«СОГЛАСОВАНО»
Первый заместитель директора
Бел ГИМ
_____В.П.ЛОБКО
«__» _____2004 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь
_____М.И. РИМЖА
«__» _____2004 г.

МЕТОДИКА
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ В ОБОГАЩЕННЫХ ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ

МВИ. МН 2146-2004

Минск 2004

gost.e-ecolog.ru

СОДЕРЖАНИЕ

1	Область применения	3
2	Нормы погрешности измерений	3
3	Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы, материалы	3
4	Метод измерения	5
5	Требования безопасности	5
6	Требования к квалификации оператора	5
7	Условия выполнения измерений	5
8	Подготовка к выполнению измерений	5
9	Выполнение измерений	11
10	Обработка результатов измерений	11
11	Оформление результатов испытаний	11
12	Контроль погрешности методики выполнения измерений	11
	Приложение 1	16
	Приложение 2	17

1 Область применения

Настоящая методика предназначена для определения содержания фолиевой кислоты в обогащенных плодоовощных, хлебобулочных, молочных и мясных продуктах.

Фолиевая кислота (птероил-L-глютамин) $C_{19}H_{19}N_7O_6$. М.в.=441,4, представляет собой мелкокристаллический порошок желтого цвета без запаха и вкуса, практически нерастворим в воде, 95%-ном спирте и органических растворителях. Хорошо растворим в разбавленных едких щелочах. На свету разлагается.

Метод определения основан на извлечении внесенной в продукт фолиевой кислоты 0,001М раствором NaOH с последующим анализом аликвотной части щелочного раствора методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в режиме градиентного элюирования на колонке с обращенной фазой (C_{18}) с использованием спектрофотометрического или диодно-матричного детектора.

Нижний предел измерения составляет 0,25 мкг/мл анализируемого раствора. Интервал определяемых концентраций 15-300 мкг/100г продукта.

2 Нормы погрешности измерений

При доверительной вероятности p=0,95 относительная суммарная погрешность измерения, границы неисключенных систематических погрешностей, доверительные границы случайной погрешности МВИ в диапазоне определяемых концентраций 25-300 мкг/100г приведены в таблице 1.

Таблица 1- Нормы погрешности измерений

Определяемый показатель	Доверительные границы случайной погрешности МВИ, %	Неисключенная систематическая составляющая погрешности МВИ, %	Относительная суммарная погрешность МВИ, %
Фолиевая кислота	9,0	1,8	18,0

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1 Средства измерений

Жидкостной хроматограф фирмы «Hewelett Packard» со спектрофото-метрическим или диодно-матричным детектором	
Кран дозатор с петлей на 0,02 $см^3$	Reodyne (погрешность 1,0% согласно руководству по эксплуатации жидкостного хроматографа
Баня водяная с обогревом, позволяющая поддерживать температуру от 0 до 100°С с погрешностью ±2°С.	

Весы лабораторные общего назначения ВЛР 200, 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200г		ГОСТ 24104-2001
Колбы мерные	2-50-2 2-100-2 2-250-2 2-1000-2	ГОСТ 1770-74Е
Стакан химический	-1-250	ГОСТ 1770-74
Пипетки градуированные	1-1-1-0,5 1-1-2-1 1-1-2-5 1-2-2-10	ГОСТ 29227-91
Цилиндры мерные на 100см^3		ГОСТ 1770-74Е

3.2 Вспомогательные устройства и оборудование

Колонка хроматографическая размером 4,6х150 мм, зернение частиц 5 мкм	Hypersil ODS (C_{18})
Центрифуга лабораторная, обеспечивающая скорость вращения до 6 тыс. об/мин	Beckman J6-HC
Перемешивающее устройство ПЭ-6410	АО «Экрос» г. С.-Петербург
Фильтр «синяя лента»	ГОСТ 12026-76
Плитка электрическая	ГОСТ 14919-83Е
Фильтр стеклянный пористый (Пор16)	ГОСТ 23932-90

3.3 Реактивы, материалы и растворы

Фолиевая кислота, х.ч.	Фирма Merck, 99,5% чистоты
Кислота соляная, х.ч., водный раствор концентрации 10%	ГОСТ 3118-77
Кислота серная, ч.д.а. или х.ч.	ГОСТ 4204-77
Вода бидистиллированная	
Ацетонитрил, ч. или для HPLC	ТУ 6-09-3534-74
Натрий хлористый, х.ч., водный раствор концентрации 15%	ГОСТ 4233-77
Натрий уксуснокислый 3-водный, ч.д.а. или х.ч., насыщенный водный раствор	ГОСТ 199-78
Натрия гидроокись, ч.д.а. или х.ч., водный раствор молярной	ГОСТ 4328-77

концентрации 0,01 М и водный раствор нормальной концентрации 2н	
Кислота трихлоруксусная, ч., водный раствор концентрации 50 г/см^3	ТУ 6-09-1926-77
Анионит ФИБАН А-6	ТУ РБ 100185198.073-2003

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

4 Метод измерения

Для определения фолиевой кислоты в обогащенных продуктах питания используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, основанный на измерении оптической плотности экстракта фолиевой кислоты с использованием спектрофотометрического или диодно-матричного детектора при длине волны 286 нм и ширине оптической полосы 20 нм после градиентного элюирования экстракта на хроматографической колонке Hypersil ODS (C_{18}).

5 Требования безопасности

Анализ по данной методике должен выполнятся согласно инструкции «Основные правила безопасности работы в химических лабораториях». – М.: Химия, 1979 г.

6 Требования к квалификации оператора

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

7 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории согласно ГОСТ 15150-69 должны быть соблюдены следующие условия:

- температура воздуха 20±5°С;
- атмосферное давление 84,0-106,7 кПа (630-800 мм рт. ст.);
- влажность воздуха не более 80% при температуре 25°С;
- напряжение питающей сети 220±22В;
- частота переменного тока 50±1Гц

8 Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений должны быть проведены следующие работы подготовка измерительной аппаратуры, приготовление растворов, построение

градуировочного графика, отбор и подготовка проб к анализу.

8.1 Подготовка измерительной аппаратуры

Включают хроматограф согласно инструкции по эксплуатации. Устанавливают рабочие режимы для блока насосов и детектора. Проводят стабилизацию работы хроматографа на рабочих режимах в течение 30-40 мин. Условием стабильности является дрейф нулевого сигнала (не превышающий 1-2% от шкалы регистрации сигнала 0,1-0,05 единиц оптической плотности).

8.2 Приготовление растворов и реактивов

8.2.1 Приготовление водного раствора 0,01М NaOH

Взвешивают 0,40 ± 0,001г NaOH на весах 2-го класса точности, растворяют в 300-500 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 $см^3$, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Годен в течение 1 месяца.

8.2.2 Приготовление водного раствора 2н NaOH

Взвешивают 80 ± 0,001г NaOH на весах 2-го класса точности, растворяют в 300-500 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 $см^3$, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Годен в течение 2 месяцев.

8.2.3 Приготовление 10% водного раствора соляной кислоты (10% HCl)

23,9 $см^3$ концентрированной соляной кислоты плотностью 1,185 $г/см^3$ помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят до метки дистиллированной водой. Годен в течение 2 месяцев.

8.2.4 Приготовление15% водного раствора хлористого натрия (15% NaCl)

Взвешивают 15 ±0,001г NaCl на весах 2-го класса точности и растворяют в 85 $см^3$ дистиллированной воды. Годен в течение 1 месяца.

8.2.5 Приготовление насыщенного раствора уксуснокислого натрия

Взвешивают 100,0±0,001 г уксуснокислого натрия и растворяют в 50-100 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 250 $см^3$, доводят объем до метки и перемешивают. Годен в течение 2 месяцев.

8.2.6 Приготовление раствора трихлоруксусной кислоты массовой концентрации 50 г/$см^3$

Взвешивают 50,0±0,001 г трихлоруксусной кислоты и растворяют в 30-40 $см^3$ дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Годен в течение 2 месяцев.

8.2.7 Получение бидистиллированной воды

Собирают установку для дистилляции воды состоящую из круглодонной колбы (объем 2 $дм^3$), прямого холодильника и приемной колбы. В круглодонную колбу наливают

1,5 дм^3 дистиллированной воды, добавляют 10 г $KmnO_4$ и центры кипения. Нагревание воды производят на электрической плитке с закрытой спиралью. Полученную бидистиллированную воду хранят в полиэтиленовых бутылях не более 1 месяца.

8.3 Приготовление подвижной фазы

Для приготовления подвижной фазы (системы элюентов), используют бидистиллированную воду (pH=2,9) и ацетонитрил. Для установления pH=2,9 используют раствор серной кислоты 1:10. Измеряют pH водного раствора с использованием иономера.

8.4 Приготовление градуировочных растворов

8.4.1 Приготовление основного стандартного раствора фолиевой кислоты 2000 мкг/см^3.

Готовят основной стандартный раствор фолиевой кислоты концентрацией 2000 мкг/см^3, взвешивая 200 мг фолиевой кислоты с точностью ± 0,15мг и растворяя в мерной колбе на 100 см^3 раствором 0,01М NaOH.

8.4.2 Приготовление рабочего стандартного раствора фолиевой кислоты 200 мкг/см^3.

Из основного стандартного раствора фолиевой кислоты готовят рабочий стандартный раствор фолиевой кислоты концентрацией 200 мкг/см^3. Для этого отбирают 10 см^3 основного стандартного раствора, переносят в мерную колбу на100 см^3 и доводят раствором 0,01М NaOH до метки.

8.4.3 Приготовление градуировочных растворов фолиевой кислоты.

Градуировочные растворы фолиевой кислоты готовят по схеме, представленной в таблице 1. Аликвотные части рабочего стандартного раствора фолиевой кислоты переносят в мерные колбы объемом 100см^3 и доводят до метки 0,01М NaOH.

Таблица 1 – Схема приготовления градуировочных растворов фолиевой кислоты

№ градуировочного раствора	Концентрация фолиевой кислоты в градуировочном растворе, мкг/см^3	Аликвотная часть рабочего стандартного раствора фолиевой кислоты, см^3
1	0,5	0,25
2	1,0	0,5
3	2,0	1,0
4	4,0	2,0
5	6,0	3,0

Каждый градуировочный раствор готовится и хроматографируется не менее трех раз с интервалом в 1 день.

8.5 Установление градуировочной характеристики

Каждый градуировочный раствор хроматографируют по два раза начиная с самой низкой концентрации, принимая за результат измерения среднее арифметическое двух

параллельных измерений. Условия хроматографирования при анализе фолиевой кислоты:

Объем вводимой пробы	0,02 $см^3$
Состав подвижной фазы: ацетонитрил - вода с pH=2,9 и градиентным элюированием в соотношении от 5% до 80% ацетонитрила в течение 13 минут.	
Скорость потока элюента	0,5 мл/мин
Колонка хроматографическая Hypersil BDS (C_{18}), размером 4,0x120мм; зернение частиц 5 мкм	
Длина волны поглощения	286 нм
Ширина полосы поглощения	20 нм
Время удерживания фолиевой кислоты	11-12 мин

Условия градиентного элюирования

Время анализа, мин	Соотношение буферов, %	
	А – бидистиллированная вода (pH=2,9)	В - ацетонитрил
0	95	5
5	95	5
10	70	30
13	20	80
20	95	5

8.6 Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика измеряют площади пиков, соответствующие концентрации фолиевой кислоты в градуировочных растворах. По полученным данным рассчитывают коэффициенты регрессии a и b прямой $Y = aX + b$ методом наименьших квадратов.

Градуировочный график строится с учетом вычисленных значений уравнения $Y = aX + b$ где

Y- площадь пика фолиевой кислоты;

X- концентрация фолиевой кислоты в градуировочном растворе;

a и b- коэффициенты регрессии.

8.7 Контроль градуировочного графика

Контроль градуировочного графика осуществляется по градуировочным растворам фолиевой кислоты. Для контроля должны применяться растворы с концентрацией фолиевой кислоты, входящей в диапазон измерений, но не повторяющие по значениям концентрации, по которым рассчитывались параметры градуировочной прямой. Допустимые расхождения между заданными и установленными по графику значениями концентраций используемых для контроля градуировочных растворов не должны превышать 1,0 %. В противном случае график подлежит повторной перепроверке и, при

необходимости, новому расчету параметров градуировочной прямой. График подлежит обязательной проверке при замене партии реактивов и посуды, после ремонта оборудования, но не реже одного раза в месяц.

8.7.1 Оперативный контроль градуировочного графика

Для оперативного контроля градуировочного графика перед началом измерений используется 1-2 градуировочных раствора из диапазона измерений фолиевой кислоты. Полученные при хроматографировании значения *Y* не должны отклоняться от градуировочной прямой более чем на величину доверительной границы случайной составляющей погрешности градуировочного графика E= 2,8 %.

В противном случае график подлежит повторной перепроверке по п.8.5.1.

8.8 Подготовка картриджа

Подготовка картриджа к анализу осуществляется следующим образом:

-0,5 г сухого анионита помещается в стеклянную или тефлоновую колонку с диаметром 8-10 мм. Колонка заполняется 10% раствором соляной кислоты и выдерживается 15-20 мин, затем кислота вымывается дистиллированной водой до нейтральной реакции промывной воды. Далее колонка заполняется раствором 2 н NaOH и выдерживается 15-20 мин, затем отмывается от щелочи дистиллированной водой до нейтральной реакции промывной воды. После этого колонка снова заполняется 10% раствором соляной кислоты и выдерживается 15-20 мин, затем промывается дистиллированной водой до нейтральной реакции промывной воды. В подготовленный таким образом картридж вносится экстракт и элюируется со скоростью 1 капля в секунду.

8.9 Подготовка анализируемых образцов

Масса навески анализируемого продукта должна быть взята с таким расчетом, чтобы в конечном экстракте содержание фолиевой кислоты было не ниже предела чувствительности метода – 0,25 мкг/мл. Рекомендуемая величина навески:

-при внесении фолиевой кислоты 15-25 мкг/100г m=60 г

-при внесении фолиевой кислоты св. 25-50 мкг/100г m=40-50 г

-при внесении фолиевой кислоты св. 50-100 мкг/100г m=20-30г

-при внесении фолиевой кислоты св. 100 мкг/100г m=10-15г

8.9.1 Пробоподготовка плодоовощной продукции и хлебобулочных изделий

Предварительно измельченная навеска (20-30 г) помещается в коническую колбу, вместимостью 250 $см^3$, прибавляется 100 $см^3$ экстрагирующего раствора (0,01М раствор NaOH), тщательно перемешивается. Затем колба устанавливается на перемешивающее устройство для экстракции. Время экстракции 60 мин. Содержимое конической колбы переносится количественно в мерную колбу объемом 200 см и доводится

экстрагирующим раствором до метки. Полученный экстракт переносится в центрифужные стаканы объемом 250 см^3. Вес стаканов уравновешивается с точностью до 0,05 г. Стаканы устанавливаются в лабораторную центрифугу для центрифугирования. Условия центрифугирования: скорость - 5 - 5,5 тыс. оборотов в мин.; время – 20 мин.

Надосадочную жидкость дополнительно фильтруют через бумажный фильтр (синяя лента). 50 см^3 полученного экстракта пропускают через картридж, заполненный анионитом ФИБАН А-6.

Элюируют фолиевую кислоту из картриджа 7 см^3 15% раствора NaCl.

Для ввода в хроматограф используют полученный раствор в количестве 20 мкл.

8.9.2 Пробоподготовка молока и молочных продуктов

Проба (40-60 см^3) помещается в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляется ацетонитрил в количестве 40 см^3, интенсивно перемешивается в течение 1-2 мин, затем до метки доводится ацетонитрилом. Через 15-20 мин полученный экстракт количественно переносится в центрифужные стаканы объемом 250 см^3. Вес стаканов уравновешивается с точностью до 0,05 г. Стаканы устанавливаются в лабораторную центрифугу для центрифугирования. Условия центрифугирования: скорость - 5 - 5,5 тыс. оборотов в мин.; время – 20 мин.

Надосадочную жидкость дополнительно фильтруют через бумажный фильтр (синяя лента). 50 см^3 полученного экстракта пропускают через картридж, заполненный анионитом ФИБАН А-6.

Элюируют фолиевую кислоту из колонки 7 см^3 15% раствора NaCl. Для ввода в хроматограф используют полученный раствор в количестве 20 мкл.

8.9.3 Пробоподготовка мясных изделий

Навеска (10-15г) отбирается из тщательно гомогенизированного образца, помещается в коническую колбу объемом 250 см^3 и добавляется 150 см^3 0,1н раствора соляной кислоты. Колба помещается на водяную баню и кипятится в течение 30 мин, затем охлаждается под струей холодной воды до температуры 20 ± 2°С, добавляется 5 см^3 насыщенного раствора натрия уксуснокислого и 5 см^3 50% раствора трихлоруксусной кислоты (для осаждения белков и других посторонних примесей). Содержимое колбы количественно переносится в мерную колбу объемом 250 см^3, доводится водой до метки и фильтруется. Отбирается 50-100 см^3 фильтрата и доводится раствором 2н NaOH до pH=7 (контроль по лакмусовой бумаге). Полученный экстракт пропускается через колонку, заполненную анионитом ФИБАН А-6. Элюируется фолиевая кислота из колонки 7 см^3 15% раствора NaCl с pH=9. Для ввода в хроматограф используется полученный элюат в количестве 20 мкл.

9 Выполнение измерений

Анализ полученных экстрактов проводится на жидкостном хроматографе. Условия хроматографирования такие же, как и при построении градуировочного графика п. 8.5. Определяют площади пиков, используя компьютерную систему обработки сигналов. Проводят анализ двух параллельных проб. Каждую пробу хроматографируют не менее двух раз.

10 Обработка результатов измерений

Расчет концентрации фолиевой кислоты (мкг/100г продукта) проводится по формуле:

$$X = \frac{C * V_{элюат} * V_1 * 100}{V_2 * m}, \text{ где}$$

C – концентрация фолиевой кислоты, найденная по градуировочному графику;

$V_{элюат}$ – объем элюата, пропущенного через картридж, $см^3$ (7);

V_1 – общий объем экстракта, $см^3$ (250);

V_2 – объем экстракта, взятого для пропускания через картридж, $см^3$ (50);

m – масса навески, г;

100 – расчет на 100 г продукта.

11 Оформление результатов испытаний

Результаты измерений оформляются 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;
- Значение приписанной или рассчитанной погрешности измерения или ее составляющих;
- Фамилию оператора.

12 Контроль погрешности методики выполнения измерений

Контроль погрешности МВИ осуществляется с целью оперативной информации о качестве измерений рабочих проб и для принятия оперативных мер, предупреждающих ухудшение точности результатов.

В процессе внутреннего оперативного контроля определяются показатели сходимости, воспроизводимости и точности.

12.1 Средства контроля погрешности методики выполнения измерений

В качестве средств контроля в процессе определения показателей качества результатов анализа применяются:

- рабочие пробы – для определения показателей сходимости и воспроизводимости;
- рабочие пробы с добавкой – при определении показателей точности.

Результаты контроля воспроизводимости и точности фиксируются в соответствии с установленной системой регистрации контроля правильности выполнения измерений, результаты контроля сходимости выполняются для каждого анализа и фиксируются в рабочих журналах исполнителей.

12.2 Порядок проведения контроля сходимости

Контроль сходимости результатов измерений проводится при получении каждого результата измерения, предусматривающего проведение параллельных определений.

Контроль сходимости результатов параллельных определений фолиевой кислоты проводят путем сравнения расхождения между результатами параллельных определений, выраженного в процентах по отношению к среднему значению, с нормативом сходимости d, приведенному в таблице 2.

d_K рассчитывается по формуле: $d_K = \frac{(C_{max} - C_{min}) \times 100}{C_{ср}} \leq d$ где:

- d - норматив сходимости параллельных определений %;
- d_K - найденное расхождение между двумя результатами, %;
- C_{max} – максимальный результат определения;
- C_{min} – минимальный результат определения;
- $C_{ср}$ – среднее арифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Если $d_K \leq d$, то сходимость результатов параллельных определений признают удовлетворительной, и по ним может быть вычислен результат измерений при рабочем или контрольном измерении. При превышении норматива сходимости определений эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

12.3 Порядок проведения контроля воспроизводимости

Контроль воспроизводимости результатов измерений проводится не реже 2-3 раз в месяц с использованием рабочих проб. Контроль воспроизводимости обязателен при

смене партии реактивов, посуды, после ремонта оборудования, существенных изменений условий выполнения измерений.

Контроль воспроизводимости проводится путем сравнения результата контрольной процедуры D_K , равного расхождению двух результатов измерений – первичного и повторного – содержания фолиевой кислоты в одной и той же рабочей пробе с нормативом воспроизводимости D, приведенным в приложении 1.

Первичный и повторный результат измерений должен быть получен в разных условиях, например, двумя операторами в один день или одним оператором в два последующих дня и т.д.

D_K рассчитывается по формуле: $D_K = \frac{(C_1 - C_2) \times 100}{C_{ср}} \leq D$, где:

- D - норматив воспроизводимости результатов измерения, %;
- D_K – найденное расхождение между двумя результатами измерения концентраций фолиевой кислоты, %;
- C_1 – результат первичного измерения концентрации фолиевой кислоты;
- C_2 – результат повторного измерения концентрации фолиевой кислоты;
- $C_{ср}$ – среднее значение результатов двух измерений концентраций фолиевой кислоты.

Величины C_1 и C_2 должны быть получены с соблюдением условий сходимости.

Если $D_K \leq D$, то воспроизводимость контрольных измерений признается удовлетворительной. В этом случае воспроизводимость результатов измерений рабочих проб, полученных в условиях, соответствующих условиям МВИ, признается удовлетворительной.

В случае превышения норматива воспроизводимости, когда $D_K > D$, контроль повторяют. При повторном превышении указанного норматива должны быть выяснены и устранены причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля воспроизводимости.

12.4 Порядок проведения контроля точности

Контроль точности результатов измерений осуществляется с использованием метода добавок. Образцами для контроля точности являются рабочие пробы и эти же пробы с добавкой фолиевой кислоты.

К пробе с добавкой предъявляются следующие требования:

- добавка должна вводится в пробу на самой ранней стадии измерений (стадия взятия пробы) в целях проведения пробы с добавкой через все последующие стадии пробоподготовки и анализа.

Примечание: в целях уменьшения погрешности за счет неоднородности распределения вводимой добавки целесообразно рассчитанное количество добавки вносить непосредственно в подготовленную навеску пробы;

- количество вводимой добавки должно составлять 50-150% от установленного содержания фолиевой кислоты в пробе;
- проба с введенной добавкой не должна выходить за верхнюю границу определяемых концентраций фолиевой кислоты согласно МВИ.

В качестве добавки используются водные растворы фолиевой кислоты необходимой концентрации. Расчет необходимой концентрации фолиевой кислоты производится исходя из того, что в навеску должно вноситься около 10 $см^3$ раствора для получения пробы с добавкой в диапазоне 50-150% ранее установленного содержания фолиевой кислоты в пробе.

После внесения добавки проба выдерживается 5-10 мин, а затем анализируется в соответствии с МВИ.

Контроль точности проводится по результатам измерений пробы до введения добавки ($X_{пр}$) и после введения добавки фолиевой кислоты ($X_{пр.доб.}$) концентрацией $C_{доб}$ в исходную пробу. Разница (K_K) между найденной ($X_{доб}=X_{пр.доб}-X_{пр}$) и введенной $C_{доб}$ концентрацией добавки не должна превышать по абсолютной величине значения норматива точности К.

Значения K_K и К рассчитываются по формулам:

$K_K=|X_{пр.доб}-X_{пр}-C_{доб}|$, где:

K_K – рассчитанный параметр точности;

$X_{пр.доб}$ – содержание фолиевой кислоты в пробе с добавкой, мкг;

$X_{пр}$ – содержание фолиевой кислоты в исходной пробе, мкг;

$C_{доб}$- величина введенной добавки, мкг .

К=1,41Δ - для доверительной вероятности Р=0,95;

К=1,19Δ - для доверительной вероятности Р=0,90, где

Δ - погрешность МВИ.

В том случае, когда погрешности определения фолиевой кислоты в исходной пробе и пробе с добавкой различаются более чем на 30 %, для расчета норматива точности используется следующая формула:

$K = 0{,}84\sqrt{(\Delta X_{пр})^2 + (\Delta X_{пр.доб})^2}$ - для доверительной вероятности Р=0,90;

$K = \sqrt{(\Delta X_{пр})^2 + (\Delta X_{пр.доб})^2}$ - для доверительной вероятности Р=0,95 где

К – норматив точности;

$\Delta X_{пр}$- погрешность определения содержания фолиевой кислоты в исходной пробе;

$\Delta X_{пр.доб}$- погрешность определения содержания фолиевой кислоты в пробе с добавкой.

Если для расчета используются относительные значения погрешностей $\Delta_{отн}$, $\Delta X_{пр.отн}$, $\Delta X_{пр.доб.отн}$, то относительное значение $К_{К\ отн}$ рассчитывается по формуле:

$$К_{Котн} = \frac{К_К}{С_{доб}}, \text{ где}$$

$К_К$ – абсолютное значение ;

$С_{доб}$ – значение добавки введенной в исходную пробу.

Точность контрольных измерений, а также точность результатов измерений рабочих проб, выполненных в условиях соблюдения требований МВИ, признается удовлетворительной, если $|К_К| \leq К$.

Если $|К_К| > К$, то точность контрольных измерений признается неудовлетворительной и процедура повторяется с использованием другой рабочей пробы. При повторном получении неудовлетворительных результатов контроля точности, выясняют и устраняют причины, приводящие к неудовлетворительному контролю.

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

ст.н.с. Л.Л. Белышева

н.с. О.В. Воронцова

мл.н.с. Е.И. Полянских

Приложение 1
(обязательное)

Значения точностных параметров методики

Число параллельных определений	**n**	2
Границы суммы неисключенной систематической погрешности	Q_i, %	1,8
Погрешность градуировочного графика	$\Delta_{гр}$, %	1,0
Доверительные границы случайной составляющей погрешности градуировочного графика	E_y	2,8
Норматив сходимости	d, %	10,0
Норматив воспроизводимости	D, %	25,0
Норматив точности	K,%	25,5
Относительная суммарная погрешность результата измерения	Δ, %	18,0
Допустимые расхождения между результатами в разных лабораториях	%	36,0

Приложение 2
(информационное)

Перечень используемой документации

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 199-78 Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия.

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

ГОСТ 3118-77 Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4204-77 Кислота серная. Технические условия

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

ГОСТ 61-75 Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 4166-76 Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4233-77 Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328-77 Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 24104-88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

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

ГОСТ 28498-90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

gost.e-ecolog.ru