СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора Бел ГИМ

Т.А. Коломиец

«__» _____ 2008 г.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра
Главный государственный санитарный врач Республики Беларусь

В.И. Качан

11 2008 г.

МЕТОДИКА
ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ ДОЛИ ПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ В СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ И БАД

МВИ.МН [illegible] -2008

МВИ аттестована
РУП "Белорусский государственный институт метрологии"
Свидетельство об аттестации
№ 191/2008
от "11" 11 2008 г.

Минск 2008

gost.e-ecolog.ru

СОДЕРЖАНИЕ

1	Область применения	3
2	Показатели прецизионности методики	3
3	Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы, материалы	4
4	Метод измерения	6
5	Требования безопасности	6
6	Требования к квалификации оператора	6
7	Условия выполнения измерений	6
8	Подготовка к выполнению измерений	6
9	Выполнение измерений	10
10	Обработка результатов измерений	10
11	Оформление результатов испытаний	11
12	Проверка приемлемости результатов, полученных испытаний в условиях повторяемости	12
	Приложение А Нормативные ссылки	15
	Приложение Б Бюджет неопределенности измерений	16

1 Область применения

Методика предназначена для определения массовой доли свободной и связанной пантотеновой кислоты (витамина B_3)

- в специализированных продуктах для питания детей, беременных женщин и кормящих матерей, спортсменов;

- в необогащенных продуктах питания;

- обогащенных витамином продуктах питания;

- биологически активных добавках (БАД).

Пантотеновая кислота (витамин B_3) (D-(+)-3-(2,4-дигидрокси-3,3-диметил-1-бутирил-β-амино)пропионовая кислота или пантоил-β-аланин) в свободной форме светло-желтая маслянистая жидкость, хорошо растворима в воде, этиловом спирте, уксусной кислоте, диоксане и этилацетате, мало растворима в эфире и высших спиртах, практически нерастворима в хлороформе и бензоле, адсорбируется на активированном угле. Кальциевая соль пантотеновой кислоты — белое кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде, является основным витаминным препаратом. При нагревании пантотеновой кислоты или ее солей в кислой среде происходит расщепление амидной связи с образованием β-аланина $H_2NCH_2CH_2COOH$ и пантоевой кислоты $HOCH_2C(CH_3)_2CH(OH)COOH$. Последняя в кислой среде легко превращается в пантолактон (α-окси-β,β-диметил-γ-бутиролактон). Пантолактон – белое кристаллическое вещество, гигроскопичен, хорошо растворим в хлористом метилене, хлороформе, температура плавления – 74-78°С.

Метод определения основан на газохроматографическом определении пантолактона – продукта гидролиза пантотеновой кислоты в кислой среде. Количество образовавшегося в результате гидролиза пантолактона прямо пропорционально содержанию пантотеновой кислоты в анализируемом образце.

Диапазон измерений 0,1 – 250,0 мг/100 г продукта.

Нижний предел измерения методики (LOQ) составляет 0,1 мг / 100 г

2 Показатели прецизионности методики

Относительные значения показателей прецизионности (повторяемости и промежуточной внутрилабораторной воспроизводимости) при доверительной вероятности P=0,95 МВИ представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Относительные значения показателей повторяемости, внутрилабораторной воспроизводимости и расширенной относительной стандартной неопределенности МВИ при доверительной вероятности P=0,95

Диапазон измерений (мг/100 г)	Показатель повторяемости, % σ_r	Показатель внутрилабораторной воспроизводимости,% σ_R	Расширенная относительная стандартная неопределенность U, %
0,10 – 1,00 вкл.	3	6	23
св. 1,00 – 10,00 вкл.	3	5	
св. 10,00 – 250,00 вкл.	2	3	

Относительные значения пределов повторяемости и промежуточной внутрилабораторной воспроизводимости при доверительной вероятности P=0,95 указаны в таблице 2

Таблица 2 – Относительные значения пределов повторяемости и внутрилабораторной воспроизводимости при доверительной вероятности P=0,95

Диапазон измерений (мг/100 г)	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений),% r	Предел внутрилабораторной воспроизводимости (для двух результатов анализа),% R
0,10 – 1,00 вкл.	8	17
св. 1,00 – 10,00 вкл.	8	14
св. 10,00 – 250,00 вкл.	6	8

3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1 Средства измерений

Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором,		например «Цвет 500М»
Сушильный шкаф UT-6 (50–110°С, ±2°С)		Фирма Heraeus
Весы лабораторные лабораторные ВЛР 200, (диапазон взвешивания 0,0100-220,0000 г, погрешность взвешивания 0,75 мг)		
Микрошприц типа МШ-10		ТУ 6-20005Е2.833.106
Колбы мерные	2-25-2	ГОСТ 1770-74
		(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)
	2-50-2	ГОСТ 1770-74
		(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)
	2-100-2	ГОСТ 1770-74
		(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)
Пипетки градуированные	1-1-2-1	ГОСТ 29227-91
	1-1-2-5	ГОСТ 29227-91
	1-2-2-10	ГОСТ 29227-91
Пипетки с одной отметкой	2-2-25	ГОСТ 29169-91
Цилиндры мерные на 100см^3		ГОСТ 1770-74

Колбы круглодонные	30 $см^3$	ГОСТ 23932-90
	50 $см^3$	ГОСТ 23932-90
	100 $см^3$	ГОСТ 23932-90

3.2 Вспомогательные устройства и оборудование

Колонка капиллярная кварцевая DB-FFAP 30 м х 0,53 мм, толщина слоя жидкой фазы 1,0 мкм	фирма Agilent № 1233234
Испаритель ротационный	фирма Buchi
Часы класса 2	ГОСТ 3145-84
Водяная баня шестиместная, обеспечивающая поддержание заданного температурного режима 90 °С (40 - 90 °С, ±1°С)	тип 1031/1032
Система фильтрования для ТФЭ	Фирма Baker
Шприц медицинский пластиковый 20 $см^3$	
Система регистрации, хранения и обработки спектрометрической информации ЮНИХРОМ 97	ТУ РБ 14597800.001-98

3.3 Реактивы и материалы

Гелий газообразный сжатый	ТУ 51-940-80
Водород, вырабатываемый электролитически с помощью генератора чистого водорода ГВЧ-12	марка «А» ГОСТ 3022-80
Воздух сжатый	ГОСТ 17433-80
Азот	ГОСТ 9293-74 (ИСО 2435-73)
Пантотенат кальция содержание основного вещества не менее 98 %	фирма Sigma № P2250
Кислота соляная, чда или хч	ГОСТ 4204-77
Хлороформ, чда	ГОСТ 20015-88
Эфир диэтиловый, чда или хч	ТУ 2600-001-43852015-2005
Гексан, хч	ТУ 2631-018-04683480-2007
Хлористый метилен, ч	ТУ 2631-003-29483781-2005
Сульфат аммония, ч	ТУ 6-09-1038-76
Сульфат натрия безводный, ч	ГОСТ 4166-76
Мембранный фильтр Millipore с размером пор 0,45 мкм	фирма Hewlett Packard
Картридж для ТФЭ (Accubond Silica), 200 мг, 3 $см^3$	фирма Agilent, № 188-0120
Фильтр «синяя лента»	ГОСТ 12026-76
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72

Могут быть использованы другие средства измерения и вспомогательные устройства по метрологическим и техническим характеристикам, не уступающие рекомендуемым, а также реактивы не ниже указанной чистоты

4 Метод измерения

Метод основан на кислотном гидролизе пантотеновой кислоты с образованием пантолактона, экстракции последнего хлороформом и определении его содержания в растворе с использованием газожидкостной хроматографии.

5 Требования безопасности

При выполнении работ персонал должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования:

- электробезопасности (ГОСТ 12.2.003)
- пожарной безопасности (ГОСТ 12.1.004)
- техники безопасности при работе в химической лаборатории (ППБ 1.04)
- техники безопасности, изложенные в эксплуатационных документах на средства измерений и оборудование, применяемые при проведении измерений.

6 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений могут быть допущены лица, имеющие высшее образование, изучившие настоящую методику, прошедшие подготовку для работы на хроматографе.

7 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории согласно ГОСТ 15150 должны быть соблюдены следующие условия:

- температура воздуха при приготовлении растворов, в том числе градуировочных (20 ± 2)°С;
- температура воздуха при выполнении измерений (20 ± 5)°С;
- атмосферное давление (630 – 800) мм рт. ст.;
- влажность воздуха (65 ± 15) % при температуре 25°С;
- напряжение питающей сети (220 ± 10)В;
- частота переменного тока (50 ± 0,5)Гц.

Помещения для проведения измерений должны быть оснащены приточно-вытяжной вентиляцией и подводкой воды.

8 Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений должны быть проведены следующие работы: подготовка измерительной аппаратуры, приготовление растворов, установление градуировочной характеристики, отбор и подготовка проб к анализу.

8.1 Подготовка измерительной аппаратуры

Включают газовый хроматограф согласно инструкции по эксплуатации. Устанавливают рабочие режимы для термостата колонок, испарителя и детектора. Проводят стабилизацию работы хроматографа на рабочих режимах в течение 20-30 мин. Работа газового хроматографа считается стабильной, если дрейф нулевого сигнала не превышает 0,00001-0,00002 мВ (1 – 2 % от шкалы регистрации сигнала) при максимальной чувствительности.

8.2 Приготовление растворов

8.2.1 Приготовление 13-% водного раствора соляной кислоты (ρ=1,06 г/см^3)

32,5 см^3 концентрированной соляной кислоты (36%, ρ=1,18 г/см^3) растворяют в 50 см^3 дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 см^3, доводят дистиллированной водой до метки при 20±2°С и перемешивают. Полученный раствор хранят в склянке с притертой пробкой при комнатной температуре. Годен в течение 3 месяцев.

8.2.2 Приготовление смеси эфир:гексан (1:9)

В колбе с пришлифованной пробкой смешивают 10 см^3 диэтилового эфира и 90 см^3 гексана при 20±2°С °С. Годен 6 мес.

8.2.3 Приготовление смеси эфир:гексан (7:3)

В колбе с пришлифованной пробкой смешивают 70 см^3 диэтилового эфира и 30 см^3 гексана при 20±2°С. Годен 6 мес.

8.2.4 Приготовление градуировочных растворов

8.2.4.1 Приготовление основного стандартного раствора пантотеновой кислоты концентрацией 0,2 мг/см^3

Взвешивают 54,35 мг пантотената кальция с точностью ± 0,001 г (это количество соответствует 50,00 мг пантотеновой кислоты), помещают в круглодонную колбу, вместимостью 30 см^3, добавляют 10 см^3 13 % соляной кислоты. Раствор помещают на водяную баню при температуре 90±1°С и выдерживают 70 минут. Раствор охлаждают до комнатной температуры в вытяжном шкафу, переносят в делительную воронку и экстрагируют образовавшийся пантолактон хлороформом 3 раза по 20 см^3. В объединенные хлороформенные экстракты добавляют 10,0 г безводного сульфата натрия, выдерживают 10-15 минут. Экстракт фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 30 см^3 через бумажный фильтр, фильтр дополнительно промывают 10 см^3 хлороформа. Фильтрат упаривают на роторном испарителе при температуре 40±5°С до 0,5-1 см^3, остаток растворителя отдувают током азота до исчезновения запаха растворителя. Сухой остаток растворяют в хлористом метилене и переносят в мерную колбу вместимостью 250см^3 и доводят до метки при 20±2°С. Полученный раствор пантолактона соответствует концентрации пантотеновой кислоты 0,2 мг/см^3. Раствор хранят в склянке с притертой пробкой в холодильнике. Он годен в течение 6 месяцев.

8.2.4.2 Приготовление градуировочных растворов пантолактона

Градуировочные растворы пантолактона концентрацией 0,10 , 0,08 , 0,04 , 0,02, 0,01 мг/см^3, готовят по схеме, представленной в таблице 3. Аликвотные части основного стандартного раствора пантолактона переносят в мерные колбы и доводят хлористым метиленом до метки при 20±2°С. Раствор стабилен в течение 1 месяца при хранении в холодильнике.

Таблица 3 – Схема приготовления градуировочных растворов пантолактона

№ градуировочного раствора	Объем аликвотной части основного стандартного раствора пантолактона, см^3	Объем мерной колбы, см^3	Концентрация пантолактона в градуировочном растворе*, мг/см^3
1	2,5	50	0,01
2	5,0	50	0,02
3	5,0	25	0,04
4	10,0	25	0,08
5	25,0	50	0,10

* -в пересчете на пантотеновую кислоту.

8.3 Установление градуировочной характеристики

Полученные по п. 8.2.4.2 градуировочные растворы хроматографируют, начиная с самой низкой концентрации.

Условия хроматографирования:

Объем вводимой пробы	2 мкл
Давление газа-носителя гелия на входе в колонку	130 кПа
Температура колонки	начальная - 70°С
	конечная - 200 °С
	программирование со скоростью 15 °С/мин
Деление потока газа-носителя в испарителе	1:10
Температура испарителя	200°С
Температура детектора	250°С
Расход водорода	30 см^3/мин
Расход воздуха	300 см^3/мин
Время выхода пантолактона	(8,0 ± 0,1) мин

Каждый градуировочный раствор хроматографируют не менее 3-х раз, принимая за результат измерения среднее арифметическое параллельных измерений.

8.4 Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика устанавливают зависимость площади пиков пантолактона от соответствующей концентрации пантолактона в градуировочном растворе.

Градуировочная зависимость должна иметь вид

$$Y = b \cdot C \qquad (1)$$

где, *Y*- измеренная площадь пика пантолактона;

b- коэффициент регрессии;

C- концентрация пантолактона в градуировочном растворе, мг/см^3 ;

8.5 Контроль градуировочного графика

Контроль градуировочного графика осуществляют каждый раз перед началом измерений не менее чем по двум точкам в рабочем диапазоне градуировочного графика. Расхождение между измеренной концентрацией пантолактона в выбранном градуировочном растворе и его фактической концентрацией, выраженной в процентах, не должна превышать норматива контроля К:

- К=18 % в диапазоне концентраций градуировочного графика от 0,01 до 0,04 мг/см^3;
- К=5 % в диапазоне концентраций от 0,04 до 0,1 мг/см^3.

В противном случае необходимо провести построение нового градуировочного графика не менее чем по 5 точкам.

8.6 Подготовка анализируемых образцов

Отбор проб осуществляется согласно СТБ 1036.

Анализируемый продукт (400 – 500 г) термостатируют при температуре 20 ± 2 °С в течение 30 минут и тщательно перемешивают. Навеску взвешивают в круглодонной колбе вместимостью 50 см^3 в соответствии с таблицей 4 на весах с точностью ±0,001 г, добавляют 10 см^3 13% раствора соляной кислоты.

Таблица 4 – Навески продуктов в зависимости от ориентировочного содержания пантотеновой кислоты в продукте

Ориентировочное содержание пантогеновой кислоты в продукте, мг/100 г	Навеска, г
0,10 – 1,00	5,0-10,0
1,00 – 10,00	1,0-2,0
10,00 – 250,00	0,100-0,500

Круглодонную колбу помещают на водяную баню при температурой (90 ± 1)°С на 70 минут для проведения гидролиза. По окончании гидролиза раствор охлаждают до комнатной температуры.

Содержимое круглодонной колбы фильтруют через мембранный фильтр Millipore, фильтр дополнительно промывают два раза по 2,5 см^3 раствором соляной кислоты с концентрацией 13%. Фильтрат собирают в плоскодонную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 7,0 г сульфата аммония и выдерживают 10 -15 минут, периодически перемешивая. Раствор переносят в делительную воронку и проводят трехкратную экстракцию хлороформом по 20 см^3. К объединенному хло-

роформному экстракту добавляют 10,0 г безводного сульфата натрия и выдерживают в течение 10 минут. Экстракт фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ через бумажный фильтр, фильтр ополаскивают 10 $см^3$ хлороформа. Хлороформ упаривают на роторном испарителе при температуре водяной бани (40±5) °С досуха. Сухой остаток растворяют в 1 $см^3$ смеси эфир:гексан (1:9). Полученный экстракт очищают с помощью твердофазной экстракции.

Картридж для ТФЭ предварительно кондиционируют 3 $см^3$ смеси эфир:гексан (1:9). Экстракт наносят на картридж, колбу ополаскивают еще 2 $см^3$ смеси эфир:гексан (1:9) и также наносят на картридж. Картридж промывают 10 $см^3$ смеси эфир:гексан (1:9). После прохождения 10 $см^3$ смеси эфир-гексан (1:9), не давая верхнему слою сорбента высохнуть, помещают в картридж 7 $см^3$ смеси эфир:гексан (7:3) и элюируют пантолактон до полного осушения сорбента в картридже. Элюат собирают в круглодонную колбу вместимостью 30 $см^3$. Объем собранного элюата составляет 6,0 – 6,5 $см^3$. Растворитель упаривают на роторном испарителе при температуре водяной бани 40±5°С до 0,5-1 $см^3$, остаток растворителя отдувают током азота до исчезновения запаха растворителя. Сухой остаток растворяют в хлористом метилене соответственно таблице 5.

Таблица 5 – Объем добавляемого хлористого метилена

Ориентировочное содержание пантотеновой кислоты в продукте, мг/100 г	Объем хлористого метилена, $см^3$
0,10 – 1,00	1,0
1,00 – 10,00	5,0
10,00 – 250,00	10,0

9 Выполнение измерений

Проводят измерения растворов, полученных по п.8.6.

Условия такие же, как и при построении градуировочного графика (п. 8.3). По полученным хроматограммам измеряют площади пиков пантолактона.

Проводят анализ двух параллельных проб. Каждую пробу хроматографируют не менее двух раз.

10 Обработка результатов измерений

За результат определения содержания пантотеновой кислоты в j-ой параллельной пробе (j принимает значения 1 и 2) принимается среднее арифметическое результатов двух единичных измерений по формуле:

$$\overline{X}_j = \frac{X_{j1} + X_{j2}}{2}, \quad (2)$$

где $X_{i1} = \frac{C_{j1} \times V_j \times 100}{m_1}$, (3) $\quad X_{i2} = \frac{C_{j2} \times V_j \times 100}{m_2}$, (4)

где C_{i1}, C_{i2} - концентрация пантолактона в первом и втором единичном измерениях параллельной пробы, рассчитанная по градуировочному графику, мг/см^3;

m_1 и m_2 – масса навески в параллельных пробах, г,

V_i – объем хлористого метилена взятый для разбавления сухого остатка в параллельной пробе, см^3.

100 – коэффициент пересчета на 100 г продукта;

Если величина X_i оказывается меньше предела измерения методики (C_{LOQ}), то вычисления по п.10 не производятся, а дается односторонняя оценка массовой концентрации пантотеновой кислоты в пробе в виде $X_i < (C_{LOQ})$, где (C_{LOQ}) – нижний предел измерения методики (C_{LOQ})= 0,1 мг/100 г

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение определения содержания пантотеновой кислоты в двух параллельных пробах:

$$\overline{X} = \frac{\overline{X}_1 + \overline{X}_2}{2}. \qquad (5)$$

Окончательный результат округляют до второго знака после запятой.

11 Оформление результатов испытаний

Результаты измерений оформляют по форме, установленной действующей в лаборатории системой регистрации данных.

Результаты должны включать следующую информацию:

- Наименование (шифр) пробы;
- Дату проведения измерений;
- Результаты измерений, включая все необходимые данные и промежуточные расчеты;
- Результаты параллельных определений;
- Окончательный результат измерений;
- Фамилию оператора.

Если величина X_i оказывается меньше предела измерения методики (C_{LOQ}), то дается одностороняя оценка массовой концентрации пантотеновой кислоты в пробе мг/100 г, в виде $\overline{X} < (C_{LOQ})$, где (C_{LOQ}) – нижний предел измерения методики (C_{LOQ})= 0,1 мг/100 г.

Гарантированный результат измерений, выдаваемый лабораторией, может быть представлен в виде

$$(\overline{X} \pm U(X)),\ \text{мг/100 г} \qquad (6)$$

где $\overline{X}$ - среднее арифметическое из результатов измерений 2-х параллельных проб, полученное в соответствии с п.9 и рассчитанное согласно п.10;

U(X) – абсолютное значение расширенной неопределенности результата измерений $\overline{X}$, мг/100 г. Рассчитывается по формуле:

$$U(X) = U \times 0{,}01 \times \overline{X} \qquad (7)$$

U =23 % (Таблица 1, Приложение Б)

12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов осуществляют согласно п. 5.2.2.1 СТБ ИСО 5725-6. Два результата испытаний должны быть получены в условиях повторяемости.

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами единичных наблюдений $|X_1 - X_2|$, значение которого сравнивают с абсолютным значением предела повторяемости $r_{абс.}$ Абсолютное значение предела повторяемости $r_{абс.}$, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$r_{абс} = 0{,}01 \cdot r \cdot \overline{X} \qquad (8)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\overline{X}$ – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений, мг/дм^3;

r – относительное значение предела повторяемости, %, указанное в таблице 2.

Если для значения абсолютного расхождения между двумя результатами единичных наблюдений выполняется условие

$$|X_1 - X_2| < r_{абс} \qquad (9)$$

то оба результата считают приемлемыми и в качестве результата измерений указывают среднее арифметическое значение $\overline{X}$, рассчитанное по формуле (5).

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях внутрилабораторной воспроизводимости, проводят в соответствии с требованиями СТБ ИСО 5725-6 следующим образом.

Рассчитывают среднее арифметическое значение $\overline{\overline{X}}$, мг/дм^3, результатов измерений $\overline{X_1}$ и $\overline{X_2}$ соответственно, полученные в условиях внутрилабораторной воспроизводимости при выполнении условий повторяемости по п.12.

$$\overline{\overline{X}} = \frac{\overline{X_1} + \overline{X_2}}{2} \quad . \qquad (10)$$

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами измерений $|\overline{X_1} - \overline{X_2}|$, значение которого сравнивают с абсолютным значением предела внутрилабораторной воспроизводимо-

сти $R_{отн}$. Абсолютное значение предела внутрилабораторной воспроизводимости $R_{абс}$, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$R_{абс} = 0{,}01 \cdot R \cdot \overline{\overline{X}} \qquad (11)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\overline{\overline{X}}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений $\overline{X}_1$ и $\overline{X}_2$, мг/дм^3;

R – относительное значение предела воспроизводимости, указанное в таблице 2.

Если для значения абсолютного расхождения между результатами выполняется условие

$$\left|\overline{X}_1 - \overline{X}_2\right| < R_{абс} \qquad (12)$$

то оба конечных результата, полученные в условиях внутрилабораторной воспроизводимости, считаются приемлемыми и общее среднее значение $\overline{\overline{C}}$, рассчитанное по формуле (5), может быть использовано в качестве заявляемого результата.

При превышении указанного норматива должны быть выяснены и устранены причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля воспроизводимости.

13 Проверка стабильности результатов испытаний

Стабильность результатов измерений может быть проверена с использованием контрольной карты Шухарта в соответствии с СТБ ИСО 5725-6 п.6.2.2, МИ 2335 п.6.

При построении контрольной карты используют рабочие пробы стабильные во времени. Содержание пантотеновой кислоты в рабочей пробе должно соответствовать диапазону измерений.

Рассчитывают:

- центральную линию: $d_2 \times \sigma_r$,

где d_2 = 1,128 (коэффициент для расчета центральной линии для n=2;

- границы регулирования: $UCL = D_2 \times \sigma_r$,

где D_2 = 3,686 (коэффициент для расчета границы регулирования для n=2;

- предупреждающие границы: $UCL = D_2(2) \times \sigma_r$,

где $D_2(2)$ = 2,834 (коэффициент для расчета предупреждающих границ для n=2;

σ_r – стандартное отклонение повторяемости, мг/100 г.

Оценку стандартного отклонения повторяемости s_r получают по формуле:

$$s_r = \left(\frac{\sum w_i}{L}\right) = \overline{w}/d_2 \qquad (13)$$

где $w = |X_1 - X_2|$ - размах;

X_1 и X_2 – результаты первого и второго определения, мг/100г;

L – количество проведенных измерений, равное 4.

Полученные значения заносят в лист данных контрольной карты:

Полученные значения заносят в лист данных контрольной карты:

Дата проведения анализа	Наблюдаемые значения		Размах w	Описание
	X_1	X_2		
			Сумма	
			Среднее значение	$\bar{w}/d_2$

Графически по оси X откладываю дату проведения анализа, по оси Y – размах w. Также отмечают центральную линию и линии предупреждающей и регулирующей границ.

Если размах w выходит за линии предупреждающей и регулирующей границ, то результаты признаются нестабильными. В этом случае выясняются причины нестабильности и проводятся мероприятия по их устранению.

Методика разработана лабораторией химии пищевых продуктов отдела физико-химических исследований ГУ «РНПЦ гигиены» МЗ РБ.

Разработчики:

Зав. лабораторией ХПП, к.х.н. О.В. Шуляковская

Н.с. лаборатории ХПП О.Н.Тимофеева

Ст.н.с. лаборатории ХПП, к.х.н. Е.В. Вашкевич

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Нормативные ссылки

ГОСТ 15150-69	Машины, приборы и другие технические изделия. Исполнения для различных климатических районов. Категории, условия эксплуатации, хранения и транспортирования в части воздействия климатических факторов внешней среды.
ППБ 1.04 – 2002	Инструкции «Основные правила безопасности работы в химических лабораториях». – М.: Химия, 1979 г. ; Общие правила пожарной безопасности Республики Беларусь для общественных зданий и сооружений.»
ГОСТ 12.1.004-91	Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования
ГОСТ 12.2.003-91	Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности.
СТБ 1036-97	Продукты пищевые и продовольственное сырье. Методы отбора проб для определения показателей безопасности.
ГОСТ ИСО 5725-6 -2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике (ISO 5725-6:1994/Соч.1:2001,IDT)
МИ 2335 -2003	Рекомендации «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа» - Екатеринбург, 2003 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(обязательное)

Бюджет неопределенности измерений

Источник неопределенности	Тип оценки	Относительная стандартная неопределенность, %
СКО измерения массовой концентрации пантотеновой кислоты в пробе	А	u_c=2,1
Построение и использование градуировочной характеристики	А	$u_{гх}$=8,8
Приготовление образцов для градуировки	В	$u_{(x)}$=7,0
Обработка пробы	В	$u_п$=0,43
СКО, связанная со смещением	А	u(Rec)=1,67
Суммарная стандартная неопределенность [*)]		u=11,6
Расширенная неопределенность (k=2)		U=23

[*)] Суммарная стандартная неопределенность вычисляется по формуле:

$$u = \sqrt{\sum u_i^2}$$

ОКПО 02368454
УНП 100055197

ДЗЯРЖАЎНЫ КАМІТЭТ ПА СТАНДАРТЫЗАЦЫІ
РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
(ДЗЯРЖСТАНДАРТ)

Рэспубліканскае унітарнае прадпрыемства
"БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ
ІНСТЫТУТ МЕТРАЛОГІІ"
- БеаДІМ -

Старавіленскі тракт 93, г. Мінск, 220053
Тэлефон (017) 233 65 01 Факс (017) 288 09 38
Эл. пошта: info @ belgim.by
Разліковы рахунак: 3012002840020
у філіяле ААТ «БПС - Банк» па г. Мінску,
МФО 153001334, праспект Машерава, 80

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
(ГОССТАНДАРТ)

Республиканское унитарное предприятие
"БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ"
- БелГИМ -

Старовиленский тракт 93, г. Минск, 220053
Телефон (017) 233 65 01 Факс (017) 288 09 38
Эл. почта: info @ belgim.by
Расчётный счёт: 3012002840020
в филиале ОАО «БПС - Банк» по г. Минску,
МФО 153001334, проспект Машерова, 80

10.11. 200 8 г. № 1

На № _____ от _____

СВИДЕТЕЛЬСТВО № 491/2008
об аттестации МВИ

Методика определения массовой доли пантотеновой кислоты в специализированных продуктах питания и БАД

Методика выполнения измерений, разработанная ГУ "РНПЦ гигиены", и регламентированная в ***МВИ.МН 3008-2008 «Методика определения массовой доли пантотеновой кислоты в специализированных продуктах питания и БАД»*** аттестована в соответствии с ГОСТ 8.010-99.

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке и экспериментальному исследованию МВИ.

В результате аттестации установлено, что МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками при принятой доверительной вероятности P=0,95:

Диапазон измерений (мг/100 г)	Показатель повторяемости, σ_r, %	Показатель внутрилабораторной воспроизводимости , σ_R,%	Расширенная относительная стандартная неопределенность U, %	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений) r, %	Предел внутрилабораторной воспроизводимости (для двух результатов анализа) R, %
0,10-1,00 вкл	3	6	23	8	17
св. 1,00-10,00 вкл	3	5		8	14
св. 10,00-250,00 вкл.	2	3		6	8

Заместитель директора по науке Т.А. Коломиец

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель директора БелГИМ
Т.А. Коломиец
2008

ЭКСПЕРТНОЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по результатам метрологической экспертизы
методики выполнения измерений

Наименование МВИ: Методика определения массовой доли пантотеновой кислоты в специализированных продуктах питания и БАД

Разработчик: ГУ "РНПЦ гигиены"

На метрологическую экспертизу представлены следующие документы:

1 Методика выполнения измерений (МВИ)
2 Отчет о метрологической аттестации

По результатам метрологической экспертизы установлено:

1 Представленная методика предназначена для определения массовой доли свободной и связанной пантотеновой кислоты в специализированных продуктах для питания детей, беременных женщин и кормящих матерей, спортсменов, в необогащенных продуктах питания, обогащенных витамином продуктах питания, биологически активных добавках и обладает следующими метрологическими характеристиками:

Диапазон измерений (мг/100 г)	Показатель повторяемости, σ_r, %	Показатель внутрилабораторной воспроизводимости, σ_R, %	Расширенная относительная стандартная неопределенность U, %	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений) r, %	Предел внутрилабораторной воспроизводимости (для двух результатов анализа) R, %
0,10-1,00 вкл.	3	6	23	8	17
св 1,00-10,00 вкл	3	5		8	14
св 10,00-250,00 вкл	2	3		6	8

2 Методика соответствует требованиям ГОСТ 8.010-99 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений. Основные положения»

3 Методика может быть использована при выполнении вышеперечисленных работ.

Начальник отдела испытаний
пищевой и сельскохозяйственной

Г.В. Артеменко

gost.e-ecolog.ru