КӨМЕГІМЕН НУКЛЕОТИД МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ

Смеси для детского питания

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НУКЛЕОТИДОВ С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

ҚР СТ ISO 20638-2016

(ISO 20638:2015 Infant formula – Determination of nucleotides by liquid chromatography, IDT)

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігі
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Балалардың тамақтануына арналған қоспалар

СҰЙЫҚТЫҚ ХРОМАТОГРАФИЯ КӨМЕГІМЕН НУКЛЕОТИД МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ

ҚР СТ ISO 20638–2016

(ISO 20638:2015 Infant formula – Determination of nucleotides by liquid chromatography, IDT)

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігі
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

Алғысөз

1 «Kazakhstan Business Solution» жауапкершілігі шектеулі серіктестігі (ТК 91 «Химия» стандарттау бойынша техникалық комитеті) **ДАЙЫНДАП ЕНГІЗДІ**

2 Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті Төрағасының 2016 жылғы 23 қарашадағы № 296-од бұйрығымен **БЕКІТІЛІП ҚОЛДАНЫСҚА ЕНГІЗІЛДІ**

3 Осы стандарт ISO 20638:2015 *Infant formula – Determination of nucleotides by liquid chromatography* (Балалардың тамақтануына арналған қоспалар. Сұйықтық хроматография көмегімен нуклеотид мөлшерін анықтау) халықаралық стандартына сәйкес келеді.

Халықаралық стандартты AOAC INTERNATIONAL қауымдастығымен бірлесіп ISO/TC 34 «Тамақ өнімдері» техникалық комитеті әзірледі.

Ағылшын тілінен аударылған (en)

Осы ұлттық стандарт халықаралық стандарттың ресми нұсқасы негізінде әзірленді және осында берілген сілтемелер Нормативтік техникалық құжаттардың бірыңғай мемлекеттік қорында бар.

Мемлекеттік және орыс тілдеріндегі мәтін ресми болып табылады.

Сәйкестік деңгейі – бірдей (IDT).

4 Осы стандартта Қазақстан Республикасының «Техникалық реттеу туралы» 2004 жылғы 9 қарашадағы № 603-II, «Қазақстан Республикасындағы тілдер туралы» 1997 жылғы 11 шілдедегі № 151 Заңдарының нормалары іске асырылды

5 БІРІНШІ ТЕКСЕРУ МЕРЗІМІ **2023 жылы**
ТЕКСЕРУДІҢ КЕЗЕҢДІЛІГІ **5 жыл**

6 АЛҒАШ РЕТ ЕНГІЗІЛДІ

Осы стандартқа енгізілген өзгерістер туралы ақпарат «Стандарттау бойынша нормативтік құжаттар» сілтемесінде, ал өзгеріс мәтіні «Мемлекеттік стандарттар» ай сайынғы ақпараттық сілтемесінде жарияланады. Осы стандарт қайта қаралған (жойылған) немесе ауыстырылған жағдайда тиісті ақпарат «Мемлекеттік стандарттар» ақпараттық сілтемесінде жарияланады.

Осы стандарт Қазақстан Республикасы Инвестициялар және даму министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитетінің рұқсатынсыз ресми басылым ретінде Қазақстан Республикасы аумағында толықтай немесе бөлшектеліп басылып шығарыла, көбейтіле және таратыла алмайды

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Балалардың тамақтануына арналған қоспалар

СҰЙЫҚТЫҚ ХРОМАТОГРАФИЯ КӨМЕГІМЕН НУКЛЕОТИД МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ

Енгізілген күні 2018-01-01

1 Қолданылу саласы

Осы стандарт сұйықтық хроматография көмегімен қатты (яғни, ұнтақ) немесе сұйық (яғни, тұтынуға дайын сұйықтық пен сұйық концентраттар) түріндегі балалардың тамақтануына арналған қоспадағы 5'-мононуклеотидтер мөлшерін сандық анықтау әдісін белгілейді.

2 Терминдер мен анықтамалар

Осы стандартта тиісті анықтамаларымен бірге мынадай терминдер қолданылады:

Адапталған немесе жартылай адапталған бастапқы немесе соңғы сүт қоспалары (infant formula): Өмірінің бірінші айынан бастап тиісті тамақты қолдану күніне дейін (72-1981 [1] Стандарт Кодексіне сәйкес) тамақтануда сәбилердің қажеттілігін қанағаттандыру үшін арнайы дайындалған емшектегі сүттің жасанды алмастырғышы.

3 Әдістің мәні

Сынаманы белок пен майдың өзара әсерін басу үшін тұздың жоғары мөлшері бар ерітіндіде ерітеді. 5'-мононуклеотидтер – уридин-5'-монофосфат (UMP), инозин-5'-монофосфат (IMP), аденозин-5'-монофосфат (AMP), гуанозин-5'-монофосфат (GMP), и цитидин-5'-монофосфат (CMP) –градиентті аласталған жылжымайтын фазаның C18 пайдаланып кейіннен хроматографиялық зерттеп күшті анион алмасу тасығышпен қатты фазалық шайғындау (SPE), тимидин-5'-монофосфатты (TMP) пайдаланып ішкі стандартты әдістеме бойынша сандық талдау мен UV-детектирлеу жолымен іріктеу сынамасынан бөледі [2].

2 Реагенттер мен заттар

Егер өзгелей жазылмаса, зерттеу кезінде белгілі аналитикалық тазалық деңгейі бар реагенттер мен тазартылған немесе минералсызданған суды немесе балама тазалық деңгейі бар суды пайдаланады.

4.1 99 %-дан кем емес тазалық деңгейі бар стандартты ерітінділер (Sigma[1)] немесе балама). Егер еркін қышқыл пішінді сатылымда болмаса, натрийдің нуклеотидты тұзы немесе натрий тұзының гидратын ауыстыруға болады.

4.1.1 TMP, тимидин-5'-монофосфат, CAS-нөмірі: 365-07-1.

4.1.2 AMP, аденозин-5'-монофосфат, CAS-нөмірі: 61-19-8.

4.1.3 CMP, цитидин-5'-монофосфат, CAS-нөмірі: 63-37-6.

4.1.4 GMP, гуанозин-5'-монофосфат, CAS-нөмірі: 85-32-5.

4.1.5 IMP, инозин-5'-монофосфат, CAS-нөмірі: 131-99-7.

4.1.6 UMP, уридин-5'-монофосфат, CAS-нөмірі: 58-97-9.

4.2 Бромды калий (KBr).

4.3 Калий дгидрофосфаты (KH_2PO_4).

4.4 Ортофосфор қышқылы (H_3PO_4).

4.5 Гидроксид калия (KOH).

4.6 Этилендиаминтетра сіркесу қышқылы, қос сулы қос натрий тұзы (EDTA).

4.7 Натрий хлориді (NaCl).

4.8 Метанол (CH_3OH).

4.9 Реагенттер дайындау

4.9.1 Стандарттаушы буфер (KH_2PO_4, c = 0,25 моль/л, pH = 3,5). 34,0 г KH_2PO_4 (5.3 қара) 900 мл суда ерітіп, ортофосфор қышқылымен pH деңгейін 3,5-ке дейін жеткізу керек (5.4 қара). 1 л-ге дейін араластыру керек.

4.9.2 Шағындау ерітіндісі (NaCl, c = 1 моль/л, EDTA c = 4 ммоль/л). 58,5 г NaCl (5.7 қара) және 1,5 г EDTA (4.6 қара) еріту керек. 1 л суда араластыру қажет.

4.9.3 Шаятын ерітінді (KBr, c = 0,3 моль/л). 3,6 г KBr (5.2 қара) 100 мл суда еріту керек.

4.9.4 Элюентті ерітінді (KH_2PO_4, c = 0,5 моль/л, pH = 3,0). 6,8 г KH_2PO_4 (5.3 қара) 90 мл суда еріту және pH деңгейін ортофосфор қышқылымен 3,0-ге дейін жеткізу керек. 100 мл-ге дейін араластыру қажет.

4.9.5 Жылжымалы фаза А (KH_2PO_4, c = 10 ммоль/л, pH = 5,6). 1,4 г KH_2PO_4 (см. 5.3) 900 мл суда еріту және pH деңгейін (5,6 ± 0,1) дейін KOH (10 % м/көл.) ерітіндісінің көмегімен жеткізу керек. 1 л-ге дейін сумен жеткізу керек. Бөлме температурасында органикалық еріткіштің азғана мөлшері бар немесе мүлдем жоқ фосфатты буферде микробтың өсуі жиі орын алатындықтан күнделікті дайындайды.

4.9.6 Жылжымалы фаза В, 100 %-дық метанол (5.8 қара).

4.10 Стандартты ерітіндіні дайындау

4.10.1 Шамамен 1 мг/мл бастапқы стандартты ерітінді ρ. Сыйымдылығы 50 мл жеке өлшеу құтысына әрбір 5'-монофосфатты нуклеотидтің 50 мг дәл өлшендісін алады. 40 мл су қосып, ерігенге дейін араластырады және қажетті көлемге дейін сумен араластыру қажет.

4.10.2 Стандартты таза ерітінді. Сыйымдылығы 50 мл жеке өлшеу құтысына 1,0 мл әрбір бастапқы стандартты ерітіндіні (4.10.1 қара) тамшуырмен өлшеп алып, қажетті көлемге дейін стандарттаушы буфермен араластырып (4.9.1 қара), нуклеотидтің әрбір бастапқы стандартты ерітіндісінің шоғырлануын анықтау үшін сәйкес λ_{max} кезінде жұту қабілетін өлшеу керек. 1-кесте мен көздерді [2] және [3] қара.

[1)] Сатылымда бар қолайлы өнімнің үлгісі. Осы ақпарат осы стандартты пайдаланушылардың қолайлылығы үшін келтірілді және осы өнімді ISO мақұлдағанына растау болып табылмайды. Егер олар сол нәтижеге алып келетінін көрсетілсе, балама өнімдер пайдаланылуы мүмкін.

1-кесте. Максимальные значения UV-поглощения и коэффициенты и 5'-монофосфатты нуклеотидтер үшін экстинкцияның максималды мәні

5'-монофосфатты нуклеотид	λ_{max},нм	$E^{1\%}_{1cm}$
Аденозин-5'-монофосфат	257	428,6
Цитидин-5'-монофосфат	280	390,9
Гуанозин-5'-монофосфат	254	392,0
Инозин-5'-монофосфат	249	356,5
Уридин-5'-монофосфат	262	312,7
Тимидин-5'-монофосфат	267	288,5

4.10.3 Ішкі стандартты ерітінді, ρ шамамен 80 мкг/мл. 4 мл бастапқы стандартты ерітіндіні TMP (4.10.1 қара) 50 мл суда араластыру керек.

5.10.4 Шамамен 40 мкг/мл жұмыстық стандартты ерітінді ρ. Әрбір бастапқы стандартты ерітіндіні 2 мл тамшуырмен сыйымдылығы 50 мл өлшем құтысына өлшеп салады (4.10.1 қара) (AMP, CMP, GMP, IMP и UMP) және қажетті көлемге дейін сумен араластырады.

5.10.5 Калибрейтін стандартты ерітінді. Калибрлейтін стандартты ерітінді нуклеотидінің номиналды шоғырлануын алу үшін 2-кестені қара.

4.10.5.1 Калибрейтін стандартты 1-ерітінді. Сыйымдылығы 25 мл өлшем құтысына тамшуырмен 0,25 мл жұмыстық стандартты ерітіндіні (4.10.4 қара) және 1 мл ішкі стандартты ерітіндіні (4.10.3 қара) өлшеп алу және қажетті көлемге дейін сумен араластыру керек.

4.10.5.2 Калибрейтін стандартты 2-ерітінді. Сыйымдылығы 25 мл өлшем құтысына тамшуырмен 0,5 мл жұмыстық стандартты ерітіндіні (4.10.4 қара) және 1 мл ішкі стандартты ерітіндіні (4.10.3 қара) өлшеп алу және қажетті көлемге дейін сумен араластыру керек.

4.10.5.3 Калибрейтін стандартты 3-ерітінді. Сыйымдылығы 25 мл өлшем құтысына тамшуырмен 2 мл жұмыстық стандартты ерітіндіні (4.10.4 қара) және 1 мл ішкі стандартты ерітіндіні (4.10.3 қара) өлшеп алу және қажетті көлемге дейін сумен араластыру керек.

4.10.5.4 Калибрейтін стандартты 4-ерітінді. Сыйымдылығы 25 мл өлшем құтысына тамшуырмен 5 мл жұмыстық стандартты ерітіндіні (4.10.4 қара) және 1 мл ішкі стандартты ерітіндіні (4.10.3 қара) өлшеп алу және қажетті көлемге дейін сумен араластыру керек.

2 –кесте. Калибрлейтін стандартты ерітіндінің номиналды шоғырлануы

Калибрлейтін стандартты ерітінді	Әр нуклеотидтің шоғырлануы: AMP, CMP, GMP, IMP және UMP, мкг/мл	TMP шоғырлануы, мкг/мл
1	0,4	3,2
2	0,8	3,2

2-кестенің жалғасы

Калибрлейтін стандартты ерітінді	Әр нуклеотидтің шоғырлануы: AMP, CMP, GMP, IMP және UMP, мкг/мл	TMP шоғырлануы, мкг/мл
3	3,2	3,2
4	8,0	3,2

5 Жабдық

Стандартты зертханалық ыдыс пен жабдық, атап айтқанда мыналар.

5.1 Сорғымен, 50 мкл ілмекті мөлшерлегіші бар үлгілер мөлшерлегішімен, дегазатормен және фотодиодты матрицамен жарақталған HPLC жүйесі.

5.2 Баған C18, Gemini[1)] C18, 5 мкм, 4,6 мм × 250 мм (Phenomenex[1)]).

5.3 Спектрфотометр, үтірден кейін 3 белгіге дейін санауға қабілетті.

5.4 pH өлшеуге арналған жабдық.

5.5 Центрифуга.

5.6 Центрифугалық сынауықтар, Amicon Ultra MWCO 3k, 4 мл (Millipore)[1)].

5.7 Полипропилен центрифугалық сынауықтар, сыйымдылығы 50 мл.

5.8 Бір реттік шприцтер, сыйымдылығы мл.

5.9 Ацетатцеллюлоза мембранасы бар 0,2 мкм шприц сүзгіштер.

5.10 SPE арналған вакуумды жинағыш.

5.11 Күшті анион алмасатын полипропилен SPE картридждер, 6 мл × 1000 мг, Chromabond SB[1)].

5.12 Сүзгіш арақабырға, 0,45 мкм, полиамидті.

Ескертпе. Барлық салыстырып тексеру құралдары салыстырып тексерілуге/калибрленуге (аттестатталуға) тиіс және қолданыстағы салыстырып тексеру/калибрлеу (аттестаттау) сертификаттар (куәліктер) және/немесе калибрлеу белгілерінің салыстырып тексеру таңбасының белгісі болуға, ал стандартты үлгілер қолдануға жіберілуге және [9] сәйкес ҚР МӨЖ тізіліміне енгізілуге тиіс.

6 Үлгілерді дайындау

a) Ашқанға дейін үлгіге арналған контейнерді шайқау немесе араластыру керек.

b) 10 мл тұтынуға дайын/балалар тағамына арналған сұйық сүт қопасын немесе 1 г ұнтақтың дәл өлшендісін алып, сыйымдылығы 50 мл үйірткі сынауығына салады.

c) 30 мл шайғын ерітіндісін қосу керек (4.9.2 қара).

d) 1,0 мл ішкі стандартты ерітіндісін қосу керек TMP (4.10.3 қара).

e) сынауықты жабу және ұнтақ толық ерігенше сілкіп, араластыру керек.

f) толық гидратацияны қамтамасыз ету үшін үлгіні 10 минутқа қалдыру керек.

g) соңғы көлемге дейін шамамен 50 мл суды араластыру қажет.

h) крахмал негізіндегі өнімдер үшін 2 × 4 мл дайындалған үлгіні екі жеке ультра үйірткі сынауығына салып, 60 минут бойы 3500 г кезінде үйірткілеу және екі сынауықтан сүзілген ерітіндіні біріктіру қажет.

[1)] Сатылымда бар қолайлы өнімнің үлгісі. Осы ақпарат осы стандартты пайдаланушылардың қолайлылығы үшін келтірілді және осы өнімді ISO мақұлдағанына растау болып табылмайды. Егер олар сол нәтижеге алып келетінін көрсетілсе, балама өнімдер пайдаланылуы мүмкін.

7 Сынақ жүргізу

7.1 Шығару

Шығарудың барлық процедурасында картриджге құрғақ жұмыс істеуге және төгуді картридж негізінің үстіңгі бөлігіне жүзеге асыруға мүмкіндік бермеу керек.

Картриджді төгу кезінде ағын жылдамдығы 2 мл/минуттан кем болмауға тиіс.

a) әр үлгі үшін вакуумды жинағышта бір SPE картриджді салу керек;

b) 4 мл метанол қосып және кейіннен 2 есе су мөлшерін қосып (әр жолы 5 мл) және картридж негізінің үстіңгі бөлігіне төгуді жүзеге асырып бағанды ұстау керек;

c) үлгінің 4 мл ерітіндісін картриджге жүктеу және картридж негізінің үстіңгі бөлігіне төгуді жүзеге асыру қажет;

d) 4 мл шаю ерітіндісімен өзара байланысты жою үшін картриджді жуу (5.9.3 қара) және картридж негізінің үстіңгі бөлігіне төгуді жүзеге асыру қажет;

e) SPE үшін жинағышта үлгіні жинау үшін сынауықты салу керек;

f) үлгіні төгуге арналған сынауықтағы 4 мл аластау ерітіндісінің нуклеотидтерді аластау (5.9.4 қара) және картриджді толықтай кептіру керек;

g) автоматты сынама жинау түтігінде кеуегінің өлшемі 0,2 мкм шприц сүзгішпен шамамен 2 мл элюент аликвотасын сүзу қажет.

7.2 Хроматография

a) 3-кестеде берілген процедура көмегімен нуклеотидті бөліп жоғары емес қысымның A және B жылжымалы екі фазасын араластыру жолымен градиенттер құрау.

3-кесте. Хроматографиялық бөлуге арналған градиентті процедура

Уақыты, мин	Ағынның жылдамдығы, мл/мин	Жылжымалы фаза A, %	Жылжымалы фаза B, %
0	0,6	100	0
25	0,6	80	20
26	0,6	100	0
40	0,6	100	0

b) Сандық анықтау үшін толқынның төменде берілген ұзындығы кезінде хроматограммамен фотодиодты матрицамен ақаутапқы көмегімен 210 нм және 300 нм арасындағы спектральді деректерді алу керек.

1) IMP: 250 нм кезінде толқын ұзындығы.

2) AMP, GMP және TMP: 260 нм кезінде толқын ұзындығы.

3) CMP и UMP: 270 нм кезінде толқын ұзындығы.

c) 40 °C температураға бағана термостатын белгілеу керек.

Хроматограмма үлгісі A қосымшасында берілген

8 Есептеу

8.1 Стандартты таза ерітіндіде (4.10.2 қара) әр нуклеотид тазалығының пайызын есептеу керек (бос қышқыл түрінде), мына формуланы пайдаланып (1):

$$\text{Тазалығы, \%} = \frac{Abs_{\lambda max}}{E^{1\%}_{1\text{см}}} \times \frac{50}{mSS} \times \frac{50}{1} \times 1000, \quad (1)$$

мұндағы $Abs_{\lambda max}$ – толқынның максималды ұзындығы кезінде УФ-жұтылуы;
$E^{1\%}_{1\text{см}}$ –нуклеотид үшін экстинкцияның шоғырлануы;
mSS – бастапқы стандартты ерітіндідегі нуклеотидтер шоғырлануы, мг;
50 – бастапқы стандартты ерітіндінің жалып көлемі, мл;
50 – таза стандартты ерітіндінің жалпы көлемі, мл;
1 – стандартты таза ерітіндіге қосылған бастапқы стандартты ерітінді көлемі, мл;
1000 – массаның мг-нан г-ға түрленуі.

8.2 бастапқы стандартты ерітіндідегі нуклеотидтер шоғырлануын есептеу керек (SS) (4.10.1 қара), мына формуланы пайдаланып (2):

$$SS(\text{мкг/мл}) = \frac{mSS}{50} \times \frac{PS\%}{100} \times 10^3, \quad (2)$$

мұндағы mSS – бастапқы стандартты ерітіндідегі нуклеотидтер шоғырлануы, мг;
50 – жалпы көлем SS, мл;
10^3 – шоғырланудың түрленуі (мг/мл-ден мкг/мл-ға;
$PS\%$ – тазалық пайызы;
100 –массаның түрленуі (% -дан ондық санға дейін).

8.3 ішкі стандартты ерітіндідегі ТМР шоғырлануын есептеу керек (IS) (4.10.3 қара), мына формуланы пайдаланып (3):

$$IS(\text{мкг/мл}) = SS \times \frac{4}{50}, \quad (3)$$

мұндағы SS – бастапқы стандартты ерітіндідегі ТМР шоғырлануы, мкг/мл;
4 – ішкі стандартты ерітіндідіге ТМР бастапқы стандартты ерітінді көлемі, мл;
50 – ішкі стандартты ерітіндідінің жалпы көлемі, мл.

8.4 Жұмыстық стандартты ерітіндідегі нуклеотидтер шоғырлануын есептеу керек (WS) (4.10.4 қара), мына формуланы пайдаланып (4):

$$WS(\text{мкг/мл}) = SS \times \frac{2}{50}, \quad (4)$$

мұндағы SS – бастапқы стандартты ерітіндідегі нуклеотидтер шоғырлануы, мкг/мл;
2 – жұмыстық стандартты ерітіндідегі бастапқы стандартты ерітінді нуклеотидтерінің көлемі, мл;
50 – жұмыстық стандартты ерітіндінің жалпы көлемі, мл.

8.5 калибрлеуші стандартты ерітіндідегі шоғырлануды ТМР есептеу (CS) (см. 4.10.5), мына формуланы пайдаланып:

$$CS(\text{мкг/мл}) = IS \times \frac{1}{25}, \quad (5)$$

мұндағы IS – ішкі стандартты ерітіндідегі нуклеотидтердің шоғырлануы, мкг/мл;
1 –калибрлеуші стандартты ерітіндідегі IS көлемі, мл;
25 – калибрлеуші стандартты ерітіндінің жалпы көлемі, мл.

8.6 калибрлеуші стандартты ерітіндідегі нуклеотидтер шоғырлануын есептеу керек (CS) (4.10.5 қара), мына формуланы пайдаланып (6):

$$CS(\text{мкг/мл}) = WS \times \frac{V_{WS}}{25}, \quad (6)$$

мұндағы WS – жұмыстық стандартты ерітіндідегі нуклеотидтер шоғырлануы, мкг/мл;
V_{WS} – калибрлеуші стандартты ерітіндінің жұмыстық стандартты ерітіндінің көлемі, мл;
25 – калибрлеуші стандартты ерітіндінің жалпы көлемі, мл.

8.7 Калибрлеуші стандартты ерітінді үшін шоғырланулар қатынасына (нуклеотид/ТМР; ось х) қарай шың ауданына қатынасы (нуклеотид/ТМР; ось у) үшін сызықтық регрессия қисығын анықтау және координат басы арқылы осьпен қиылысатын кесіндімен еңісті есептеу керек.

8.8 Осы калибрлеу қисығының белгісіз үлгісіндегі нуклеотид мөлшерін интерполяциялау керек.

а) құрғақ өнімдер үшін:

$$\text{Нуклеотид, мг/100 г} = \frac{A_{NT}}{A_{IS}} \times \frac{1}{L} \times \frac{(C_{IS} \cdot V_{IS})}{m_s} \times \frac{100}{1000}, \quad (7)$$

b) тұтынуға дайын сұйықтықтар үшін:

$$\text{Нуклеотид, мг/100 г} = \frac{A_{NT}}{A_{IS}} \times \frac{1}{L} \times \frac{(C_{IS} \cdot V_{IS})}{V_s} \times \frac{100}{1000}, \quad (8)$$

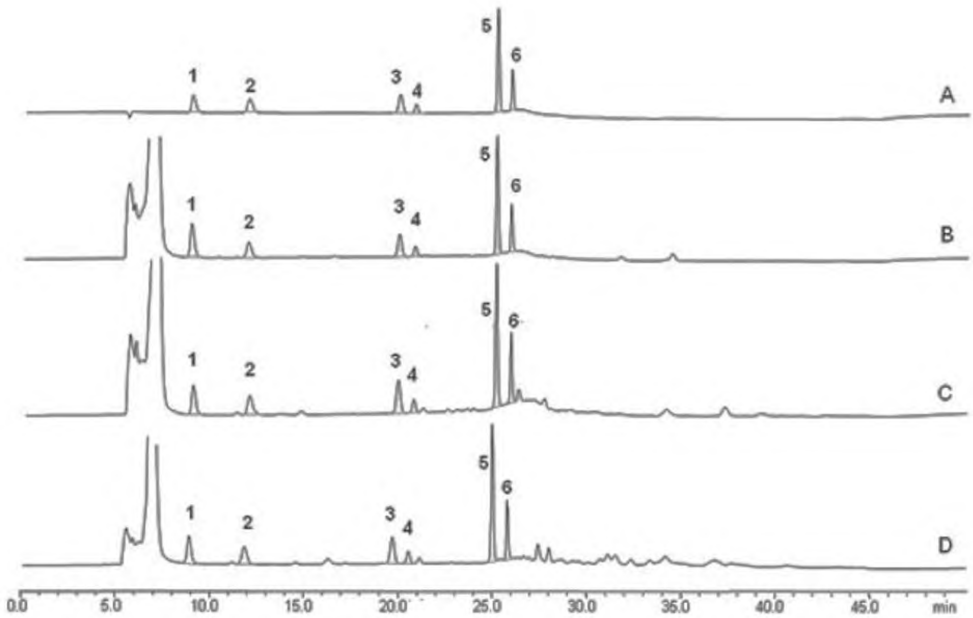
мұндағы A_{NT} – үлгідегі нуклеотид шыңының нүктесі;
A_{IS} – үлгідегі ТМР шың ауданы;
L –калибрлеу қисығы еңісінің сызықтық регрессия;
C_{IS} – үлгіге қосылған ішкі стандартты ерітіндінің шоғырлануы, мкг/мл;
V_{IS} – үлгіге қосылған ішкі стандартты ерітіндінің көлемі, мл;
m_s – үлгінің массасы, г;
V_s – үлгінің көлемі, мл;
100 –массаның немесе нәтиже көлемінің түрленуі (100 г-да г-нан немесе 100 мл-ге мл-ден);
1000 – нәтиже массасының түрленуі (мкг-нан мг-ға).

9 Нәтижелер

Нәтижелер үтірден кейін бір белгіге дейін мг/100 г немесе мг/100 мл-мен жазылады.

А қосымшасы
(ақпараттық)

Хроматограмма үлгілері



Шартты белгілер:

А – Стандартты нуклеотидті ерітінді қоспа;

В – Сияр сүті негізіндегі балалардың тамақтануына арналған қоспа;

С – Соя негізіндегі балалардың тамақтануына арналған қоспа;

D – Белок негізіндегі балалардың тамақтануына арналған гидролизденген сүт қоспасы;

1 – Цитидин-5'-монофосфат (CMP);

2 – Уридин-5'-монофосфат (UMP);

3 – Гуанозин-5'-монофосфат (GMP);

4 – Инозин-5'-монофосфат (IMP);

5 – Тимидин-5'-монофосфат (TMP);

6 – Аденозин-5'-монофосфат (AMP).

А.1 суреті – Хроматограмма үлгілері

В қосымшасы
(ақпараттық)

Деректер дәлдігі

В.1 – В.7 кестелерде берілген деректер зертхана аралық зерттеулерде алынған және ISO 5725-2 [6] стандартына және талдау әдісінің сипаттамасының дәлдігін бағалау үшін бірлескен зерттеу процедуралары үшін AOAC-IUPAC бірегейленген хаттамасына сәйкес [7] 2015 жылы жарияланды [4-5]. Зерттеу берілген талаптар негізінде бағаланды [8].

Әдісті тексеру туралы толығырақ ақпарат мына сайтта берілген:

gost.e-ecolog.ru

В.1 кестесі – Сертификатталған NIST 1849a стандартты практикалық үлгіге арналған деректер дәлдігі

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Жалпы зертханалар саны, n	12	12	12	11[a]	12
Жалпы қайталаулар саны, $2 \cdot n$	24	24	24	22	24
Барлық деректердің жалпы орташа мәні (жиынтығы бойынша орташа), x , мг/100 г	28,14	11,76	15,07	Н/д	10,87
Қайталанушылықты орташа квадраттық ауытқуы, S_r, мг/100 г	0,46	0,30	0,38	Н/д	0,22
Жаңғыртушылықтың орташа квадраттық ауытқуы, S_R, мг/100 г	1,36	0,59	0,68	Н/д	0,47
Қайталанушылық шегі SMPR-мен	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	Н/д	≤ 6 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,r}$, %	1,6	2,5	2,5	Н/д	2,1
Жаңғыртушылық шегі SMPR-мен	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	Н/д	≤ 11 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,R}$, %	4,8	5,0	4,5	Н/д	4,4
Хорвитц коэффициентінің мәні	0,7	0,6	0,6	Н/д	0,6

[a] 2/9-дан кем зертханалар статистикалық талдаудан шығарылды.
Н/д – Деректер жоқ.

В.2 кестесі– Балалардың тамақтануына арналған лактозасыз қоспаның тестілі үлгісіне арналған деректер дәлдігі

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Жалпы зертханалар саны, n	12	12	24	12	12
Жалпы қайталаулар саны, $2 \cdot n$	24	24	1,45	24	24
Барлық деректердің жалпы орташа мәні (жиынтығы бойынша орташа), x , мг/100 г	11,42	3,84	0,03	1,65	3,34

В.2 кестесінің жалғасы

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Қайталанушылықты орташа квадраттық ауытқуы, S_r, мг/100 г	0.12	0,09	0,04	0,05	0,05
Жаңғыртушылықтың орташа квадраттық ауытқуы, S_R, мг/100 г	0,89	0,30	24	0,10	0,09
Қайталанушылық шегі SMPR-мен	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,r}$, %	1,1 %	2,4 %	1,8 %	2,8 %	1,4 %
Жаңғыртушылық шегі SMPR-мен	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %
Жаңғыртушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,R}$, %	7,8 %	7,9 %	2,8 %	6,1 %	2,7 %
Хорвитц коэффициентінің мәні	1,0	0,9	0,3	0,6	0,3

В.10 кестесі – Крахмал негізіндегі балалардың тамақтануына арналған қоспаның тестілі үлгісіне арналған деректер дәлдігі

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Жалпы зертханалар саны, n	11[a]	11[a]	11[a]	11[a]	11[a]
Жалпы қайталаулар саны, $2 \cdot n$	22	22	22	22	22
Барлық деректердің жалпы орташа мәні (жиынтығы бойынша орташа), x , мг/100 г	10,99	3,88	1,67	1,66	3,54
Қайталанушылықты орташа квадраттық ауытқуы, S_r, мг/100 г	0,30	0,21	0,03	0,02	0,08
Жаңғыртушылықтың орташа квадраттық ауытқуы, S_R, мг/100 г	0,81	0,31	0,07	0,17	0,11
Қайталанушылық шегі SMPR-мен	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,r}$, %	2,7 %	5,4 %	1,6 %	1,4 %	2,1 %
Жаңғыртушылық шегі SMPR-мен	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %
Жаңғыртушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,R}$, %	7,4 %	8,4 %	4,2 %	10,3 %	3,0 %
Хорвитц коэффициентінің мәні	0,9	0,9	0,4	1,0	0,3

[a] 2/9-дан кем зертханалар статистикалық талдаудан шығарылды.

В.4 кестесі – Гидролизат негізіндегі балалардың тамақтануына арналған қоспаның тестілі үлгісіне арналған деректер дәлдігі

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Жалпы зертханалар саны, n	12	12	12	11[a]	12

В.4 кестесінің жалғасы

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Жалпы қайталаулар саны, $2 \cdot n$	24	24	24	22	24
Барлық деректердің жалпы орташа мәні (жиынтығы бойынша орташа), x , мг/100 г	9,72	4,15	1,38	2,46	4,73
Қайталанушылықты орташа квадраттық ауытқуы, S_r, мг/100 г	0,26	0,13	0,05	0,04	0,19
Жаңғыртушылықтың орташа квадраттық ауытқуы, S_R, мг/100 г	0,69	0,36	0,11	0,13	0,30
Қайталанушылық шегі SMPR-мен	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,r}$, %	2,7 %	3,1 %	3,9 %	1,8 %	3,9 %
Жаңғыртушылық шегі SMPR-мен	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %
Жаңғыртушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,R}$, %	7,1 %	8,7 %	7,7 %	5,5 %	6,2 %
Хорвитц коэффициентінің мәні	0,9	1,0	0,7	0,6	0,7

[a] 2/9-дан кем зертханалар статистикалық талдаудан шығарылды.

В.11 кестесі – Соя негізіндегі балалардың тамақтануына арналған қоспаның тестілі үлгісіне арналған деректер дәлдігі

Параметрі	CMP[a]	UMP[a]	GMP[a]	IMP[a]	AMP[a]
Жалпы зертханалар саны, n	12	12	12	12	12
Жалпы қайталаулар саны, $2 \cdot n$	24	24	24	24	24
Барлық деректердің жалпы орташа мәні (жиынтығы бойынша орташа), x , мг/100 г	0,50	0,19	0,22	0,16	0,54
Қайталанушылықты орташа квадраттық ауытқуы, S_r, мг/100 г	0,19	0,05	0,05	0,07	0,11
Жаңғыртушылықтың орташа квадраттық ауытқуы, S_R, мг/100 г	0,34	0,14	0,18	0,25	0,30
Қайталанушылық шегі SMPR-мен	≤ 8 %	≤ 10 %	≤ 10 %	≤ 10 %	≤ 8 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,r}$, %	38,5 %	25,0 %	22,9	43,7 %	20,4 %
Жаңғыртушылық шегі SMPR-мен	≤ 16 %	≤ 20 %	≤ 20 %	≤ 20 %	≤ 16 %
Жаңғыртушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,R}$, %	67,1 %	72,0 %	82,7 %	156,2 %	55,7 %
Хорвитц коэффициентінің мәні	5,3	5,0	5,8	10,5	4,5

Ескертпе –Соя негізіндегі балалардың тамақтануына арналған қоспалар нуклеотидпе байытылмаған және тек эндогенді деңгейі бар.

[a] Бірнеше зертхана осы зерттелетін құрауыштар үшін нөл нәтижені хабарлады, төмен дәлдікке алып келді.

В.6 кестесі– Сүт сарысуы негізіндегі балалардың тамақтануына арналған 1-қоспаның тестілі үлгісіне арналған деректер дәлдігі

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
	Мәні	Мәні	Мәні	Мәні	Мәні
Жалпы зертханалар саны, n	12	12	12	10[a]	12
Жалпы қайталаулар саны, $2 \cdot n$	24	24	24	18	24
Барлық деректердің жалпы орташа мәні (жиынтығы бойынша орташа), x , мг/100 г	5,47	3,52	1,05	Н/д	3,51
Қайталанушылықты орташа квадраттық ауытқуы, S_r, мг/100 г	0,15	0,05	0,02	Н/д	0,06
Жаңғыртушылықтың орташа квадраттық ауытқуы, S_R, мг/100 г	0,48	0,31	0,04	Н/д	0,18
Қайталанушылық шегі SMPR-мен	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	Н/д	≤ 6 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,r}$, %	2,7 %	1,5 %	2,2 %	Н/д	1,7 %
Жаңғыртушылық шегі SMPR-мен	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	Н/д	≤ 11 %
Жаңғыртушылықтың түрлену коэффициенті, C_{VR}, %	8,7 %	8,8 %	4,1 %	Н/д	5,0 %
Хорвитц коэффициентінің мәні	1,0	0,9	0,4	Н/д	0,5

[a] 2/9-дан кем зертханалар статистикалық талдаудан шығарылды.
Н/д – Деректер жоқ.

В.14 кестесі– Сүт негізіндегі балалардың тамақтануына арналған 2-қоспаның тестілі үлгісіне арналған деректер дәлдігі

Параметрі	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
	Мәні	Мәні	Мәні	Мәні	Мәні
Жалпы зертханалар саны, n	11[a]	12	11[a]	10[a]	11[a]
Жалпы қайталаулар саны, $2 \cdot n$	22	24	22	22	22
Барлық деректердің жалпы орташа мәні (жиынтығы бойынша орташа), x , мг/100 г	5,43	3,54	1,05	Н/д	3,51
Қайталанушылықты орташа квадраттық ауытқуы, S_r, мг/100 г	0,09	0,11	0,04	Н/д	0,05
Жаңғыртушылықтың орташа квадраттық ауытқуы, S_R, мг/100 г	0,43	0,32	0,05	Н/д	0,15
Қайталанушылық шегі SMPR-мен	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	Н/д	≤ 6 %
Қайталанушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,r}$, %	1,6 %	3,2	3,4 %	Н/д	1,3 %

В.7 кестесінің соңы

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
	Мәні	Мәні	Мәні	Мәні	Мәні
Жаңғыртушылық шегі SMPR-мен	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	Н/д	≤ 11 %
Жаңғыртушылықтың түрлену коэффициенті, $C_{V,R}$, %	7,9 %	9,0 %	5,2 %	Н/д	4,3 %
Хорвитц коэффициентінің мәні	0,9	1,0	0,5	Н/д	0,5

[a] 2/9-дан кем зертханалар статистикалық талдаудан шығарылды.
Н/д – Деректер жоқ.

Библиография

[1] Codex Standard 72-1981 Standard for Infant Formula and Formulas for Special Medical Purposes Intended for Infants (72-1981 кодексінің стандарты. Балаларға арналған арнайы медициналық мақсатты балалар және сүт қоспасы).

[2] GILL B.D., INDYK H.E., KUMAR M.C., SIEVWRIGHT N.K., MANLEY-HARRIS M.. A liquid chromatographic method for routine analysis of 5′-mononucleotides in pediatric formulas. J. AOAC Int. 2010, 93 pp. 966–973 (Гилл Б.Д., Индык Х.Е., Кумар М.К., Сиврайт Н.К., Мэнли-Харрис М. Балалардың тамақтануына арналған қоспалардағы 5'-мононуклеотидті рутинді талдау үшін сұйықтық хроматография әдісі. J. AOAC Int. 2010, 93 бет. 966-973).

[3] GILL B.D., INDYK H.E., MANLEY-HARRIS M.. Analysis of nucleosides and nucleotides in infant formula by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. 2013, 405 pp. 5311–5319 (Гилл Б.Д., Индык Х.Е., Мэнли-Харрис М. Сұйықтық хроматография мен тандемді масс-спектрометрия көмегімен балалардың тамақтануына арналған қоспадағы нуклеозидтер мен нуклеотидтерді талдау. Анал. Бионал. Хим. 2013, 405 бет.5311-5319).

[4] OMA 2011.20, Analysis of Nucleotide 5′-Monophosphates in Infant Formulas by HPLC–UV: Collaborative Study (OMA 2011.20, HPLC-UV көмегімен балалардың тамақтануына арналған қоспалардағы 5'-монофосфатты нуклеотидті талдау: Бірлескен зерттеу).

[5] GILL B.D., INDYK H.E.. Analysis of Nucleotide 5′-Monophosphates in Infant Formulas by HPLCUV: Collaborative Study, Final Action 2011.20. J. AOAC Int. 2015, 98 pp. 971–979 (Гилл Б.Д., Индык Х.Е. HPLC-UV көмегімен балалардың тамақтануына арналған қоспалардағы 5'-монофосфатты нуклеотидті талдау: Бірлескен зерттеу, Соңғы жұмыс 2011.20. J. AOAC Int. 2015, 98 бет. 971-979).

[6] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (Өлшеу әдістері мен нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстығы мен прецизиондығы). 2-бөлім. Өлшеудің стандартты әдісінің қайталанушылығы мен жаңғыртушылығын анықтаудың негізгі әдісі).

[7] AOAC International. AOAC Official Methods Program, Associate Referee's Manual on development, Study, Review, and Approval Process. Part IV AOAC Guidelines for Collaborative Studies, 1995, pp. 23–51. (AOAC INTERNATIONAL. AOAC ресми әдістерінің бағдарламасы, Әзірлеу, зерделеу, қарау және бекіту процесі бойынша қауымдасқан соттар нұсқалығы. IV бөлім, Бірлескен зерттеулерге арналған нұсқаулық AOAC, 1995 ж., 23-51-бет).

[8] AOAC SMPR 2011.005, Standard Method Performance Requirements for Vitamin B12 in infant formula and Adult/Pediatric Nutritional formula (AOAC SMPR 2011.005, Балалардың тамақтануына және ересектерге арналған қоспадағы B12 витаминіне арналған стандартты әдістердің сипаттамасына қойылатын талаптар).

[9] ҚР СТ 2.79–2004 Қазақстан Республикасының Мемлекеттік өлшем бірлігін қамтамасыз ету жүйесі. Шетел шығаратын заттар мен материалдардың қасиеттері құрамының стандарттық үлгілері. Қолдануға рұқсат тәртібі. Жалпы ережелер.

ӘОЖ 637.1:543.544.5:006.354 **МСЖ 67.050**

Түйінді сөздер: балалар тамағына арналған қоспа, мононуклеотидтер, нуклеотидтер, сұйықтық хроматография, хроматограмма

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Смеси для детского питания

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НУКЛЕОТИДОВ С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

СТ РК ISO 20638–2016

(ISO 20638:2015 Infant formula – Determination of nucleotides by liquid chromatography, IDT)

Издание официальное

**Комитет технического регулирования и метрологии
Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан
(Госстандарт)**

Астана

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН И ВНЕСЕН Товариществом с ограниченной ответственностью «Kazakhstan Business Solution» (Технический комитет по стандартизации ТК 91 «Химия»)

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан от № 296-од от 23 ноября 2016 года

3 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 20638:2015 *Infant formula – Determination of nucleotides by liquid chromatography* (Смеси для детского питания. Определение содержания нуклеотидов с помощью жидкостной хроматографии)

Международный стандарт разработан Техническим комитетом ISO/TC 34 «Пищевые продукты» совместно с ассоциацией AOAC INTERNATIONAL

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий национальный стандарт и на которые даны ссылки, имеется в Едином государственном фонде нормативных технических документов

Официальной версией является текст на государственном и русском языке

Степень соответствия – идентичная (IDT).

4 В настоящем стандарте реализованы нормы законов Республики Казахстан «О техническом регулировании» от 9 ноября 2004 года № 603-II, «О языках в Республике Казахстан» от 11 июля 1997 года № 151-I

5 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ 2023 год
ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ 5 лет

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Нормативные документы по стандартизации», а текст изменений и поправок – в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты»

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Смеси для детского питания

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ НУКЛЕОТИДОВ С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Дата введения 2018-01-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод количественного определения содержания 5'-мононуклеотидов в адаптированных или частично адаптированных начальных или последующих молочных смесях в твердых (т. е. порошки) или жидких (т. е. готовые к употреблению жидкости и жидкие концентраты) формах с помощью жидкостной хроматографии.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Адаптированные или частично адаптированные начальные или последующие молочные смеси (infant formula): Искусственный заменитель грудного молока, специально изготовленный для удовлетворения потребности младенцев в питании в течение первых месяцев жизни до использования соответствующего прикорма (согласно Стандарт Кодекса 72-1981 [1]).

3 Сущность метода

Пробу растворяют в растворе с высоким содержанием соли для ингибирования взаимодействия белка и жира. 5'-мононуклеотиды – уридин-5'-монофосфат (UMP), инозин-5'-монофосфат (IMP), аденозин-5'-монофосфат (AMP), гуанозин-5'-монофосфат (GMP), и цитидин-5'-монофосфат (CMP) – выделяют из отобранной пробы путем твердофазной экстракции (SPE) с сильным анионообменным носителем с последующим хроматографическим исследованием с использованием C18 неподвижной фазы с градиентным элюированием, UV-детектированием и количественном анализом по внутренней стандартной методике с использованием тимидин-5'-монофосфата (TMP) [2].

4 Реагенты и вещества

Во время исследования, если не указано иное, используют реагенты известной аналитической степени чистоты и дистиллированную или деминерализованную воду, или воду эквивалентной степени чистоты.

4.1 Стандартные растворы со степенью чистоты не менее 99 % (Sigma[1)] или эквивалент). Нуклеотидные соли натрия или гидраты солей натрия можно заменить, если формы свободной кислоты недоступны в продаже.

4.1.1 TMP, тимидин-5'-монофосфат, CAS-номер: 365-07-1.

4.1.2 AMP, аденозин-5'-монофосфат, CAS-номер: 61-19-8.

4.1.3 CMP, цитидин-5'-монофосфат, CAS-номер: 63-37-6.

4.1.4 GMP, гуанозин-5'-монофосфат, CAS-номер: 85-32-5.

4.1.5 IMP, инозин-5'-монофосфат, CAS-номер: 131-99-7.

4.1.6 UMP, уридин-5'-монофосфат, CAS-номер: 58-97-9.

4.2 Бромистый калий (KBr).

4.3 Дигидрофосфат калия (KH_2PO_4).

4.4 Ортофосфорная кислота (H_3PO_4).

4.5 Гидроксид калия (KOH).

4.6 Этилендиаминтетрауксусная кислота, двуводная двунатриевая соль (EDTA).

4.7 Хлорид натрия (NaCl).

4.8 Метанол (CH_3OH).

4.9 Приготовление реагентов

4.9.1 Буферный раствор (KH_2PO_4, c = 0,25 моль/л, pH = 3,5). Растворить 34,0 г KH_2PO_4 (см. 4.3) в 900 мл воды и довести уровень pH ортофосфорной кислотой (см. 5.4) до 3,5. Разбавить до 1 л.

4.9.2 Экстрактный раствор (NaCl, c = 1 моль/л, EDTA c = 4 ммоль/л). Растворить 58,5 г NaCl (см. 5.7) и 1,5 г EDTA (см. 4.6). Развести в 1 л воды.

4.9.3 Отмывающий раствор (KBr, c = 0,3 моль/л). Растворить 3,6 г KBr (см. 4.2) в 100 мл воды.

4.9.4 Элюентный раствор (KH_2PO_4, c = 0,5 моль/л, pH = 3). Растворить 6,8 г KH_2PO_4 (см. 4.3) в 90 мл воды и довести уровень pH ортофосфорной кислотой (см. 4.4) до 3,0. Развести до 100 мл.

4.9.5 Подвижная фаза A (KH_2PO_4, c = 10 ммоль/л, pH = 5,6). Растворить 1,4 г KH_2PO_4 (см. 5.3) в 900 мл воды и довести уровень pH до (5,6 ± 0,1) с помощью раствора KOH (10 % м/об.). Развести водой до 1 л. Готовить ежедневно, так как при комнатной температуре часто происходит рост микробов в фосфатных буферах, которые содержат малое количество органического растворителя или совершенно его не содержат.

4.9.6 Подвижная фаза B, 100 %-ный метанол (см. 4.8).

4.10 Подготовка стандартных растворов

4.10.1 Исходные стандартные растворы, ρ приблизительно 1 мг/мл. Взять точную навеску 50 мг каждого 5'-монофосфатного нуклеотида в отдельные мерные колбы вместимостью 50 мл. Добавить 40 мл воды, перемешать до растворения и развести водой до нужного объема.

4.10.2 Чистые стандартные растворы. Отмерить пипеткой 1,0 мл каждого исходного стандартного раствора (см . 4.10.1) в отдельные мерные колбы вместимостью 50 мл, развести стандартизирующим буфером до нужного объема (см. 4.9.1) и измерить поглощающую способность при соответствующем λ_{max} для определения концентрации

[1)] Пример подходящего продукта, имеющегося в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является подтверждением того, что данный продукт одобрен ISO и IDF. Эквивалентные продукты могут использоваться, если продемонстрировано, что они приводят к тем же результатам.

каждого исходного стандартного раствора нуклеотида. См. таблицу 1 и источники [2] и [3].

Таблица 1 — Максимальные значения UV-поглощения и коэффициенты экстинкции для 5'-монофосфатных нуклеотидов

5'-монофосфатный нуклеотид	λ_{max}, нм	$E^{1\%}_{1cm}$
Аденозин-5'-монофосфат	257	428,6
Цитидин-5'-монофосфат	280	390,9
Гуанозин-5'-монофосфат	254	392,0
Инозин-5'-монофосфат	249	356,5
Уридин-5'-монофосфат	262	312,7
Тимидин-5'-монофосфат	267	288,5

4.10.3 Внутренний стандартный раствор, ρ примерно 80 мкг/мл. Развести 4 мл исходного стандартного раствора TMP (см. 4.10.1) в 50 мл воды.

4.10.4 Рабочий стандартный раствор, ρ примерно 40 мкг/мл. Отмерить пипеткой 2 мл каждого исходного стандартного раствора (см. 4.10.1) (AMP, CMP, GMP, IMP и UMP) в одну мерную колбу вместимостью 50 мл и развести водой до нужного объема.

4.10.5 Калибровочные стандартные растворы. См. таблицу 2 для получения номинальной концентрации нуклеотидов калибровочных стандартных растворов.

4.10.5.1 Калибровочный стандартный раствор 1. Отмерить пипеткой 0,25 мл рабочего стандартного раствора (см. 4.10.4) и 1 мл стандартного раствора (см. 4.10.3) в мерную колбу вместимостью 25 мл и развести водой до нужного объема.

4.10.5.2 Калибровочный стандартный раствор 2. Отмерить пипеткой 0,5 мл рабочего стандартного раствора (см. 4.10.4) и 1 мл внутреннего стандартного раствора (см. 4.10.3) в мерную колбу вместимостью 25 мл и развести водой до нужного объема.

4.10.5.3 Калибровочный стандартный раствор 3. Отмерить пипеткой 2 мл рабочего стандартного раствора (см. 4.10.4) и 1 мл внутреннего стандартного раствора (см. 4.10.3) в мерную колбу вместимостью 25 мл и развести водой до нужного объема.

4.10.5.4 Калибровочный стандартный раствор 4. Отмерить пипеткой 5 мл рабочего стандартного раствора (см. 4.10.4) и 1 мл внутреннего стандартного раствора (см. 4.10.3) в мерную колбу вместимостью 25 мл и развести водой до нужного объема.

Таблица 2 – Номинальная концентрация калибровочных стандартных растворов

Калибровочный стандартный раствор	Концентрация каждого нуклеотида: AMP, CMP, GMP, IMP и UMP, мкг/мл	Концентрация TMP, мкг/мл
1	0,4	3,2
2	0,8	3,2
3	3,2	3,2
4	8,0	3,2

5 Оборудование

Стандартная лабораторная стеклянная посуда и оборудование, а именно, следующее.

5.1 Система HPLC, оснащенная насосом, дозатором образцов с петлевым дозатором в 50 мкл, дегазатором, колоночным термостатом и детектором с фотодиодной матрицей.

5.2 Колонка C18, Gemini[1)] C18, 5 мкм, 4,6 мм × 250 мм (Phenomenex[1)]).

5.3 Спектрофотометр, способный считывать до 3-х знаков после запятой.

5.4 Прибор для измерения pH.

5.5 Центрифуга.

5.6 Центрифужные пробирки, Amicon Ultra MWCO 3k, 4 мл (Millipore)[1)].

5.7 Полипропиленовые центрифужные пробирки, вместимостью 50 мл.

5.8 Одноразовые шприцы, вместимостью 3 мл.

5.9 Шприцевые фильтры, 0,2 мкм с ацетатцеллюлозной мембраной.

5.10 Вакуумный коллектор для SPE.

5.11 Полипропиленовые SPE картриджи сильного анионообмена, 6 мл × 1000 мг, Chromabond SB[1)].

5.12 Фильтрующие перегородки, 0,45 мкм, полиамидные.

Примечание – Все средства поверки должны быть поверены/калиброваны (аттестованы) и иметь действующие сертификаты (свидетельства) о поверке/калибровке (аттестации) и/или оттиски поверительных клейм калибровочные знаки, а стандартные образцы допущены к применению и внесены в реестр ГСИ РК в соответствии

6 Подготовка образцов

a) Взболтать или перемешать контейнер для образца до открытия.

b) Взять точную навеску 1 г порошка или 10 мл готовой к употреблению/жидкой молочной смеси для детского питания в центрифужную пробирку вместимостью 50 мл.

c) Добавить 30 мл экстрактного раствора (см. 4.9.2).

d) Добавить 1,0 мл внутреннего стандартного раствора TMP (см. 4.10.3).

e) Закрыть пробирку и перемешать, потряхивая, до полного растворения порошка.

f) Оставить образец на 10 мин, чтобы обеспечить полную гидратацию.

g) Развести приблизительно 50 мл воды до конечного объема.

h) Закрыть пробирку и перемешать, потряхивая.

i) Для продуктов на основе крахмала, поместить (2 × 4) мл приготовленного образца в две отдельные ультрацентрифужные пробирки и центрифугировать при 3500 г в течение 60 мин и объединить отфильтрованные растворы из обеих пробирок.

7 Проведение испытания

7.1 Извлечение

На протяжении всей процедуры извлечения не позволять картриджу работать сухим и осуществлять слив в верхнюю часть основания картриджа.

[1)] Пример подходящего продукта, имеющегося в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является подтверждением того, что данный продукт одобрен ISO. Эквивалентные продукты могут использоваться, если продемонстрировано, что они приводят к тем же результатам.

Во время слива картриджа скорость потока менее 2 мл/мин.

a) для каждого образца поместить один SPE картридж на вакуумном коллекторе;

b) выдержать колонки, добавляя 4 мл метанола и осуществляя слив в верхнюю часть основания картриджа; с последующим добавлением большого количества воды 2 раза (по 5 мл каждый раз) и осуществляя слив в верхнюю часть основания картриджа;

c) загрузить 4 мл раствора образца в картридж и осуществить слив в верхнюю часть основания картриджа;

d) промыть картридж для устранения взаимодействия с 4 мл отмывающего раствора (см. 5.9.3) и осуществить слив в верхнюю часть основания картриджа;

e) поместить пробирку для сбора образца в коллектор для SPE;

f) элюировать нуклеотиды 4 мл элюентного раствора (см. 4.9.4) в пробирке для сбора образца и полностью осушить картридж;

g) отфильтровать аликвоту приблизительно 2 мл элюента через шприцевой фильтр с размером пор 0,2 мкм в трубку автоматического пробозаборника.

7.2 Хроматография

a) Сформировать градиенты путем смешивания двух подвижных фаз A и B невыского давления с разделением нуклеотидов с помощью процедуры, указанной в таблице 3.

Таблица 3 — Градиентная процедура для хроматографического разделения

Время, мин	Скорость потока, мл/мин	Подвижная фаза A, %	Подвижная фаза B, %
0	0,6	100	0
25	0,6	80	20
26	0,6	100	0
40	0,6	100	0

b) Получить спектральные данные между 210 нм и 300 нм с помощью детектора с фотодиодной матрицей с хроматограммами при указанных ниже длинах волн для количественного определения.

1) IMP: длина волны при 250 нм.

2) AMP, GMP и TMP: длина волны при 260 нм.

3) CMP и UMP: длина волны при 270 нм.

c) Установить колоночный термостат на температуру 40 °C.

Пример хроматограммы приведены в приложении A.

8 Вычисление

8.1 Рассчитать процент чистоты каждого нуклеотида (в виде свободной кислоты) в чистом стандартном растворе (см. 4.10.2), используя формулу (1):

$$\text{Чистота, \%} = \frac{Abs_{\lambda max}}{E^{1\%}_{1\text{см}}} \cdot \frac{50}{mSS} \cdot \frac{50}{1} \cdot 1000, \qquad (1)$$

где $Abs_{\lambda max}$ – УФ-поглощение при максимальной длине волны;

$E_{1см}^{1\%}$ – коэффициент экстинкции для нуклеотида;
mSS – масса нуклеотида в исходном стандартном растворе, мг;
50 – общий объем исходного стандартного раствора, мл;
50 – общий объем чистого стандартного раствора, мл;
1 – объем исходного стандартного раствора, добавленного к чистому стандартному раствору, мл;
1000 – преобразование массы из мг в г.

8.2 Вычислить концентрацию нуклеотида в исходном стандартном растворе (SS) (см. 4.10.1), используя формулу (2):

$$SS\left(\frac{\text{мкг}}{\text{мл}}\right) = \frac{mSS}{50} \cdot \frac{PS\%}{100} \cdot 10^3, \quad (2)$$

где mSS – масса нуклеотида в исходном стандартном растворе, мг;
50 – общий объем SS, мл;
10^3 – преобразование концентрации (из мг/мл в мкг/мл);
$PS\%$ – процент чистоты;
100 – преобразование массы (из % в десятичное число).

8.3 Вычислить концентрацию TMP во внутреннем стандартном растворе (IS) (см. 4.10.3), используя формулу (3):

$$IS(\text{мкг/мл}) = SS \cdot \frac{4}{50}, \quad (3)$$

где SS – концентрация TMP в исходном стандартном растворе, мкг/мл;
4 – объем исходного стандартного раствора TMP во внутреннем стандартном растворе, мл;
50 – общий объем внутреннего стандартного раствора, мл.

8.4 Вычислить концентрацию нуклеотидов в рабочем стандартном растворе (WS) (см. 4.10.4), используя формулу (4):

$$WS(\text{мкг/мл}) = SS \cdot \frac{2}{50}, \quad (4)$$

где SS – концентрация нуклеотидов в исходном стандартном растворе, мкг/мл;
2 – объем нуклеотидов исходного стандартного раствора в рабочем стандартном растворе, мл;
50 – общий объем рабочего стандартного раствора, мл.

8.5 Вычислить концентрацию TMP в калибровочных стандартных растворах (CS) (см. 4.10.5), используя формулу (5):

$$CS(\text{мкг/мл}) = IS \cdot \frac{1}{25}, \quad (5)$$

где IS – концентрация нуклеотидов во внутреннем стандартном растворе, мкг/мл;
1 – объем IS в калибровочном стандартном растворе, мл;
25 – общий объем калибровочного стандартного раствора, мл.

8.6 Вычислить концентрацию нуклеотидов в калибровочных стандартных растворах (CS) (см. 4.10.5), используя формулу (6):

$$CS(\text{мкг/мл}) = WS \cdot \frac{V_{WS}}{25}, \quad (6)$$

где WS – концентрация нуклеотидов в рабочем стандартном растворе, мкг/мл;
V_{WS} – объем рабочего стандартного раствора в калибровочном стандартном растворе, мл;
25 – общий объем калибровочного стандартного раствора, мл.

8.7 Определить кривую линейной регрессии для отношения площадей пиков (нуклеотид/TMP; ось y) в зависимости от соотношения концентраций (нуклеотид/TMP; ось x) для калибровочных стандартных растворов и вычислить наклон по отрезку, отсекаемому на оси y через начало координат.

9.8 Интерполировать содержание нуклеотидов в неизвестных образцах из этой калибровочной кривой.

a) для сухих продуктов:

$$\text{Нуклеотид, мг/100 г} = \frac{A_{NT}}{A_{IS}} \cdot \frac{1}{L} \cdot \frac{(C_{IS} \cdot V_{IS})}{m_s} \cdot \frac{100}{1000}, \quad (7)$$

b) для готовых к употреблению жидкостей:

$$\text{Нуклеотид, мг/100 г} = \frac{A_{NT}}{A_{IS}} \cdot \frac{1}{L} \cdot \frac{(C_{IS} \cdot V_{IS})}{V_s} \cdot \frac{100}{1000}, \quad (8)$$

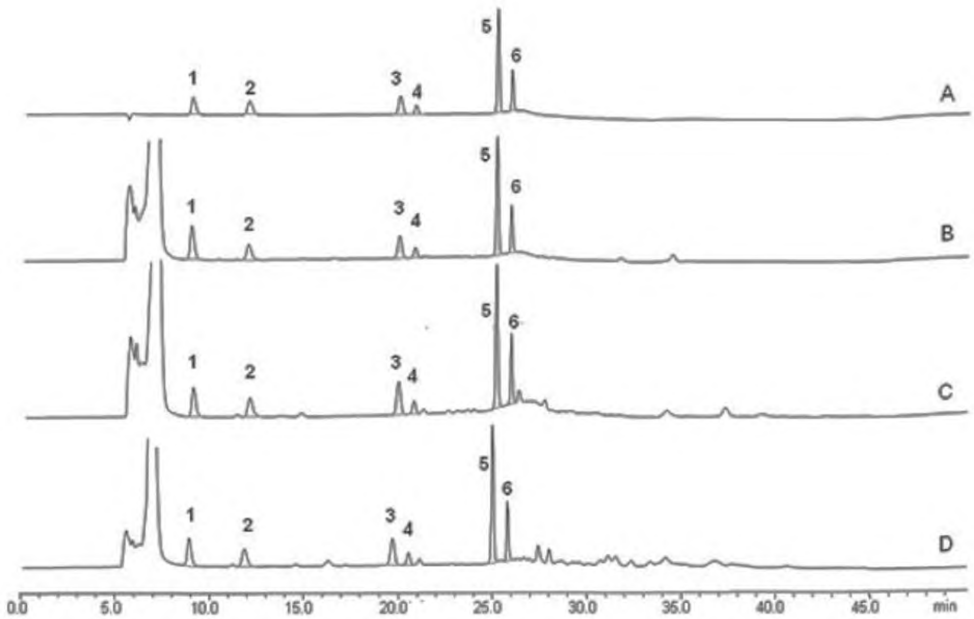
где A_{NT} – площадь пика нуклеотида в образце;
A_{IS} – площадь пика TMP в образце;
L – линейная регрессия наклона калибровочной кривой;
C_{IS} – концентрация внутреннего стандартного раствора, добавленного к образцу, мкг/мл;
V_{IS} – объем внутреннего стандартного раствора, добавленного к образцу, мл;
m_s – масса образца, г;
V_s – объем образца, мл;
100 – преобразование массы или объема результата (из г в 100 г или из мл в 100 мл);
1000 – преобразование массы результата (из мкг в мг).

9 Результаты

Результаты записать в мг/100 г или мг/100 мл с точностью до одного знака после запятой.

Приложение А
(информационное)

Примеры хроматограмм



Условные обозначения:

A – смесь стандартных нуклеотидных растворов;

B – адаптированные или частично адаптированные начальные или последующие молочные смеси на основе коровьего молока;

C – адаптированные или частично адаптированные начальные или последующие молочные смеси на основе сои;

D – гидролизованная молочная смесь для детского питания на основе белка;

1 – цитидин-5'-монофосфат (CMP);

2 – уридин-5'-монофосфат (UMP);

3 – гуанозин-5'-монофосфат (GMP);

4 – инозин-5'-монофосфат (IMP);

5 – тимидин-5'-монофосфат (TMP);

6 – аденозин-5'-монофосфат (AMP).

Рисунок А.1 – Примеры хроматограмм

Приложение В
(информационное)

Точность данных

Данные, приведенные в таблицах В.1 – В.7 были получены в межлабораторных исследованиях и опубликованы в 2015 году [4-5] в соответствии со стандартом ISO 5725-2 [6] и Унифицированным протоколом AOAC-IUPAC для процедур совместного исследования для оценки точности характеристик метода анализа [7]. Исследование оценивалось на основе требований, приведенных в [8].

Более подробная информация о проверке метода размещена на сайте:

gost.e-ecolog.ru

Таблица В.1 – Точность данных для сертифицированного стандартного практического образца NIST 1849a

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Общее количество лабораторий, n	12	12	12	11[a]	12
Общее количество повторений, $2 \cdot n$	24	24	24	22	24
Общее среднее значение всех данных (среднее по совокупности), x , мг/100 г	28,14	11,76	15,07	Н/д	10,87
Среднеквадратическое отклонение повторяемости, S_r, мг/100 г	0,46	0,30	0,38	Н/д	0,22
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, S_R, мг/100 г	1,36	0,59	0,68	Н/д	0,47
Предел повторяемости в SMPR	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	Н/д	≤ 6 %
Коэффициент вариации повторяемости, $C_{V,r}$, %	1,6	2,5	2,5	Н/д	2,1
Предел воспроизводимости в SMPR	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	Н/д	≤ 11 %
Коэффициент вариации воспроизводимости, $C_{V,R}$, %	4,8	5,0	4,5	Н/д	4,4
Значение коэффициента Хорвитца	0,7	0,6	0,6	Н/д	0,6

[a] Менее 2/9 лабораторий были удалены из статистического анализа.
Н/д – Нет данных.

Таблица В.2 – Точность данных для тестового образца безлактозной адаптированной или частично адаптированной начальной или последующей молочной смеси

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Общее количество лабораторий, n	12	12	24	12	12
Общее количество повторений, $2 \cdot n$	24	24	1,45	24	24
Общее среднее значение всех данных (среднее по совокупности), x , мг/100 г	11,42	3,84	0,03	1,65	3,34

Продолжение таблицы В.2

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Среднеквадратическое отклонение повторяемости, S_r, мг/100 г	0.12	0,09	0,04	0,05	0,05
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, S_R, мг/100 г	0,89	0,30	24	0,10	0,09
Предел повторяемости в SMPR	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %
Коэффициент вариации повторяемости, $C_{V,r}$, %	1,1 %	2,4 %	1,8 %	2,8 %	1,4 %
Предел воспроизводимости в SMPR	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %
Коэффициент вариации воспроизводимости, $C_{V,R}$, %	7,8 %	7,9 %	2,8 %	6,1 %	2,7 %
Значение коэффициента Хорвитца	1,0	0,9	0,3	0,6	0,3

Таблица В.10 – Точность данных для тестового образца адаптированной или частично адаптированной начальной или последующей молочной смеси на основе крахмала

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Общее количество лабораторий, n	11[a]	11[a]	11[a]	11[a]	11[a]
Общее количество повторений, $2 \cdot n$	22	22	22	22	22
Общее среднее значение всех данных (среднее по совокупности), $\bar{x}$, мг/100 г	10,99	3,88	1,67	1,66	3,54
Среднеквадратическое отклонение повторяемости, S_r, мг/100 г	0,30	0,21	0,03	0,02	0,08
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, S_R, мг/100 г	0,81	0,31	0,07	0,17	0,11
Предел повторяемости в SMPR	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %
Коэффициент вариации повторяемости, $C_{V,r}$, %	2,7 %	5,4 %	1,6 %	1,4 %	2,1 %
Предел воспроизводимости в SMPR	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %
Коэффициент вариации воспроизводимости, $C_{V,R}$, %	7,4 %	8,4 %	4,2 %	10,3 %	3,0 %
Значение коэффициента Хорвитца	0,9	0,9	0,4	1,0	0,3

[a] Менее 2/9 лабораторий были удалены из статистического анализа.

Таблица В.4 – Точность данных для тестового образца адаптированной или частично адаптированной начальной или последующей молочной смеси на основе гидролизата

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
Общее количество лабораторий, n	12	12	12	11[a]	12
Общее количество повторений, $2 \cdot n$	24	24	24	22	24
Общее среднее значение всех данных (среднее по совокупности), x , мг/100 г	9,72	4,15	1,38	2,46	4,73
Среднеквадратическое отклонение повторяемости, S_r, мг/100 г	0,26	0,13	0,05	0,04	0,19
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, S_R, мг/100 г	0,69	0,36	0,11	0,13	0,30
Предел повторяемости в SMPR	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %
Коэффициент вариации повторяемости, $C_{V,r}$, %	2,7 %	3,1 %	3,9 %	1,8 %	3,9 %
Предел воспроизводимости в SMPR	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %
Коэффициент вариации воспроизводимости, $C_{V,R}$, %	7,1 %	8,7 %	7,7 %	5,5 %	6,2 %
Значение коэффициента Хорвитца	0,9	1,0	0,7	0,6	0,7

[a] Менее 2/9 лабораторий были удалены из статистического анализа.

Таблица В.11 – Точность данных для тестового образца адаптированной или частично адаптированной начальной или последующей молочной смеси на основе сои

Параметр	CMP[a]	UMP[a]	GMP[a]	IMP[a]	AMP[a]
Общее количество лабораторий, n	12	12	12	12	12
Общее количество повторений, $2 \cdot n$	24	24	24	24	24
Общее среднее значение всех данных (среднее по совокупности), x , мг/100 г	0,50	0,19	0,22	0,16	0,54
Среднеквадратическое отклонение повторяемости, S_r, мг/100 г	0,19	0,05	0,05	0,07	0,11
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, S_R, мг/100 г	0,34	0,14	0,18	0,25	0,30
Предел повторяемости в SMPR	≤ 8 %	≤ 10 %	≤ 10 %	≤ 10 %	≤ 8 %
Коэффициент вариации повторяемости, $C_{V,r}$, %	38,5 %	25,0 %	22,9	43,7 %	20,4 %
Предел воспроизводимости в SMPR	≤ 16 %	≤ 20 %	≤ 20 %	≤ 20 %	≤ 16 %
Коэффициент вариации воспроизводимости, $C_{V,R}$, %	67,1 %	72,0 %	82,7 %	156,2 %	55,7 %

Продолжение таблицы В.5

Параметр	CMP[a]	UMP[a]	GMP[a]	IMP[a]	AMP[a]
Значение коэффициента Хорвитца	5,3	5,0	5,8	10,5	4,5

Примечание – Смеси для детского питания на основе сои не были обогащены нуклеотидами и содержали только эндогенные уровни.

[a] Несколько лабораторий сообщили о нулевых результатах для этих исследуемых компонентов, что привело к низкой точности.

Таблица В.6 – Точность данных для тестового образца 1 адаптированной или частично адаптированной начальной или последующей молочной смеси на основе молочной сыворотки

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
	Значение	Значение	Значение	Значение	Значение
Общее количество лабораторий, n	12	12	12	10[a]	12
Общее количество повторений, $2 \cdot n$	24	24	24	18	24
Общее среднее значение всех данных (среднее по совокупности), x , мг/100 г	5,47	3,52	1,05	Н/д	3,51
Среднеквадратическое отклонение повторяемости, S_r, мг/100 г	0,15	0,05	0,02	Н/д	0,06
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, S_R, мг/100 г	0,48	0,31	0,04	Н/д	0,18
Предел повторяемости в SMPR	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	Н/д	≤ 6 %
Коэффициент вариации повторяемости, $C_{V,r}$, %	2,7 %	1,5 %	2,2 %	Н/д	1,7 %
Предел воспроизводимости в SMPR	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	Н/д	≤ 11 %
Коэффициент вариации воспроизводимости, C_{VR}, %	8,7 %	8,8 %	4,1 %	Н/д	5,0 %
Значение коэффициента Хорвитца	1,0	0,9	0,4	Н/д	0,5

[a] Менее 2/9 лабораторий были удалены из статистического анализа.
Н/д – Нет данных.

Таблица В.7 – Точность данных для тестового образца 2 адаптированной или частично адаптированной начальной или последующей молочной смеси на основе молочной сыворотки

Параметр	CMP	UMP	GMP	IMP	AMP
	Значение	Значение	Значение	Значение	Значение
Общее количество лабораторий, n	11[a]	12	11[a]	10[a]	11[a]
Общее количество повторений, $2 \cdot n$	22	24	22	22	22
Общее среднее значение всех данных (среднее по совокупности), x, мг/100 г	5,43	3,54	1,05	Н/д	3,51
Среднеквадратическое отклонение повторяемости, S_r, мг/100 г	0,09	0,11	0,04	Н/д	0,05
Среднеквадратическое отклонение воспроизводимости, S_R, мг/100 г	0,43	0,32	0,05	Н/д	0,15
Предел повторяемости в SMPR	≤ 6 %	≤ 6 %	≤ 6 %	Н/д	≤ 6 %
Коэффициент вариации повторяемости, $C_{V,r}$, %	1,6 %	3,2	3,4 %	Н/д	1,3 %
Предел воспроизводимости в SMPR	≤ 11 %	≤ 11 %	≤ 11 %	Н/д	≤ 11 %
Коэффициент вариации воспроизводимости, $C_{V,R}$, %	7,9 %	9,0 %	5,2 %	Н/д	4,3 %
Значение коэффициента Хорвитца	0,9	1,0	0,5	Н/д	0,5

[a] Менее 2/9 лабораторий были удалены из статистического анализа.
Н/д – Нет данных.

Библиография

[1] Codex Standard 72-1981 Standard for Infant Formula and Formulas for Special Medical Purposes Intended for Infants (Стандарт Кодекса 72-1981 Стандарт на детские и молочные смеси для специальных медицинских целей, предназначенных для детей).

[2] GILL B.D., INDYK H.E., KUMAR M.C., SIEVWRIGHT N.K., MANLEY-HARRIS M.. A liquid chromatographic method for routine analysis of 5′-mononucleotides in pediatric formulas. J. AOAC Int. 2010, 93 pp. 966–973 (Гилл Б.Д., Индык Х.Е., Кумар М.К., Сиврайт Н.К., Мэнли-Харрис М. Метод жидкостной хроматографии для рутинного анализа 5'-мононуклеотидов в смесях для детского питания. J. AOAC Int. 2010, 93 стр. 966-973).

[3] GILL B.D., INDYK H.E., MANLEY-HARRIS M.. Analysis of nucleosides and nucleotides in infant formula by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. 2013, 405 pp. 5311–5319 (Гилл Б.Д., Индык Х.Е., Мэнли-Харрис М. Анализ нуклеозидов и нуклеотидов в смеси для детского питания с помощью жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии. Анал. Бионал. Хим. 2013, 405 стр.5311-5319).

[4] OMA 2011.20, Analysis of Nucleotide 5′-Monophosphates in Infant Formulas by HPLC–UV: Collaborative Study (OMA 2011.20, Анализ 5'-монофосфатных нуклеотидов в смесях для детского питания с помощью HPLC-UV: Совместное исследование).

[5] GILL B.D., INDYK H.E.. Analysis of Nucleotide 5′-Monophosphates in Infant Formulas by HPLCUV: Collaborative Study, Final Action 2011.20. J. AOAC Int. 2015, 98 pp. 971–979 (Гилл Б.Д., Индык Х.Е. Анализ 5'-монофосфатных нуклеотидов в смесях для детского питания с помощью HPLC-UV: Совместное исследование, Окончательная работа 2011.20. J. AOAC Int. 2015, 98 стр. 971-979).

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

[7] AOAC International. AOAC Official Methods Program, Associate Referee's Manual on development, Study, Review, and Approval Process. Part IV AOAC Guidelines for Collaborative Studies, 1995, pp. 23–51. (AOAC INTERNATIONAL. Программа официальных методов AOAC, Руководство ассоциированного судьи по процессу разработки, изучения, рассмотрения и утверждения. Часть IV, Руководство для совместных исследований AOAC, 1995 г., стр. 23-51).

[8] AOAC SMPR 2011.005, Standard Method Performance Requirements for Vitamin B12 in infant formula and Adult/Pediatric Nutritional formula (AOAC SMPR 2011.005, Требования к характеристикам стандартного метода для витамина B12 в смеси для детского питания и взрослых).

[9] СТ РК 2.79–2004 Государственная система обеспечения единства измерений Республики Казахстан. Стандартные образцы состава свойств веществ и материалов зарубежного выпуска. Порядок допуска к применению. Основные положения.

УДК 637.1:543.544.5:006.354 **МКС 67.050** **IDT**

Ключевые слова: смеси для детского питания, мононуклеотиды, нуклеотиды, жидкостная хроматография, хроматограмма

Басуға _____ ж. қол қойылды Пішімі 60х84 1/16
Қағазы офсеттік. Қаріп түрі «KZ Times New Roman»,
«Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана. Тапсырыс ____

«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты»
республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы, Мәңгілік Ел данғылы, 11 үй,
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8 (7172) 27-08-01, 79-34-22

gost.e-ecolog.ru