ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Балалар тағамына және ересектерге арналған қоспалар

СҰЙЫҚТЫҚ ХРОМАТОГРАФИЯСЫ ЖӘНЕ ИМПУЛЬСТІК АМПЕРОМЕТРИЯ АРҚЫЛЫ МИОИНОЗИТ МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ

Смеси для детского питания и взрослых

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИО-ИНОЗИТОЛА С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И ИМПУЛЬСНОЙ АМПЕРОМЕТРИИ

ҚР СТ ISO 20637–2016

(ISO 20637:2015 Infant formula and adult nutritionals – Determination of myo-inositol by liquid chromatography and pulsed amperometry, IDT)

Ресми басылым

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

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Балалар тағамына және ересектерге арналған қоспалар

СҰЙЫҚТЫҚ ХРОМАТОГРАФИЯСЫ ЖӘНЕ ИМПУЛЬСТІК АМПЕРОМЕТРИЯ АРҚЫЛЫ МИОИНОЗИТ МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ

ҚР СТ ISO 20637–2016

(ISO 20637:2015 Infant formula and adult nutritionals – Determination of myo-inositol by liquid chromatography and pulsed amperometry, 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 жөніндегі техникалық комитеті) **ӘЗІРЛЕП ЕНГІЗДІ**

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

3 Осы стандарт ISO 20637:2015 Infant formula and adult nutritionals – Determination of myo-inositol by liquid chromatography and pulsed amperometry (Балалар тағамына және ересектерге арналған қоспалар. Сұйықтық хроматография және импульсті амперометрия көмегімен мио-инозитол 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.

Ресми нұсқа дегеніміз мемлекеттік және орыс тілдеріндегі мәтін 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

Балалар тағамына және ересектерге арналған қоспалар

СҰЙЫҚТЫҚ ХРОМАТОГРАФИЯСЫ ЖӘНЕ ИМПУЛЬСТІК АМПЕРОМЕТРИЯ АРҚЫЛЫ МИОИНОЗИТ МӨЛШЕРІН АНЫҚТАУ

Енгізілген күні 2018-01-01

1 Қолданылу саласы

Осы стандарт ауыстыратын бағаналы импульстік амперометрия мен сұйықтық хроматография көмегімен үлкендер мен балалар тағамына арналған қоспалардағы мио-инозитол (фосфатидилинозитол түрінде байланысқан бос немесе бос плюс) мөлшерін анықтау үшін қолданылатын әдісті белгілейді.

2 Терминдер мен анықтамалар

Осы стандартта тиісті анықтамаларымен бірге мынадай терминдер қолданылады:

2.1 Үлкендерге арналған қоспа (adult nutritional): өзгертілмеген ақуыз қоспасы және қоспасысыз, амин қышқылы мен крахмал, гидролиз ақуыз, сүт іркіті, күріш, соя, сүт қосындысынан дайындалған жалғыз қоректендіру көзі болып табылатын сұйық формада қолданылатын арнайы әзірленген қоректендіргіш заттар бойынша балансталған қоректендіру өнімдері.

2.2 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

Бос мио-инозитол мен фосфатидилмен байланысты мио-инозитол үлгіні дайындаудың екі түрлі процедура көмегімен алынады. Бос мио-инозитол су мен ерітілген тұз қышқылы үлгілерінен алынады. Фосфатидилинозитол хлороформ үлгілерінен алынады және кремний оксидті картридж майынан бөлінеді (қатты фазалы экстракцияға арналған картридж). Мио-инозитол 120 °С температурада шоғырланған сілтілі және тұз қышқылы арқылы глицерин құрылымынан босатылады. Ионды хроматографиялық әдіс импульсті амперометрлік анықтағышы (PAD) және бағандарды ауыстыру арқылы екі түрлі ионмен алмасатын бағандар комбинациясын қолданады. Мио-инозитол мөлшерін мөлшері белгілі сыртқы стандарттармен салыстыру арқылы есептейді.

4 Реагенттер мен заттар

Зерттеу барысында басқасы көрсетілмеген жағдайда тазалықтың баламалы дәрежесіне ие су немесе тазартылған немесе минералданған су және тазалықтың талдамалы дәрежесімен белгілі реагенттерді қолдану қажет.

4.1 Химиялық заттар мен еріткіштер

4.1.1 ACS стандартқа сәйкес келетін мұзды сілтілі қышқыл.

4.1.2 Хлороформ, тазалықтың жоғары дәрежесіне ие, HPLC дәрежесі.

4.1.3 Диэтил эфир, сусыз, HPLC дәрежесі.

4.1.4 Драйерит, десикант, сусыз кальций сульфаты, 8 меш.

4.1.5 Гелий, нөлдік топ немесе балама.

4.1.6 Гексан, HPLC дәрежесі.

4.1.7 Тұз қышқылы, шоғырланған (36 % бастап 38 % дейін), ACS стандартқа сәйкес келеді.

4.1.8 Метафосфор қышқылы, ACS стандартқа сәйкес келеді.

4.1.9 Метанол, HPLC дәрежесі.

4.1.10 Мио-инозитол, алғашқы стандартты үлгі, ресми топтама, құрғатылған күйде сақтау қажет. Стандартты үлгісіздік таңбасына қарау.

4.1.11 Натрий хлориді, ACS стандартқа сәйкес келеді.

4.1.12 Натрий гидроксиді, 50 % (масс./масс.), көмірқышқылды тұздың аз мөлшеріне ие форма.

4.2 Реагенттер мен стандартты ерітінділерді дайындау

4.2.1 Жалпы ережелер.

Ыңғайлылық үшін барлық ерітінділер зертханалық тәжірибе ережелері ұстанған жағдайда үлкен немесе шамалы мөлшерде пайдалану үшін саналады. Ерітінділер суытылған түрде немесе басқасы көрсетілмеген жағдайда инертті заттармен толтырылған герметикалық контейнерлерде қоршаған орта температурасында сақталады.

4.2.2 Мио-инозитолдың бастапқы стандартты ерітіндісі (2000 мг/л шамасында). Мио-инозитолдың 0,100 г дәл өлшендісі алынады және оны 50 мл сыйымдылықтағы өлшегіш жұмыр шыныға мөлшерлеп ауыстырады. Қажетті көлемге дейін сумен ерітеді. Жақсы араластырады. Тоңазытқышта сақтайды. Жарамдылық мерзімі: 3 ай.

4.2.3 Мио-инозитолдың аралық стандартты ерітіндісі (200 мг/л шамасында). 10,0 мл бастапқы стандартты ерітіндіні (5.2.2 қарау) 100 мл дейін сумен ерітеді және жақсы араластырады. Қолданғаннан кейін пайдаланылады.

4.2.4 Калибрлейтін стандартты ерітіндіні дайындау

4.2.4.1 Мио-инозитолдың калибрлейтін жоғарғы деңгейлі ерітінділері, (4,0; 2,0; 1,0; 0,5 мг/л шамасында).

Жеке өлшегіш жұмыр шыныларда мио-инозитолдың 2,0; 1,0 және 0,5 мл аралық стандартты ерітіндісін (5.2.3 қарау) 100 мл дейін сумен ерітеді. Мио-инозитолдың 0,5 мл аралық стандартты ерітіндісін (4.2.3 қарау) 200 мл дейін сумен ерітеді. Жарамдылық мерзімі: 2 апта.

4.2.4.2 Мио-инозитолдың калибрлейтін төменгі деңгейлі ерітінділері (0,20; 0,05 мг/л шамасында).

Жеке өлшегіш жұмыр шыныларда 0,5 мг/л шоғырланған мио-инозитолдың 4 мл және 1 мл калибрлейтін стандартты ерітіндісін 10 мл дейін сумен ерітеді. Жарамдылық мерзімі: 2 апта.

4.2.5 Тұз қышқылы, 0,5 %. 1,25 мл шоғырланған тұз қышқылын 200 мл шамасындағы сумен 250 мл сыйымдылықтағы өлшегіш жұмыр шыныға салады. Сумен қажетті көлемге дейін ерітеді және жақсы араластырады. Жарамдылық мерзімі: 6 ай.

4.2.6 Натрий хлориді, 1 моль/л. 5,8 г натрий хлоридін ерітеді және сумен 100 мл дейін ерітеді. Жарамдылық мерзімі: 1 ай.

4.2.7 Натрий гидроксиді, 0,12 % немесе 30 ммоль (1 сорғы). 50 % натрий гидроксиді ерітіндісінің (4,8 ± 0,1) г дәл өлшендісі 1900 мл шамасында судан тұратын 2000 мл өлшегіш жұмыр шыныға алады. Натрий гидроксиді ауадағы көмірқышқылды газды жұтпауы маңызды. Араластыру үшін жақсылап шайқайды. Сумен қажетті көлемге дейін ерітеді және жақсы араластырады. Жарамдылық мерзімі: 1 ай.

4.2.8 Натрий гидроксиді, 4,0 % немесе 1 моль/л (2 сорғы). 50 % натрий гидроксиді ерітіндісінің (160 ± 3) г дәл өлшендісі 1900 мл шамасында судан тұратын 2000 мл өлшегіш жұмыр шыныға алады. Натрий гидроксиді ауадағы көмірқышқылды газды жұтпауы маңызды. Араластыру үшін жақсылап шайқайды. Сумен қажетті көлемге дейін ерітеді және жақсы араластырады. Жарамдылық мерзімі: 1 ай.

4.2.9 Метафосфорлы қышқыл, 6 %. Метафосфорлы қышқылдың 6,0 г дәл өлшендісін 100 мл сыйымдылықтағы өлшегіш жұмыр шыныға алады. Ерітеді және сумен қажетті деңгейге дейін ерітеді. Жақсы араластырады. Тоңазытқышта сақтайды. Жарамдылық мерзімі: 1 апта.

4.2.10 Фосфатидилинозитол сығынды ерітінділері. Қолданатын күнде жаңадан дайындайды.

4.2.10.1 Хлороформ: метанол (2:1). 60 мл хлороформ мен 30 мл метанол араластырады.

4.2.10.2 Гексан: диэтил эфир (80:20). 80 мл гексан мен 20 мл диэтил эфирді араластырады.

4.2.10.3 Гексан: диэтил эфир (50:50). 50 мл гексан мен 50 мл диэтил эфир араластырады.

4.2.10.4 Метанол: хлороформ:су (75:15:10). 75 мл метанол, 15 мл хлороформ мен 10 млсуды араластырады.

5 Жабдық

Стандартты зертханалық ыдыс пен қондырғы, соның ішінде, мыналар.

5.1 Талдамалы таразылар, минимал жүк көтергіштік 0,0001 г кем емес.

5.2 Центрифуга.

5.3 ГОСТ 25336-82 бойынша эксикатор.

5.4 Сұйық азотты булағыш, су моншасы немесе оның баламасы бар.

5.5 120 °С температураны сақтауға қабілетті пеш.

5.6 *pH*-метр, *pH* 4 және 7 буферлері бар.

5.7 Көп позициялы магнитті бұлғауыш.

5.8 Вакуумды коллектор.

5.9 Соқпа бұлғауыш.

5.10 Түтіктің ішкі диаметрі 0,18 бастап 0,25 мм (0,007 бастап 0,01 дюйм дейін) дейінгі политетрафторэтилен (PTFE) немесе полиэфирэфиркетон (PEEK) және алтын электродты импульстік ампеторметрия детекторы, 6 арналы ауыстырмалы қақпақ, екі изократикалық сорғы, автоматты сынама сұрыптағышты қосқандағы, зең басуға тұрақты құрауыш бөліктерге ие HPLC жүйесі. Автоматты сынама сұрыптағыш, 20 мкл енгізуге қабілетті.

5.11 Бағандар, Dionex CarboPac[1)] MA1 (4 мм × 250 мм) P/N, 44066, MA1 (4 мм × 50 мм) P/N 44067, және PA1 (4 × 50 мм) P/N 43096, немесе балама.

5.12 Мөлшерлеуіштер, түрлі өлшемге ие.

5.13 Центрифуга түтіктер, политетрафторэтиленмен (PTFE) жабылған тығынмен бірге 50 мл.

5.14 Шприцті сүзгілер, полиамид, 0,45 мкм және 0,20 мкм

5.15 Сүзгіш қағаз, ватман қағаз 2V[1)] немесе балама.

5.16 Конустық жұмыр шынылар, 50 мл немесе 125 мл немесе балама.

5.17 Өлшеуіш жұмыр шынылар, түрлі өлшемге ие.

5.18 Сүзгіш қағазбен қолдануға ыңғайлы құйғыштар.

5.19 Тамызғыштар, дәйектелген, түрлі өлшемге ие.

5.20 SPE картридж, кремний оксидті, 1 г[2)].

5.21 100 мм (4 дюйм) ұзындықтағы тот бастпайтын болаттан жасалған түймелі 25 мл газ өткізбейтін шыны сыйымдылық пен 1 мл бір реттік сыйымдылыққа ие шприцтер.

Ескертпе. Шприц көлемі 1 бастап 500 мкл дейінгі автоматты сынама сұрыптағыштар. Шприцті тасымалдау үшін қосымша қондырғы мен 250 және 500 мкл екі шприцті бір уақытта қолдануға болады (мысалы, Аджилент 7693A).

7 Сынақ өткізу

6.1 Бос мио-инозитол

6.1.1 Үлгілерді дайындау

6.1.1.1 Жалпы ережелер

Жабық контейнерлерде 1 °C бастап 8 °C дейінгі температурада тұрақты сақталатын дайындалған үлгілер 5 күн ішінде тұрақты болады. 5 күн өткеннен кейін үлгілерді қайтадан дайындау қажет. Біркелкілікті қамтамасыз ету үшін сұйық үлгілерді жақсылап араластыру қажет. Егер ұнтақ тәріздес үлгінің біркелкілігі белгісіз болса, ұнтақ біркелкі емес екендігі болжанады және 6.1.1.3 тармақта көрсетілген бойынша біркелкі емес ұнтақ тәріздес үлгілер / құрғақ қоспалардан ұнтақ тәріздес үлгілерді дайындау басталады.

6.1.1.2 Сұйық үлгілер

Пайдалануға дайын әр сұйық үлгісінен 0,0001 г дейінгі дәлдікке ие өнімнің (0,50 ± 0,05) бастап (5,0 ± 0,5) г дейінгі дәл өлшенді алынады. Және 100 мл сыйымдылықтағы өлшеуіш жұмыр шыныға ауыстырады.

6.1.1.3 Құрғақ қоспалардан ұнтақ тәріздес үлгілер

Құрғақ қоспалардан / біркелкі емес ұнтақ тәріздес үлгілерден ұнтақ тәріздес үлгілер үшін қолдану жөніндегі нұсқаулықта көрсетілген шараларды ұстану қажет. 0,0001 г дейінгі дәлдікке ие қалпы келтірілген өнімнің 0,5 бастап 5,0 г дейінгі дәл өлшенді алынады. Және 100 мл сыйымдылықтағы өлшеуіш жұмыр шыныға ауыстырады.

6.1.1.4 Сулы қоспалардан ұнтақ тәріздес үлгілер

[1)] Сатылымдағы лайықты өнім мысалы. Осы ақпарат осы стандартты пайдаланушылардың ыңғайлылығы үшін келтірілген және осы өнімнің ISO мақұлданғаны туралы растама болып табылмайды. Балама өнімдер олар сол нәтижеге алып келетіндігі көрсетілген жағдайда қолданыла алады.

[2)] J.T. Baker P/N 7086-07 (gost.e-ecolog.ru) сатылымдағы лайық өнімнің мысалы болып табылады. Осы ақпарат осы стандартты пайдаланушылардың ыңғайлылығы үшін келтірілген және осы өнімнің ISO мақұлданғаны туралы растама болып табылмайды. Балама өнімдер олар сол нәтижеге алып келетіндігі көрсетілген жағдайда қолданыла алады.

Сулы қоспалардан / біркелкі ұнтақ тәріздес үлгілерден ұнтақ тәріздес үлгілер үшін 0,0001 г дейінгі дәлдікке ие ұнтақтың 0,25 бастап 1,50 г дейінгі дәл өлшенді алынады. Және 100 мл сыйымдылықтағы өлшеуіш жұмыр шыныға ауыстырады. Өлшеуіш жұмыр шыныға 10 бастап 15 мл дейін су қосылады және ұнтақ толық ерігенге дейін араластырылады.

6.1.2 Алу

Үлгінің *pH* деңгейін (4,5 ± 0,2) дейін жеткізу үшін әр үлгіге 0,5 % тұз қышқылының (4.2.5 қарау) қажетті мөлшерін қосады және араластыру үшін былғайды.

Үлгілердің 0,5 % хлор-сутелігімен 2 мин реакцияға түсуін қамтамасыз етеді, кейін қажетті көлемге дейін сумен таратады. Жақсылап араластырады. Үлгілерді сүзгіш қағаз арқылы (6.15 қарау) сәйкес шыны ыдыс немесе 125 мл сыйымдылықтағы конустық жұмыр шыныға сүзеді.

Ескертпе – Кейбір үлгілер сүзуден кейін бұлыңғыр болады, сүзілген ерітінділерді қолдануға болады.

Ұсақ тесік өлшемі 0,45 мкм (6.14 қарау) шприцті сүзгі арқылы сүзілген үлгі аликвотасын автоматты сынап сұрыптағыш құтысына сүзеді.

6.2 Фосфатидилинозитол түріндегі байланысқан мио-инозитол

6.2.1 Үлгілерді дайындау

6.2.1.1 Жалпы ережелер

Жабық контейнерлерде 1 °С бастап 8 °С дейінгі температурада тұрақты сақталатын дайындалған үлгілер 5 күн ішінде тұрақты болады. 5 күн өткеннен кейін үлгілерді қайтадан дайындау қажет. Мұқият араластырады және өнімдерді сынама сұрыпталғанға дейін шайқайды. Біркелкілікті қамтамасыз ету үшін сұйық үлгілерді жақсылап араластыру қажет. Егер ұнтақ тәріздес үлгінің біркелкілігі белгісіз болса, ұнтақ біркелкі емес екендігі болжанады және 7.1.1.3 тармақта көрсетілген бойынша біркелкі емес ұнтақ тәріздес үлгілер / құрғақ қоспалардан ұнтақ тәріздес үлгілерді дайындау басталады.

6.2.1.2 Сұйық үлгілер

Пайдалануға дайын әр сұйық үлгісінен өнімнің (4,0 ± 0,4) г дәл өлшендісі 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікке алынады және 0,0001 г дейінгі дәлдікке ие массасы жазылады.

6.2.1.3 Құрғақ қоспалардан ұнтақ тәріздес үлгілер

Құрғақ қоспалардан / біркелкі емес ұнтақ тәріздес үлгілерден ұнтақ тәріздес үлгілер үшін қолдану жөніндегі нұсқаулықта көрсетілген шараларды ұстану қажет. Қалпына келтірілген өнімнің (4,0 ± 0,4) г дәл өлшендісі 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікке алынады. 0,0001 г дейінгі дәлдікке ие массасы жазылады.

6.2.1.4 Сулы қоспалардан ұнтақ тәріздес үлгілер

Сулы қоспалардан / біркелкі ұнтақ тәріздес үлгілерден ұнтақ тәріздес үлгілер үшін ұнтақтың (1,0 ± 0,1) г дәл өлшендісі 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікке алынады және 0,0001 г дейінгі дәлдікке ие массасы жазылады. Центрифуга түтікке 4 мл су қосылады және жақсы араластырылады.

6.2.2 Алу

Сорғыш шкафта әр үлгіге 10 мл метанол қосылады және 20 мин араластырылады немесе 1 мин шайқалады және 20 мин үлгілердің шөгуі қамтамасыз етіледі. 20 мл хлороформ қосылады және 5 мин араластырылады немесе 1 мин шайқалады және 5 мин үлгілердің шөгуі қамтамасыз етіледі. Егер хлороформды қосқан кезде үлкен ұйысқан түзілсе, түтікті жабады және үлгіні араластыру үшін 1 мин жақсылап шайқайды. 5 мл 6 % метафосфорлы қышқыл (4.2.9 қарау) мен 1 моль/л шоғырланған 1 мл NaCl (4.2.6 қарау) қосылады және жақсы араластырылады. Қабаттары бөлінгенге дейін центрифугалайды. Тот баспайын инелі 25 мл сыйымдылықтағы газ өткізбейтін шыны шприц көмегімен (6.21 қарау) хлороформның төменгі қабатын 50 мл сыйымдылықтағы таза центрифуга түтікке

ауыстырады және хлороформды 60 °С температурада су моншасында азотпен буға айналдырады.

6.2.3 Тазарту

Сорғыш шкафта 6 мл гексанның 1 г оксидті SPE картридж кремний (6.20 қарау) өңделеді. Центрифуга түтіктің түбіндегі шөгіндіні 1 мл хлороформ мен метанол қоспасында (2:1) ерітеді. Ерітілген қалдықты өңделген кремний оксидті SPE картриджге мөлшерлі ауыстырады. 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікті 3 мл гексан мен диэтил эфир (80:20) қоспасымен жуады және SPE картриджге ауыстырады. Аластаушыны пайдаға асырады. 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікті 3 мл гексан мен диэтил эфир (50:50) қоспасымен жуады және SPE картриджге ауыстырады. Аластаушыны 50 мл сыйымдылықтағы таза центрифуга түтікке жинайды. 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікті 4 мл метанолмен жуады және SPE картриджге ауыстырады. Аластаушыны сол 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікке жинайды. 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікті 4 мл метанол мен хлороформ, су (75:15:10) қоспасымен жуады және SPE картриджге ауыстырады. Аластаушыны сол 50 мл сыйымдылықтағы центрифуга түтікке жинайды. SPE картриджде жиналған аластаушыны азотпен 60 °С температурада су моншасында буға айналдырады.

6.2.4 Гидролиз

Сорғы шкафта 40 мкл суық сілтілі қышқыл (4.1.1 қарау) мен 2 мл шоғырланған тұз қышқылын (4.1.7 қарау) центрифуга түтіктегі тазарту сатысындағы үлгіден қалған қалдыққа қосады. Түтікті тығыз жабады. Пешті 120 °С температурада 2 сағат ішінде қыздырады. Суытады. 10 мл шамасында су қосады және араластыру үшін шайқайды. 1,25 мл 50 % (масс./масс.) натрий гидроксидін (4.1.12 қарау) қосады. Үлгіні 50 мл сыйымдылықтағы өлшеуіш жұмыр шыныға салады және сумен қажетті көлемге дейін ерітеді. Сүзілген үлгінің аликвотасын 0,45 мкм бос аралы шприцті сүзгі арқылы автоматты сынама сұрыптағыш түтігіне сүзеді.

6.3 HPLC талдау

7.3.1 Аспаптарды пайдалану шарттары

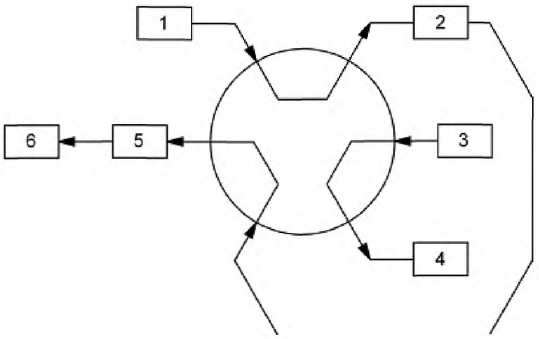
1 сорғы шекті қысым	13790 кПа (шаршы дюймге 2000 фунт)
1 сорғы қозғалмалы фаза	0,12 % (30 ммоль/л) NaOH
1 сорғы ағын жылдамдығы	0,40 мл/мин
2 сорғы шекті қысым	13790 кПа (шаршы дюймге 2000 фунт)
2 сорғы қозғалмалы фаза	4 % (1 моль/л) NaOH
2 сорғы ағын жылдамдығы	0,40 мл/мин
Енгізілетін көлем	20 мкл

Мио-инозитол ұстау уақыты 11 бастап 13 мин дейін

Жұмыс уақыты 25 мин

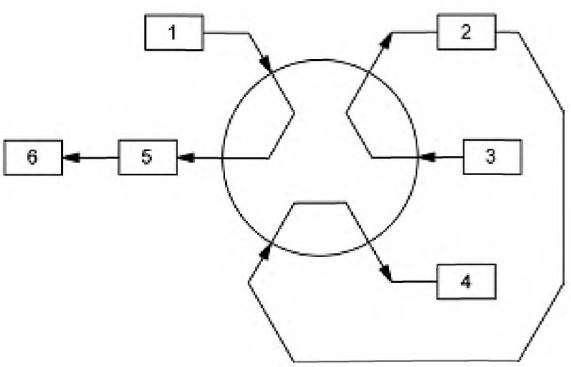
Ауыстырмалы қақпақтың конфигурациялау уақыты:

0,00 мин	1 конфигурация (1-суретті қарау)
1,50 мин	2 конфигурация (2-суретті қарау)
13,50 мин	1 конфигурация (1-суретті қарау)



Шартты белгілеулер:
1 – 1 сорғы;
2 – қорғаныс бағаны PA1;
3 – 2 сорғы;
4 – қалдық;
5 – қорғаныс және талдамалы бағандар MA1;
6 – электрохимиялық детектор.

1-сурет. 1 ауыстырмалы қақпақ конфигурациясы



Шартты белгілеулер:
1 – 1 сорғы
2 – қорғаныс бағаны PA1
3 – 2 сорғы
4 – қалдық
5 – қорғаныс және талдамалы бағандар MA1
6 – электрохимиялық детектор

2-сурет. 2 ауыстырмалы қақпақ конфигурациясы

6.3.2 алтын электродты PAD параметрлері

Сәйкес диапазон: 1 мкКл

Детектор программа: Dionex ICS 3000 немесе ICS 5000[1)]

0,00 с 0,10 В

0,20 с 0,10 В

0,40 с 0,10 В

0,41 с минус 2,00 В

0,42 с минус 2,00 В

0,43 с 0,60 В

0,44 с минус 0,10 В

0,50 с минус 0,10 В

Біріктіру уақыты: 0,20 бастап 0,40 с дейін

Әдеттегі стандартты хроматограмма үлгісі А қосымшасында келтірілген.

6.3.3 Аспаптармен жұмыс істеу бастамасы

Қозғалмалы фазаларды дайындайды. Қажет жағдайда қозғалмалы фазаларды гелиймен бүркиді және / немесе қозғалмалы фазаға арналған ыдысты герметикалайды. Қажет жағдайда жұмыстық алтын электродты тазартады және тегістейді. Детектор қосады және жүйені тепе-теңдікке келтіру үшін 30 мин барысында 0,40 мл/мин ағын жылдамдығында бағана астындағы қозғалмалы фазаны үйіп тастайды. Детектордың талдау алдында тұрақты екендігіне көз жеткізіледі. 20 мкл ең көп шоғырланған стандартты ерітіндіні 5 рет енгізеді және биіктік немесе пик ауданын көрсетеді. Егер жүйе тепе-теңдікте болса, соңғы үш енгізілген стандартты ерітінділердің (RSD) биіктігі немесе пик ауданындағы салыстырмалы стандартты ауытқу 2,0 % болады.

6.3.4 Стандартты ерітінді мен үлгіні талдау

Жүйені тепе-теңдікке келтіргеннен кейін әр шоғырлануда (4.2.4 және 4.2.5 қарау) бір стандартты ерітіндіні енгізеді. Стандартты ерітінділердің жинағын енгізгеннен кейін үлгілер мен қорытынды үлгі стандартты ерітінділердің басқа жинағын енгізу алдында енгізіледі.

6.3.5 Жүйемен жұмысты аяқтау

Барлы үлгілер мен стандартты ерітінділерді талдаудан кейін автоматты сынама сұрыптағыш пен түтіктің инесін тазарту үшін 20 мкл су қосады. Талдамалы бағандарды қозғалмалы фазада сақтайды [0,12 % (30 ммоль/л) натрий гидроксиді]. Электрохимиялық ұяшықты сөндіреді. Сорғылық саптаманы натрий гидроксидін жою үшін сумен шаяды.

7 Есептеу

7.1 Жалпы ережелер

Үлгілердегі мио-инозитол шоғырлануын есептеу алдында стандартты мио-инозитол ерітінділерінің пигін мио-инозитол үлгілерінің пигімен салыстыру және қандай да бір кедергілі байланыстардың жоқтығын және мио-инозитол үлгісінің пик ауданы немесе биіктігі стандартты мио-инозитол ерітіндісінің биіктігі немесе пик ауданы диапазонында орналасқанын растау қажет. Мио-инозитол шоғырлануы осал ажыратымдылық немесе кедергілі байланыстарда есептелмейді. Мио-инозитол ұстау уақыты жеке талдамалы бағанға байланысты 11 бастап 13 мин дейін диапазонда болады.

[1)] Сатылымдағы лайықты өнім мысалы. Осы ақпарат осы стандартты пайдаланушылардың ыңғайлылығы үшін келтірілген және осы өнімнің ISO мақұлданғаны туралы растама болып табылмайды. Балама өнімдер олар сол нәтижеге алып келетіндігі көрсетілген жағдайда қолданыла алады.

7.2 Калибрленген стандартты ерітінділердің шоғырлануы

(1) формуланы қолдану арқылы калибрленген стандартты ерітінділердің шоғырлануы есептеледі:

$$C_W = m \times \frac{1}{0{,}05} \times \frac{1}{10} \times \frac{A_1}{V_1} \cdot \frac{A_2}{V_2} \cdot p = m \times 2 \times \frac{A_1}{V_1} \cdot \frac{A_2}{V_2} \cdot p, \qquad (1)$$

Мұндағы C_W – стандартты калибрлен ерітіндінің шоғырлануы; мг/л;

m – көтерілген стандартты мио-инозитол ерітіндісінің массасы, мг;

0,05 – бастапқы стандартты ерітіндінің сұйылтылған ерітіндісінің көлемі, (4.2.2 қарау), л;

1/10 – аралық сұйылтылған стандартты ерітінді (10 бастап 100 мл дейін);

A_1 – қолданылатын аралық стандартты ерітінді аликвотасы (4.2.4.1 қарау), мл;

V_1 – калибрленген стандартты жоғары деңгейлі ерітіндінің сұйылтылған ерітіндісінің көлемі (4.2.4.1 қарау), мл;

A_2 – қолданылатын калибрленген стандартты жоғары деңгейлі ерітіндінің аликвотасы используемого, қолданылған жағдайда (4.2.4.2 қарау), мл;

V_2 – калибрленген стандартты төменгі деңгейлі ерітіндінің сұйылтылған ерітіндісінің көлемі, қолданылған жағдайда (4.2.4.2 қарау), мл;

p – стандартты ерітіндінің алғашқы затбелгісінен тазалық дәрежесі немесе анықталған тәжірибелік, мг/мг.

7.3 Градустандыруға арналған стандартты ерітінділерді дайындау

Калибрленген стандартты ерітіндінің әр шоғырлануы үшін әр екі жүйелі стандартты ерітінді жинағынан биіктік немесе пик ауданының орташа аумағы шығарылады. Орташаланған пик ауданы немесе биіктікке байланысты шоғырлану бойынша сызықтық ең шамалы квадраттар (кемімелі) әдісімен градустандыруға арналған стандартты ерітінді дайындалады.

7.4 Үлгідегі бос мио-инозитол немесе бос плюс байланған мио-инозитол есептеу

7.4.1 Бос мио-инозитол есептеу

Дайын үлгідегі бос мио-инозитол шоғырлануы 8.3 алынған стандартты ерітіндіден экстраполяцияланады. Ерітілген дайындалған шоғырланған үлгіден өнімнің шоғырлануы (2) формула көмегімен есептеледі:

$$C_f = \frac{C_d \times 100}{m_s}, \qquad (2)$$

мұндағы C_f – өнім үлгісіндегі бос мио-инозитол шоғырлануы, мг/кг;

C_d – дайын үлгідегі бос мио-инозитол шоғырлануы, мг/л;

100 – ерітілген ерітінді көлемі, мл;

m_s – үлгі массасы, г.

7.4.2 Байланған мио-инозитол есептеу

Дайын үлгідегі байланған мио-инозитол шоғырлануы 8.3 алынған стандартты ерітіндіден экстраполяцияланады. Ерітілген дайындалған шоғырланған үлгіден өнімнің шоғырлануы (3) формула көмегімен есептеледі:

$$C_b = \frac{C_d \times 50}{m_s}, \quad (3)$$

мұндағы C_b – өнім үлгісіндегі байланған мио-инозитол шоғырлануы, мг/кг;
C_d – дайын үлгідегі бос мио-инозитол шоғырлануы, мг/л;
50 – ерітілген ерітінді көлемі, мл;
m_s – үлгі массасы, г.

7.4.3 Бос плюс байланған мио-инозитол есептеу

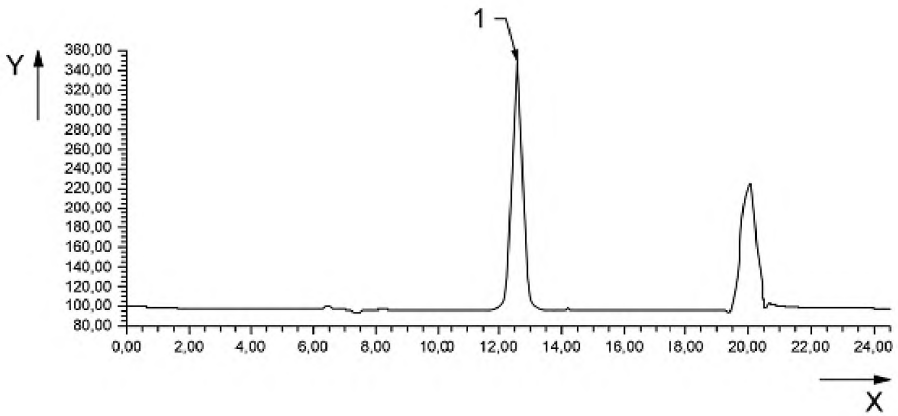
Дайын үлгідегі бос плюс байланған мио-инозитол шоғырлануы (4) формула бойынша есептеледі:

$$C_T = C_f + C_b, \quad (4)$$

мұндағы C_T – өнім үлгісіндегі бос плюс байланған мио-инозитол шоғырлануы, мг/кг.

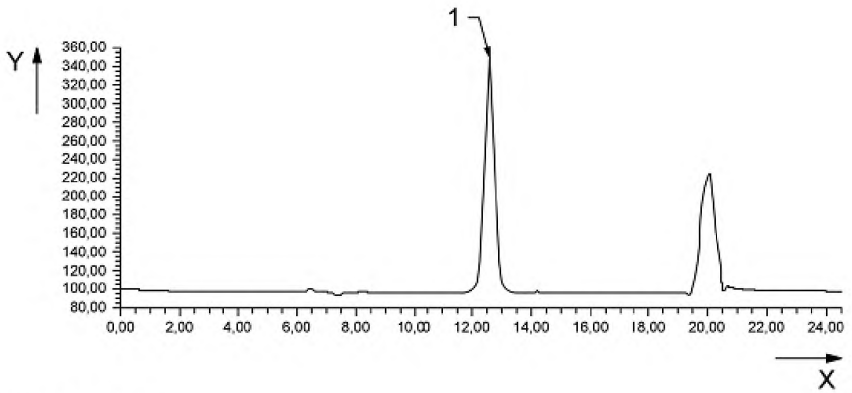
А қосымшасы
(ақпараттық)

Хроматограмма үлгілері



Шартты белгілер
X – уақыт, мин-пен;
Y – туынды бірлік;
1 – мио-инозитол.

А.1 суреті – Стандартты ерітіндінің типтік хроматограммасының үлгісі



Шартты белгілер
X – уақыт, мин-пен;
Y – туынды бірлік;
1 – мио-инозитол.

А.2 суреті SRM 1849a хроматограмма үлгісі

В қосымшасы
(ақпараттық)

Деректер дәлдігі

В.1 – В.3 кестелерде берілген деректер зертхана аралық зерттеулерде алынған және ISO 5725-2 [5] стандартына және талдау әдісінің сипаттамасының дәлдігін бағалау үшін бірлескен зерттеу процедуралары үшін AOAC-IUPAC бірегейленген хаттамасына сәйкес [6] 2015 жылы жарияланды [4]. Зерттеу берілген талаптар негізінде бағаланды [8].

Әдіс балалар тағамы мен ересектерге арналған қоспадағы фосфатидилинозитолдан алынған мио-инозитол мен бос мио-инозитолды сандық анықтау үшін бекітілді. Жаңғыртушылық бірнеше күн орындалатын ұқсас талдаудан анықталды. Дәлдік шығару деңгейі бойынша эксперименттен анықталды (фосфатидилинозитолдан алынған мио-инозитол мен бос мио-инозитол). Аспаптарды табу шегі мен саны стандартты төмен деңгейлі ерітіндіні енгізуден және бос мио-инозитолдың төмен деңгейі бар шын таңдамасынан статистикалық анықталды. Зерттеу [7] берілген талаптар негізінде жүргізілді.

Әдісті тексеру туралы толығырақ ақпарат мына сайтта берілген:

gost.e-ecolog.ru

В.1 кестесі — Байланыспаған (бос) мио-инозитол

Үлгінің типі	Негізгі еместі есепке алмағанда, зертханалардың жалпы саны	Негізгі емес зертханалар саны	Рұқсат етілген қайталаулардың жалпы саны	Орташа мән (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Хорвитц коэффициенті [a]
NIST SRM 1849a	10	0	22	412,00[b]	11,3000	11,400	2,75	2,77	0,43
Соя негізіндегі балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	10	0	22	4,22	0,1270	0,3050	3,03	7,26	0,80
Сүт негізіндегі балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	10	0	20	4,26	0,1680	0,2320	3,95	5,43	0,60
Сүт негізіндегі ТД балалар тағамына арналған қоспа	9	0	20	7,17	0,0950	0,2070	1,33	2,89	0,34
Сүт негізіндегі балалар тағамына арналған ішінара гидролизденген ұнтақ тәрізді қоспа	10	0	22	3,65	0,0350	0,4120	0,97	11,4	1,22
Соя негізіндегі балалар тағамына арналған ішінара гидролизденген ұнтақ тәрізді қоспа	10	0	22	3,11	0,0899	0,3890	2,92	12,61	1,32

В.1 кестесінің жалғасы

Үлгінің типі	Негізгі еместі есепке алмағанда, зертханалардың жалпы саны	Негізгі емес зертханалар саны	Рұқсат етілген қайталаулардың жалпы саны	Орташа мән (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Хорвитц коэффициенті [a]
Балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	10	0	22	5,10	0,1850	0,2460	3,61	4,81	0,54
Балалар тағамына арналған қарапайым ұнтақ тәрізді қоспа	10	0	22	5,10	0,2270	0,3180	4,45	6,24	0,71
Балалар тағамына арналған витаминделмеген, сүт негізіндегі ТД қоспа	9	0	20	3,17	0,0582	0,0910	1,84	2,87	0,30

[a] Дереккөзге сәйкес Хорвитц коэффициентінің мәні [8].
[b] Нәтижелер ұнтақтың мг/кг-мен берілген.
ГУ – тұтынуға дайын.

В.2 кестесі – Фосфатидилинозитол түріндегі байланысқан мио-инозитол

Үлгінің типі	Негізгі еместі есепке алмағанда, зертханалардың жалпы саны	Негізгі емес зертханалар саны	Рұқсат етілген қайталаулардың жалпы саны	Орташа мән (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Хорвитц коэффициенті [a]
NIST SRM 1849a	9	0	20	9,510[b]	1,8200	2,6200	18,7000	26,80	2,36
Соя негізіндегі балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	2,100	0,1500	0,5010	6,9400	23,20	2,30
Сүт негізіндегі балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	18	0,667	0,026 1	0,1720	3,9200	25,90	2,15
Сүт негізіндегі ТД балалар тағамына арналған қоспа	8	0	18	0,348	0,0301	0,0909	8,36	25,20	1,91
Соя негізіндегі балалар тағамына арналған ішінара гидролизденген ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	0,214	0,0103	0,0576	4,72	26,40	1,86

В.2 кестесінің жалғасы

Үлгінің типі	Негізгі еместі есепке алмағанда, зертханалардың жалпы саны	Негізгі емес зертханалар саны	Рұқсат етілген қайталаулардың жалпы саны	Орташа мән (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Хорвитц коэффициенті [a]
Соя негізіндегі балалар тағамына арналған ішінара гидролизденген ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	1,640	0,0936	0,3580	5,53	21,10	2,02
Балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	0,328	0,0234	0,0878	6,89	25,80	1,94
Балалар тағамына арналған қарапайым ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	0,000	0,0000	0,0000	0,00	0,00	0,00
Балалар тағамына арналған витаминделмеген, сүт негізіндегі ТД қоспа	8	0	18	0,305	0,0244	0,0850	7,71	26,90	2,00

[a] Дереккөзге сәйкес Хорвитц коэффициентінің мәні [8].
[b] Нәтижелер ұнтақтың мг/кг-мен берілген.
ГУ – тұтынуға дайын.

В.3 кестесі– Фосфатидилинозитол түріндегі байланысқан мио-инозитол плюс байланыспаған (бос) мио-инозитол

Үлгінің типі	Негізгі еместі есепке алмағанда, зертханалардың жалпы саны	Негізгі емес зертханалар саны	Рұқсат етілген қайталаулардың жалпы саны	Орташа мән (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Хорвитц коэффициенті [a]
NIST SRM 1849a	9	0	20	422,00[b]	11,9000	11,900	2,83	2,83	0,44
Соя негізіндегі балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	6,27	0,1470	0,446	2,32	7,05	0,82
Сүт негізіндегі балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	18	4,92	0,1840	0,314	3,74	6,38	0,72
Сүт негізіндегі ТД балалар тағамына арналған қоспа	8	0	18	7,50	0,1060	0,218	1,41	2,90	0,35

В.3 кестесінің жалғасы

Үлгінің типі	Негізгі еместі есепке алмағанда, зертханалардың жалпы саны	Негізгі емес зертханалар саны	Рұқсат етілген қайталаулардың жалпы саны	Орташа мән (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Хорвитц коэффициенті [a]
Сүт негізіндегі балалар тағамына арналған ішінара гидролизденген ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	3,84	0,0350	0,426	0,91	11,20	1,21
Соя негізіндегі балалар тағамына арналған ішінара гидролизденген ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	4,71	0,1520	0,357	3,22	7,55	0,84
Балалар тағамына арналған ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	5,42	0,2030	0,307	3,73	5,63	0,64
Балалар тағамына арналған қарапайым ұнтақ тәрізді қоспа	9	0	20	5,08	0,2370	0,324	4,67	6,40	0,72
Балалар тағамына арналған витаминделмеген, сүт негізіндегі ТД қоспа	8	0	18	3,46	0,0659	0,128	1,90	3,70	0,39

[a] Дереккөзге сәйкес Хорвитц коэффициентінің мәні [8].
[b] Нәтижелер ұнтақтың мг/кг-мен берілген.
ГУ – тұтынуға дайын.

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] J. AOAC Int. 2012, 95 p. 937 J. AOAC Int. 2012, 95 937-бет.

[3] J. AOAC Int. 2012, 95 p. 295 J. AOAC Int. 2012, 95 295-бет.

[4] 2011.18, Determination of Myo-Inositol in Infant, Pediatric, and Adult Formulas by IC-PAD and Column Switching: Collaborative Study 2011.18, Ионды хроматография, импульсті амперометрлік ақаутапқы және бағандарды ауыстырып-қосу көмегімен балалар тағамына және ересектерге арналған қоспадағы мио-инозитол мөлшерін анықтау. Бірлескен зерттеу).

[5] 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).

[6] 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).

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

[8] Thompson M. Recent Trends in Inter-Laboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing. Analyst (Lond.). 2000, 125 pp. 385–386 (М. ТОМПСОН. Бағалау сынақтарында алға қойылған мақсатты орындау үшін қабылдауға лайықтылық критерийлеріне қатысты миллиардқа бір бөліктен төмен және миллиардқа бөлшектер шоғырлануы кезінде зертханааралық дәлдіктегі соңғы даму қарқыны. Аналитик (Лонд.). 2000 ж., 125-бет. 385-386).

ӘОЖ 637.1:543.544.5:006:354 **МСЖ 67.050**

Түйін сөздер: балалар тағамына арналған қоспа, ересектерге арналған қоспа, мио-инозитол, сұйықтық хроматография, импульсті амперометрия

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Смеси для детского питания и взрослых

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИО-ИНОЗИТОЛА С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И ИМПУЛЬСНОЙ АМПЕРОМЕТРИИ

СТ РК ISO 20637–2016

(ISO 20637:2015 Infant formula and adult nutritionals – Determination of myo-inositol by liquid chromatography and pulsed amperometry, 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 20637:2015 *Infant formula and adult nutritionals – Determination of myo-inositol by liquid chromatography and pulsed amperometry* (Смеси для детского питания и взрослых. Определение содержания мио-инозитола с помощью жидкостной хроматографии и испульсной амперометрии)

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 и взрослых

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МИО-ИНОЗИТОЛА С ПОМОЩЬЮ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И ИМПУЛЬСНОЙ АМПЕРОМЕТРИИ

Дата введения 2018-01-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод, используемый для определения содержания мио-инозитола (свободного или свободного плюс связанного в виде фосфатидилинозитола) в смесях для детского питания и взрослых с помощью жидкостной хроматографии и импульсной амперометрии с переключающимися колонками.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применяются следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 Смесь для взрослых (adult nutritional): Сбалансированные по питательным веществам, специально разработанные продукты питания, потребляемые в жидкой форме, которые могут представлять собой единственный источник питания, изготовленный из сочетания молока, сои, риса, молочной сыворотки, гидролизованного белка, крахмала и аминокислот, с добавлением и без добавления немодифицированного белка

2.2 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

Свободный мио-инозитол и связанный с фосфатидилом мио-инозитол извлекаются с помощью двух различных процедур подготовки образца. Свободный мио-инозитол извлекается из образцов разбавленной соляной кислотой и водой. Фосфатидилинозитол извлекается из образцов хлороформом и отделяется от жиров кремнийоксидными SPE картриджи (картриджи для твердофазной экстракции). Мио-инозитол высвобождается из глицериновой структуры с помощью концентрированной уксусной и соляной кислоты при температуре 120 °С. Ионохроматографический метод использует комбинацию двух разных ионообменных колонок с переключением колонок и импульсным амперометрическим детектированием (PAD). Концентрация мио-инозитола рассчитывается путем сравнения с внешними стандартами с известной концентрацией.

4 Реагенты и вещества

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

4.1 Химические вещества и растворители

4.1.1 Ледяная уксусная кислота, соответствующая стандарту ACS.

4.1.2 Хлороформ, высокой степени чистоты, степень HPLC.

4.1.3 Диэтиловый эфир, безводный, степень HPLC.

4.1.4 Драйерит, десиккант, безводный сульфат кальция, 8 меш.

4.1.5 Гелий, нулевой группы или эквивалент.

4.1.6 Гексан, степень HPLC.

4.1.7 Соляная кислота, концентрированная (от 36 % до 38 %), соответствующая стандарту ACS.

4.1.8 Метафосфорная кислота, соответствующая стандарту ACS.

4.1.9 Метанол, степень HPLC.

4.1.10 Мио-инозитол, первичный стандартный образец, официальная партия, необходимо хранить высушенным. См. стандартную метку на беспримесность.

4.1.11 Хлорид натрия, соответствующий стандарту ACS.

4.1.12 Гидроксид натрия, 50 % (масс./масс.), форма с низким содержанием углекислой соли.

4.2 Приготовление реагентов и стандартных растворов

4.2.1 Общие положения. Для удобства все растворы пересчитывают для использования в большем или меньшем количестве при условии соблюдения правил лабораторной практики. Растворы могут храниться в охлажденном виде или при температуре окружающей среды в герметичных контейнерах, наполненных инертными веществами, если не указано иное.

4.2.2 Исходный стандартный раствор мио-инозитола (примерно 2000 мг/л). Взять точную навеску 0,100 г мио-инозитола и количественно переместить его в мерную колбу вместимостью 50 мл. Разбавить водой до нужного объема. Хорошо перемешать. Хранить в холодильнике. Срок годности: 3 месяца.

4.2.3 Промежуточный стандартный раствор мио-инозитола (примерно 200 мг/л). Развести 10,0 мл исходного стандартного раствора (см. 4.2.2) водой до 100 мл и хорошо перемешать. Утилизировать после использования.

4.2.4 Приготовление калибровочных стандартных растворов

4.2.4.1 Калибровочные высокоуровневые стандартные растворы мио-инозитола, (примерно 4,0; 2,0; 1,0; 0,5 мг/л).

В отдельных мерных колбах развести 2,0; 1,0 и 0,5 мл промежуточного стандартного раствора мио-инозитола (см. 4.2.3) водой до 100 мл. Развести 0,5 мл промежуточного стандартного раствора мио-инозитола (см. 4.2.3) водой до 200 мл. Срок годности: 2 недели.

4.2.4.2 Калибровочные низкоуровневые стандартные растворы мио-инозитола, (примерно 0,20; 0,05 мг/л).

В отдельных мерных колбах развести 4 мл и 1 мл калибровочного стандартного раствора мио-инозитола концентрацией 0,5 мг/л водой до 10 мл. Срок годности: 2 недели.

4.2.5 Соляная кислота, 0,5 %. Поместить 1,25 мл концентрированной соляной кислоты к приблизительно 200 мл воды в мерную колбу вместимостью 250 мл. Развести водой до нужного объема и хорошо перемешать. Срок годности: 6 месяцев.

4.2.6 Хлорид натрия, 1 моль/л. Растворить 5,8 г хлорида натрия и развести водой до 100 мл. Срок годности: 1 месяц.

4.2.7 Гидроксид натрия, 0,12 % или 30 ммоль (Помпа 1). Взять точную навеску (4,8 ± 0,1) г 50 %-ного раствора гидроксида натрия в мерную колбу вместимостью 2000 мл, содержащую около 1900 мл воды. Важно, чтобы гидроксид натрия не поглотил углекислый газ из воздуха. Хорошо взболтнуть для перемешивания. Развести водой до нужного объема и хорошо перемешать. Срок годности: 1 месяц.

4.2.8 Гидроксид натрия, 4,0 % или 1 моль/л (Помпа 2). Взять точную навеску (160 ± 3) г 50 %-ного раствора гидроксида натрия в мерную колбу вместимостью 2000 мл, содержащую около 1900 мл воды. Важно, чтобы гидроксид натрия не поглотил углекислый газ из воздуха. Хорошо взболтнуть для перемешивания. Развести водой до нужного объема и хорошо перемешать. Срок годности: 1 месяц.

4.2.9 Метафосфорная кислота, 6 %. Взять точную навеску 6,0 г метафосфорной кислоты в мерную колбу вместимостью 100 мл. Растворить и развести водой до нужного объема. Хорошо перемешать. Хранить в холодильнике. Срок годности: 1 неделя.

4.2.10 Экстрактные растворы фосфатидилинозитола. Готовить свежими в день использования.

4.2.10.1 Хлороформ: метанол (2:1). Смешать 60 мл хлороформа и 30 мл метанола.

4.2.10.2 Гексан: диэтиловый эфир (80:20). Смешать 80 мл гексана и 20 мл диэтилового эфира.

4.2.10.3 Гексан: диэтиловый эфир (50:50). Смешать 50 мл гексана и 50 мл диэтилового эфира.

4.2.10.4 Метанол: хлороформ:вода (75:15:10). Смешать 75 мл метанола, 15 мл хлороформа и 10 мл воды.

5 Оборудование

Стандартная лабораторная посуда и оборудование, а именно, следующее.

5.1 Аналитические весы, минимальная грузоподъемность не менее 0,0001 г.

5.2 Центрифуга.

5.3 Эксикатор по [9].

5.4 Испаритель жидкого азота, с водяной баней или его эквивалент.

5.5 Печь, способная поддерживать температуру 120 °С.

5.6 *pH*-метр, с буферами *pH* 4 и 7.

5.7 Многопозиционная магнитная мешалка.

5.8 Вакуумный коллектор.

5.9 Вихревая мешалка.

5.10 Система HPLC, с коррозионно-устойчивыми компонентами, включая автоматический пробоотборник, два изократических насоса, 6-канальный переключающий клапан, детектор импульсной амперометрии с золотым электродом и полиэфирэфиркетон (PEEK) или политетрафторэтилен (PTFE) с внутренним диаметром трубки от 0,18 до 0,25 мм (0,007 до 0,01 дюйма). Автоматический пробоотборник, способный вводить 20 мкл.

5.11 Колонки, Dionex CarboPac[1)] MA1 (4 мм × 250 мм) P/N, 44066, MA1 (4 мм × 50 мм) P/N 44067, и PA1 (4 × 50 мм) P/N 43096, или эквивалент.

5.12 Мензурки, различных размеров.

[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.

5.13 Центрифужные пробирки, 50 мл с пробками, покрытыми политетрафторэтиленом (PTFE).

5.14 Шприцевые фильтры, полиамидные, 0,45 мкм и 0,20 мкм

5.15 Фильтровальная бумага, ватманская бумага 2V[1)] или эквивалент.

5.16 Конические колбы, 50 мл или 125 мл, или эквивалент.

5.17 Мерные колбы, различных размеров.

5.18 Воронки, подходящие для использования с фильтровальной бумагой.

5.19 Пипетки, градуированные, различных размеров.

5.20 SPE картридж, кремнийоксидный, 1 г[2)].

5.21 Шприцы, одноразовые вместимостью 1 мл и газонепроницаемые стеклянные вместимостью 25 мл с иглами из нержавеющей стали длиной 100 мм (4 дюйма).

Примечание – Автоматический пробоотборник с размером шприца от 1 до 500 мкл. Возможно использование одновременное использование двух шприцев 250 и 500 мкл с дополнительным устройством для транспортировки шприца (например, Аджилент 7693А).

6 Проведение испытания

6.1 Свободный мио-инозитол

6.1.1 Подготовка образцов

6.1.1.1 Общие положения

Приготовленные образцы, которые постоянно хранятся при температуре от 1 °С до 8 °С в закрытых контейнерах, стабильны в течение 5 дней. По истечении 5 дней образцы необходимо приготовить снова. Необходимо хорошо смешать жидкие образцы для обеспечения однородности. Если однородность порошкообразного образца неизвестна, предполагается, что порошок не является однородным и приступить к приготовлению порошкообразных образцов из сухих смесей/неоднородных порошкообразных образцов, как указано в 5.1.1.3..

6.1.1.2 Жидкие образцы

Для готовых к употреблению каждого из жидких образцов взять точные навески от (0,50 ± 0,05) до (5,0 ± 0,5) г продукта с точностью до 0,0001 г. И перенести в мерную колбу вместимостью 100 мл.

6.1.1.3 Порошкообразные образцы из сухих смесей

Для порошкообразных образцов из сухих смесей/неоднородных порошкообразных образцов необходимо придерживаться действий, указанных в инструкции по применению. Взять точные навески от 0,5 до 5,0 г восстановленного продукта с точностью до 0,0001 г. И перенести в мерные колбы вместимостью 100 мл.

6.1.1.4 Порошкообразные образцы из водных смесей

Для порошкообразных образцов из водных смесей/однородных порошкообразных образцов взять точные навески от 0,25 до 1,50 г порошка с точностью до 0,0001 г. И перенести в мерную колбу вместимостью 100 мл. В мерную колбу добавить от 10 до 15 мл воды и перемешать до полного растворения порошка.

[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.

[2)] J.T. Baker P/N 7086-07 (gost.e-ecolog.ru) является примером 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.

6.1.2 Извлечение

Добавить достаточное количество 0,5 %-ной соляной кислоты (см. 5.2.5) к каждому образцу, чтобы довести уровень *pH* образца до (4,5 ± 0,2) и взболтать для перемешивания.

Обеспечить вступление образцов в реакцию с 0,5 %-ной хлористоводородной кислотой не менее 2 мин, после этого развести водой до нужного объема. Хорошо перемешать. Отфильтровать образцы через фильтровальную бумагу (см. 5.15) в конические колбы вместимостью 125 мл или в соответствующую стеклянную посуду.

Примечание – Некоторые образцы будут мутными после фильтрации, отфильтрованные растворы можно использовать.

Отфильтровать аликвоту отфильтрованного образца через шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм (см. 5.14) во флакон автоматического пробоотборника.

6.2 Связанный мио-инозитол в виде фосфатидилинозитола

6.2.1 Подготовка образцов

6.2.1.1 Общие положения

Приготовленные образцы, которые постоянно хранятся при температуре от 1 °С до 8 °С в закрытых контейнерах, стабильны в течение 5 дней. По истечении 5 дней образцы необходимо приготовить снова. Тщательно перемешать или взболтать продукты до отбора проб. Хорошо смешать жидкие образцы для обеспечения однородности. Если однородность порошкообразного образца неизвестна, предполагается, что порошок не является однородным и приступить к приготовлению порошкообразных образцов из сухих смесей/неоднородных порошкообразных образцов, как указано в 6.1.1.3.

6.2.1.2 Жидкие образцы

Для готовых к употреблению жидких образцов взять точные навески (4,0 ± 0,4) г продукта в центрифужную пробирку вместимостью 50 мл и записать массу с точностью до 0,0001 г.

6.2.1.3 Порошкообразные образцы из сухих смесей

Для порошкообразных образцов из сухих смесей/неоднородных порошкообразных образцов необходимо придерживаться действий, указанных в инструкции по применению. Взять точные навески (4,0 ± 0,4) г восстановленного продукта в центрифужную пробирку вместимостью 50 мл. Записать массу с точностью до 0,0001 г.

6.2.1.4 Порошкообразные образцы из водных смесей

Для порошкообразных образцов из водных смесей взять точные навески (1,0 ± 0,1) г порошка в центрифужную пробирку вместимостью 50 мл и записать массу с точностью до 0,0001 г. Добавить 4 мл воды в центрифужную пробирку и хорошо перемешать.

6.2.2 Извлечение

В вытяжном шкафу добавить 10 мл метанола к каждому образцу и перемешивать не менее 20 мин или взбалтывать не менее 1 мин и обеспечить оседание образцов не менее 20 мин. Добавить 20 мл хлороформа и перемешивать не менее 5 мин или взбалтывать не менее 1 мин и обеспечить оседание образцов не менее 5 мин. Если при добавлении хлороформа образуются большие сгустки, закрыть пробирку и хорошо взбалтывать не менее 1 мин для смешивания образца. Добавить 5 мл 6 %-ной метафосфорной кислоты (см. 4.2.9) и 1 мл NaCl (см. 4.2.6) концентрацией 1 моль/л и хорошо перемешать. Центрифугировать, пока слои не разделятся. С помощью газонепроницаемого стеклянного шприца вместимостью 25 мл с иглой из нержавеющей стали (см. 6.21) переместить нижний слой хлороформа в чистую центрифужную пробирку вместимостью 50 мл и испарить хлороформ азотом на водяной бане при температуре 60 °С.

6.2.3 Очистка

В вытяжном шкафу обработать 1 г кремнийоксидного SPE картриджа (см. 5.20) 6 мл гексана. Растворить остаток в нижней части центрифужной пробирки в 1 мл смеси из

хлороформа и метанола (2:1). Количественно переместить растворенный остаток в обработанный кремнийоксидный SPE картридж. Промыть центрифужную пробирку вместимостью 50 мл 3 мл смеси из гексана и диэтилового эфира (80:20) и переместить в SPE картридж. Утилизировать элюент. Промыть центрифужную пробирку вместимостью 50 мл 3 мл смеси из гексана и диэтилового эфира (50:50) и переместить в SPE картридж. Собрать элюент в чистую центрифужную пробирку вместимостью 50 мл. Промыть центрифужную пробирку вместимостью 50 мл 4 мл метанола и переместить в SPE картридж. Собрать элюент в ту же центрифужную пробирку вместимостью 50 мл. Промыть центрифужную пробирку вместимостью 50 мл 4 мл смеси из метанола, хлороформа и воды (75:15:10) и переместить в SPE картридж. Собрать элюент в ту же центрифужную пробирку вместимостью 50 мл. Испарить элюенты, собранные из SPE картриджа азотом на водяной бане при температуре 60 °С.

6.2.4 Гидролиз

В вытяжном шкафу добавить 40 мкл ледяной уксусной кислоты (см. 4.1.1) и 2 мл концентрированной соляной кислоты (см. 4.1.7) к остатку из образца с этапа очистки в центрифужной пробирке. Плотно закрыть пробирку. Нагревать в печи при температуре 120 °С в течение 2 ч. Охладить. Добавить примерно 10 мл воды и взболтать, чтобы перемешать. Добавить 1,25 мл 50 %-ного (масс./масс.) гидроксида натрия (см. 4.1.12). Переместить образец в мерную колбу вместимостью 50 мл и развести водой до нужного объема. Отфильтровать аликвоту отфильтрованного образца через шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм в трубку автоматического пробоотборника.

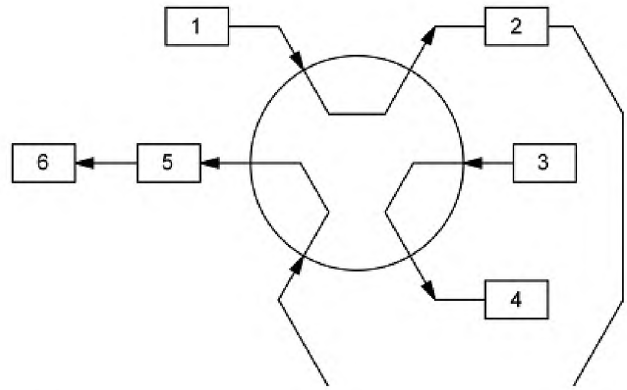
6.3 Анализ HPLC

6.3.1 Условия эксплуатации приборов

Насос 1 предельное давление	13790 кПа (2000 фунтов на квадратный дюйм)
Насос 1 подвижная фаза	0,12 % (30 ммоль/л) NaOH
Насос 1 скорость потока	0,40 мл/мин
Насос 2 предельное давление	13790 кПа (2 000 фунтов на квадратный дюйм)
Насос 2 подвижная фаза	4 % (1 моль/л) NaOH
Насос 2 скорость потока	0,40 мл/мин
Вводимый объем	20 мкл
Время удерживания мио-инозитола	от 11 до 13 мин
Время работы	25 мин

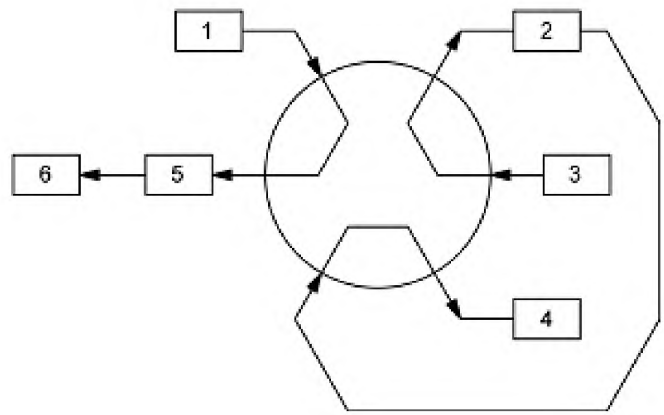
Время конфигурирования переключающего клапана:

0,00 мин	Конфигурация 1 (см. рисунок 1)
1,50 мин	Конфигурация 2 (см. рисунок 2)
13,50 мин	Конфигурация 1 (см. рисунок 1)



Условные обозначения:
1 – насос 1;
2 – защитная колонка PA1;
3 – насос 2;
4 – остаток;
5 – защитные и аналитические колонки MA1;
6 – электрохимический детектор.

Рисунок 1 – Конфигурация переключающего клапана 1



Условные обозначения:
1 – насос 1
2 – защитная колонка PA1
3 – насос 2
4 – остаток
5 – защитные и аналитические колонки MA1
6 – электрохимический детектор

Рисунок 2 – Конфигурация переключающего клапана 2

6.3.2 Параметры PAD с золотым электродом

Аналоговый диапазон: 1 мкКл

Детекторная программа: Dionex ICS 3000 или ICS 5000[1)]

0,00 с 0,10 В
0,20 с 0,10 В
0,40 с 0,10 В
0,41 с минус 2,00 В
0,42 с минус 2,00 В
0,43 с 0,60 В
0,44 с минус 0,10 В
0,50 с минус 0,10 В

Время интеграции: от 0,20 до 0,40 с

Примеры типичных стандартных хроматограмм приведены в приложении А.

6.3.3 Начало работы с приборами

Подготовить подвижные фазы. При необходимости, обрызгать гелием подвижные фазы и/или герметизировать емкости для подвижной фазы. При необходимости очистить и отшлифовать рабочий золотой электрод. Включить детектор и накачивать подвижную фазу над колонками при скорости потока 0,40 мл/мин в течение не менее 30 мин для приведения системы в равновесие. Убедиться в том, что детектор стабилен перед началом анализа. Ввести 20 мкл наиболее концентрированного стандартного раствора не менее 5 раз и отметить площади пиков или высоту. Если система находится в равновесии, относительное стандартное отклонение (RSD) площадей пиков или высоты последних трех введений стандартного раствора составляет не более 2,0 %.

6.3.4 Анализ стандартного раствора и образца

После приведения системы в равновесие ввести один стандартный раствор при каждой концентрации (см. 4.2.4 и 4.2.5). После введения комплекса стандартных растворов образцы и контрольный образец могут быть введены перед введением другого комплекса стандартных растворов.

6.3.5 Завершение работы с системой

После анализа всех образцов и стандартных растворов ввести 20 мкл воды, чтобы очистить иглу автоматического пробоотборника и трубку. Хранить аналитические колонки в подвижной фазе [0,12 % (30 ммоль/л) гидроксида натрия]. Выключить электрохимическую ячейку. Промыть насосные насадки водой, чтобы удалить гидроксид натрия.

7 Вычисление

7.1 Общие положения

Перед вычислением концентрации мио-инозитола в образцах необходимо сравнить пики стандартных растворов мио-инозитола с пиками образцов мио-инозитола и подтвердить отсутствие каких-либо препятствующих соединений и то, что площади пиков образцов мио-инозитола или высоты находятся в диапазоне площадей пиков или высот стандартных растворов мио-инозитола. Концентрация мио-инозитола не может быть вычислена при наличии мешающих соединений или при слабом разрешении. Время

[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.

удерживания мио-инозитола находится в диапазоне примерно от 11 до 13 мин в зависимости от отдельной аналитической колонки.

7.2 Концентрация калибровочных стандартных растворов

Вычислить концентрацию калибровочных стандартных растворов, используя формулу (1):

$$C_W = m \cdot \frac{1}{0{,}05} \cdot \frac{1}{10} \cdot \frac{A_1}{V_1} \cdot \frac{A_2}{V_2} \cdot p = m \cdot 2 \cdot \frac{A_1}{V_1} \cdot \frac{A_2}{V_2} \cdot p, \quad (1)$$

Где C_W – концентрация стандартного калибровочного раствора; мг/л;
m – масса, взвешенного стандартного раствора мио-инозитола, мг;
0,05 – объем разбавленного раствора исходного стандартного раствора, (см. 5.2.2), л;
1/10 – промежуточный разбавленный стандартный раствор (от 10 до 100 мл);
A_1 – аликвота используемого промежуточного стандартного раствора (см. 5.2.4.1), мл;
V_1 – объем разбавленного раствора калибровочного стандартного высокоуровневого раствора (см. 4.2.4.1), мл;
A_2 – аликвота используемого калибровочного стандартного высокоуровневого раствора, если применима (см. 4.2.4.2), мл;
V_2 – объем разбавленного раствора калибровочного стандартного низкоуровневого раствора, если применим (см. 4.2.4.2), мл;
p – степень чистоты из первичной этикетки стандартного раствора или определенная экспериментально, мг/мг.

7.3 Приготовление стандартных растворов для градуировки

Для каждой концентрации калибровочного стандартного раствора вывести среднюю величину площадей пиков или высот из каждых двух последовательных наборов стандартных растворов. Приготовить стандартный раствор для градуировки с помощью метода линейных наименьших квадратов (регрессии) по концентрации в зависимости от усредненных площадей пиков или высот.

7.4 Вычисление свободного или свободного плюс связанного мио-инозитола в образцах

7.4.1 Вычисление свободного мио-инозитола

Концентрация свободного мио-инозитола в приготовленном образце экстраполируется из стандартного раствора, полученного в 7.3. Из разбавленного, приготовленного концентрированного образца концентрация продукта может быть вычислена с помощью формулы (2):

$$C_f = \frac{C_d \cdot 100}{m_s}, \quad (2)$$

где C_f – концентрация свободного мио-инозитола в образце продукта, мг/кг;
C_d – концентрация мио-инозитола в приготовленном образце, мг/л;
100 – объем разбавленного раствора, мл;
m_s – масса образца, г.

7.4.2 Вычисление связанного мио-инозитола

Концентрация связанного мио-инозитола в приготовленном образце экстраполируется из стандартного раствора, полученного в 7.3. Из разбавленного, приготовленного концентрированного образца концентрация продукта может быть вычислена с помощью формулы (3):

$$C_b = \frac{C_d \cdot 50}{m_s}, \quad (3)$$

где C_b – концентрация связанного мио-инозитола в образце продукта, мг/кг;
C_d – концентрация мио-инозитола в приготовленном образце, мг/л;
50 – объем разбавленного раствора, мл;
m_s – масса образца, г.

7.4.3 Вычисление свободного плюс связанного мио-инозитола

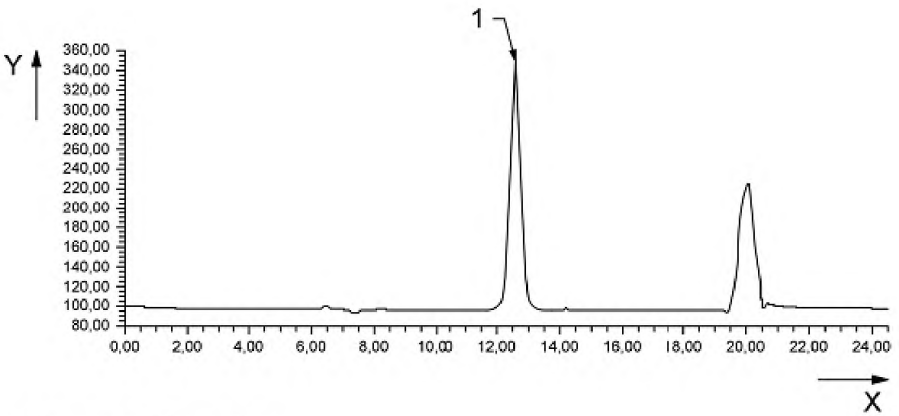
Концентрация свободного плюс связанного мио-инозитола в приготовленном образце рассчитывается по формуле (4):

$$C_T = C_f + C_b, \quad (4)$$

где C_T – концентрация свободного плюс связанного мио-инозитола в образце продукта, мг/кг.

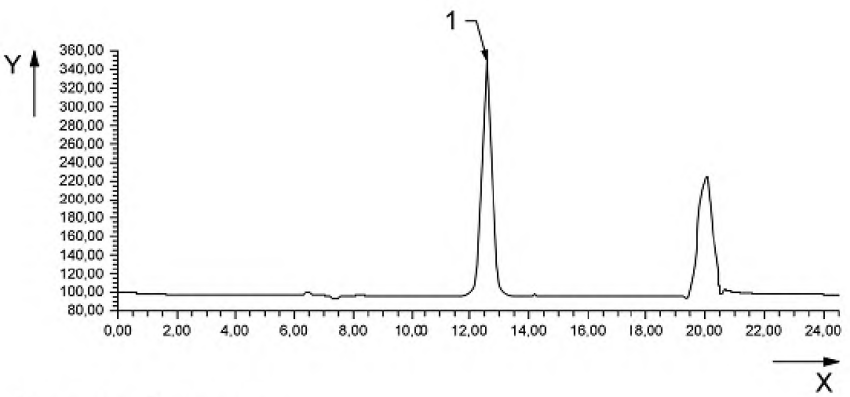
Приложение А
(информационное)

Примеры хроматограмм



Условные обозначения
X – время, в мин;
Y – произвольные единицы;
1 – мио-инозитол.

Рисунок А.1 – Пример типичной хроматограммы стандартного раствора



Условные обозначения
X – время, в мин;
Y – произвольные единицы;
1 – мио-инозитол.

Рисунок А.2 – Пример хроматограммы SRM 1849a

Приложение В
(информационное)

Точность данных

Данные, приведенные в таблицах В.1 – В.3, были получены в межлабораторных исследованиях и опубликованы в 2015 году [4] в соответствии со стандартом ISO 5725-2 [5] и Унифицированным протоколом AOAC-IUPAC для процедур совместного исследования для оценки точности характеристик метода анализа [6]. Метод был утвержден для количественного определения свободного мио-инозитол и мио-инозитола из фосфатидилинозитола в адаптированной или частично адаптированной начальной или последующей молочной смеси и смеси для взрослых. Воспроизводимость определялась из аналогичных анализов, выполнявшихся несколько дней. Точность определялась из экспериментов по степени извлечения (свободный мио-инозитол и мио-инозитол из фосфатидилинозитола). Пределы обнаружения приборов и количество были статистически определены из введений низкоуровневых стандартных растворов и пиковой выборки с низким уровнем свободного мио-инозитол. Исследование проводилось на основе требований, приведенных в [7].

Более подробная информация о проверке метода размещена на сайте:

gost.e-ecolog.ru

Таблица В.1 — Несвязанный (свободный) мио-инозитол

Тип образца	Общее количество лабораторий без учета неосновных	Количество неосновных лабораторий	Общее количество разрешенных повторений	Среднее значение (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Коэффициент Хорвитца[a]
NIST SRM 1849a	10	0	22	412,00[b]	11,3000	11,400	2,75	2,77	0,43
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе сои	10	0	22	4,22	0,1270	0,3050	3,03	7,26	0,80
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе молока	10	0	20	4,26	0,1680	0,2320	3,95	5,43	0,60
Адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь ГУ на основе молока	9	0	20	7,17	0,0950	0,2070	1,33	2,89	0,34

Продолжение таблицы В.1

Тип образца	Общее количество лабораторий без учета неосновных	Количество неосновных лабораторий	Общее количество разрешенных повторений	Среднее значение (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Коэффициент Хорвитца[a]
Частично гидролизованная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе молока	10	0	22	3,65	0,0350	0,4120	0,97	11,4	1,22
Частично гидролизован-ная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе сои	10	0	22	3,11	0,0899	0,3890	2,92	12,61	1,32
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь	10	0	22	5,10	0,1850	0,2460	3,61	4,81	0,54
Элементарная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь	10	0	22	5,10	0,2270	0,3180	4,45	6,24	0,71
Адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь ГУ на основе молока, невитаминизированная	9	0	20	3,17	0,0582	0,0910	1,84	2,87	0,30

[a] Значение коэффициента Хорвитца, согласно [8].
[b] Результаты приведены в мг/кг порошка.
ГУ – готовый к употреблению.

Таблица В.2 – Связанный мио-инозитол в виде фосфатидилинозитола

Тип образца	Общее количество лабораторий без учета неосновных	Коли-чество неоснов-ных лабора-торий	Общее количество разрешенных повторений	Среднее значение (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Коэффи-циент Хорвитца[a]
NIST SRM 1849a	9	0	20	9,510[b]	1,8200	2,6200	18,7000	26,80	2,36
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе сои	9	0	20	2,100	0,1500	0,5010	6,9400	23,20	2,30
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе молока	9	0	18	0,667	0,026 1	0,1720	3,9200	25,90	2,15
Адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь ГУ на основе молока	8	0	18	0,348	0,0301	0,0909	8,36	25,20	1,91
Частично гидролизованная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе молока	9	0	20	0,214	0,0103	0,0576	4,72	26,40	1,86
Частично гидролизованная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе сои	9	0	20	1,640	0,0936	0,3580	5,53	21,10	2,02
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь	9	0	20	0,328	0,0234	0,0878	6,89	25,80	1,94

Продолжение таблицы В.2

Тип образца	Общее количество лабораторий без учета неосновных	Количество неосновных лабораторий	Общее количество разрешенных повторений	Среднее значение (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Коэффициент Хорвитца[a]
Элементарная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь	9	0	20	0,000	0,0000	0,0000	0,00	0,00	0,00
Адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь ГУ на основе молока, невитаминизированная	8	0	18	0,305	0,0244	0,0850	7,71	26,90	2,00

[a] Значение коэффициента Хорвитца, согласно [8].
[b] Результаты приведены в мг/кг порошка.
ГУ – готовый к употреблению.

Таблица В.3 – Несвязанный (свободный) мио-инозитол плюс связанный мио-инозитол в виде фосфатидилинозитола

Тип образца	Общее количество лабораторий без учета неосновных	Количество неосновных лабораторий	Общее количество разрешенных повторений	Среднее значение (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Коэффициент Хорвитца[a]
NIST SRM 1849a	9	0	20	422,00[b]	11,9000	11,900	2,83	2,83	0,44
Порошкообразная смесь для детского питания на основе сои	9	0	20	6,27	0,1470	0,446	2,32	7,05	0,82
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе молока	9	0	18	4,92	0,1840	0,314	3,74	6,38	0,72
Смесь для детского питания ГУ на основе молока	8	0	18	7,50	0,1060	0,218	1,41	2,90	0,35

Продолжение таблицы В.3

Тип образца	Общее количество лабораторий без учета неосновных	Количество неосновных лабораторий	Общее количество разрешенных повторений	Среднее значение (мг/100 г RTF)	S_r	S_R	$C_{V,r}$	$C_{V,R}$	Коэффициент Хорвитца[a]
Частично гидролизованная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе молока	9	0	20	3,84	0,0350	0,426	0,91	11,20	1,21
Частично гидролизованная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь на основе сои	9	0	20	4,71	0,1520	0,357	3,22	7,55	0,84
Порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь	9	0	20	5,42	0,2030	0,307	3,73	5,63	0,64
Элементарная порошкообразная адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь	9	0	20	5,08	0,2370	0,324	4,67	6,40	0,72
Адаптированная или частично адаптированная начальная или последующая молочная смесь ГУ на основе молока, невитаминизированная	8	0	18	3,46	0,0659	0,128	1,90	3,70	0,39

[a] Значение коэффициента Хорвитца, согласно [8].
[b] Результаты приведены в мг/кг порошка.
ГУ – готовый к употреблению.

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] J. AOAC Int. 2012, 95 p. 937 J. AOAC Int. 2012, 95 стр. 937.

[3] J. AOAC Int. 2012, 95 p. 295 J. AOAC Int. 2012, 95 стр. 295.

[4] 2011.18, Determination of Myo-Inositol in Infant, Pediatric, and Adult Formulas by IC-PAD and Column Switching: Collaborative Study 2011.18, Определение содержания мио-инозитола в смеси для детского питания и взрослых с помощью ионной хроматографии, импульсного амперометрического детектирования и переключения колонок: Совместное исследование.

[5] 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).

[6] 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).

[7] 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).

[8] Thompson M. Recent Trends in Inter-Laboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing. Analyst (Lond.). 2000, 125 pp. 385–386 (М. ТОМПСОН. Последние тенденции в межлабораторной точности при концентрациях частиц на миллиард и ниже одной частицы на миллиард по отношению к критериям приемлемости для выполнения поставленной цели в квалификационном испытании. Аналитик (Лонд.). 2000 г., 125 стр. 385-386).

[9] ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры.

УДК 637.1:543.544.5:006:354 **МКС 67.050**

Ключевые слова: смеси для детского питания, смеси для взрослых, мио-инозитол, жидкостная хроматографии, импульсная амперометрия

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