***Методика зарегистрирована в Федеральном реестре методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора***

***(регистр. код* ФР.1.31.2004.01071*)***

***МУ 08-47/141***

***(по реестру аккредитованной метрологической службы Томского политехнического университета)***

# *БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ.*
## *ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВИТАМИНОВ С, $B_1$, $B_2$, Е и КВЕРЦЕТИНА*

*взамен* **МУ 08-47/115**

**Томск**

gost.e-ecolog.ru

**ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**
**ВНЕДРЕНЧЕСКАЯ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФИРМА "ЮМХ"**
**АККРЕДИТОВАННАЯ МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ СЛУЖБА ТПУ**
(аттестат об аккредитации № РОСС RU 01.00143-03 от 24.12.01)

# СВИДЕТЕЛЬСТВО ОБ АТТЕСТАЦИИ МВИ

## № 08-47/141

(взамен № 08-47/115)

Методика выполнения измерений массовых концентраций витаминов С, $B_1$, $B_2$, Е и кверцетина методом вольтамперометрии, разработанная в Томском политехническом университете и ООО «ВНП Ф «ЮМХ» и регламентированная в МУ 08-47/141 (по реестру аккредитованной метрологической службы Томского политехнического университета)

***БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ.***

***ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВИТАМИНОВ С, $B_1$, $B_2$, Е и КВЕРЦЕТИНА***

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563 (ГОСТ 8.010).

Аттестация осуществлена по результатам теоретического и экспериментального исследования МВИ.

В результате аттестации МВИ установлено, что данная МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками:

1 Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости методики при доверительной вероятности Р=0,95

| Компонент | Диапазон определяемых концентраций | Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r\left(\overset{\circ}{\delta}\right)$, % | Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R\left(\overset{\circ}{\delta}\right)$, % | Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики), δ,% |
|---|---|---|---|---|
| ***витамин С*** | 10 000 – 200 000 мг/кг<br>Или 10 – 200 г/кг<br>Или 1,0 – 20,0 % масс | *8* | *12* | *25* |
| ***витамин $B_1$*** | 50 – 10 000 мг/кг<br>Или 0,05 – 10,0 г/кг<br>Или 0,005 – 1,0 % масс | | | |
| ***витамин $B_2$*** | 100 – 3 000 мг/кг<br>Или 0,1 – 3,0 г/кг<br>Или 0,01 – 0,3 % масс. | | | |
| ***витамин Е*** | 2 000 – 30 000 мг/кг<br>Или 2 – 30 г/кг<br>Или 0,2 – 3,0 % масс | | | |
| ***кверцетин*** | 100 – 150 000 мг/кг<br>Или 0,1 до 150 г/кг<br>Или 0,01 до 15 % масс. | | | |

**2** Диапазон измерений, значения пределов повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности P=0,95

| Компонент | Диапазон определяемых концентраций | Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений), $r$ | Предел повторяемости (для четырех результатов параллельных определений), $r^*$ | Предел воспроизводимости (для двух результатов измерений), $R$ |
|---|---|---|---|---|
| ***витамин С*** | 10 000 – 200 000 мг/кг<br>Или 10 – 200 г/кг<br>Или 1,0 – 20,0 % масс | $0,22 \cdot \overline{X}$ | $0,28 \cdot \overline{X}$ | $0,34 \cdot \overline{\overline{X}}$ |
| ***витамин $B_1$*** | 50 – 10 000 мг/кг<br>Или 0,05 – 10,0 г/кг<br>Или 0,005 – 1,0 % масс | | | |
| ***витамин $B_2$*** | 100 – 3 000 мг/кг<br>Или 0,1 – 3,0 г/кг<br>Или 0,01 – 0,3 % масс. | | | |
| ***витамин Е*** | 2 000 – 30 000 мг/кг<br>Или 2 – 30 г/кг<br>Или 0,2 – 3,0 % масс | | | |
| ***кверцетин*** | 100 – 150 000 мг/кг<br>Или 0,1 до 150 г/кг<br>Или 0,01 до 15 % масс. | | | |

$\overline{X}$ - среднее арифметическое значение результатов параллельных определений массовой концентрации компонента

$\overline{\overline{X}}$ - среднеарифметическое значение результатов анализа, полученных в двух лабораториях

**3 Дата выдачи свидетельства 15 января 2004 г**

Метролог метрологической
службы ТПУ

_____Н.П.Пикула
"15" января 2004 г.

**«СОГЛАСОВАНО»**
Главный метролог ТПУ

_____Е.Н.Рузаев
"___" _____2004 г.

**«СОГЛАСОВАНО»**
Руководитель органа ГМС,
Главный метролог
ФГУ «Томский ЦСМ»

_____М.М.Чухланцева
"16" 02 2004 г.

**«УТВЕРЖДАЮ»**
Проректор по НР ТПУ

_____В.А.Власов
"25" 02 2004 г.

**«УТВЕРЖДАЮ»**
Директор ООО «ВНПФ «ЮМХ»

_____Г.Б.Слепченко
"15" января 2004 г.

**ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**ВНЕДРЕНЧЕСКАЯ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФИРМА "ЮМХ"**

**АККРЕДИТОВАННАЯ МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ СЛУЖБА ТПУ**

(аттестат об аккредитации № РОСС RU 01.00143-03 от 24.12.01)

**"УТВЕРЖДАЮ"**

Проректор по НР ТПУ

_____ В.А.Власов

"___" _____ 2004 г.

**"УТВЕРЖДАЮ"**

Директор ООО «ВНПФ «ЮМХ»

_____ Г.Б.Слепченко

"15" января 2004 г.

# *МУ 08-47/141*

*взамен* ***МУ 08-47/115***

*(по реестру аккредитованной метрологической службы)*

# *БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВИТАМИНОВ С, $B_1$, $B_2$, Е и КВЕРЦЕТИНА*

**"СОГЛАСОВАНО"**
Метролог
метрологической службы ТПУ

_____ Н.П. Пикула
"15" января 2004 г.

Томск

# 1 НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий документ (МУ 08-47/141) устанавливает методику выполнения измерений массовых концентраций витаминов при анализе проб биологически-активных добавок (БАД):

- БАД - источников: углеводов и сахаров (кисели др.),
  пищевых волокон, водорастворимых витаминов,
  макро- и микроэлементов;
- БАД на растительной основе (сухие, жидкие);
- БАД на основе переработки морепродуктов;
- БАД – бактериальные препараты;
- БАД, изготовленных в виде таблеток, капсул, гранул, растворов.

Методика выполнения измерений устанавливает порядок определения массовых концентраций ***витамина С (аскорбиновой кислоты), витамина $B_1$ (тиамина хлорида или бромида), витамина $B_2$ (рибофлавина), витамина Е (α-токоферола ацетата) и кверцетина*** методом вольтамперометрии (ВА).

Диапазоны содержаний определяемых компонентов представлены в таблице 1.

Если содержание компонентов в пробе выходит за верхнюю границу диапазона определяемых содержаний, допускается разбавление подготовленной к измерению пробы или уменьшение навески анализируемой пробы.

# 2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.019-79 ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009-83 ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

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

ГОСТ 2156-76 Реактивы. Натрий двууглекислый. Технические условия

ГОСТ 2405-88 Манометры, вакуумметры, мановакуумметры, напоромеры, тягомеры и тягонапоромеры. Общие технические условия

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4172-76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный. Технические условия

ГОСТ 5381-72 Редуктор. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7047-55 Витамины А, С, Д, $B_1$, $B_2$ и РР. Отбор проб, методы определения витаминов и испытания качества витаминных препаратов

ГОСТ 8625-77 Манометр. Технические условия

ГОСТ 9293-74 (ИСО 2435-73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 9736-68 Муфельная печь типа ПМ-8 или МР-64-0215. Технические условия

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

ГОСТ 17435-72 Линейки чертежные. Технические условия

ГОСТ 18300-87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 20015-88 Реактивы. Хлороформ. Технические условия.

ГОСТ 21400-75 Стекло химико-лабораторное. Технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 23932-90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия.

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные. Общие технические условия

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

ГОСТ 28165-89 Приборы и аппараты лабораторные из стекла. Аквадистилляторы. Испарители. Установки ректификационные. Общие технические требования

ГОСТ 29225-91 (ИСО 1775-75) Посуда и оборудование фарфоровые лабораторные. Общие требования и методы испытаний.

ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р 8.563-96 Методики выполнения измерений

ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

# 3 СУЩНОСТЬ МЕТОДИКИ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ И ОСОБЕННОСТИ ПРОБОПОДГОТОВКИ

## ➢ 3.1 Витамин С

Сущность методики выполнения измерений состоит в переводе проб биологически активных добавок (БАД) в раствор путем растворения навесок соответствующих проб в воде или растворе соляной кислоты с последующим вольтамперометрическим определением массовой концентрации витамина С (аскорбиновой кислоты).

Пробоподготовка биологически активных добавок имеет свои особенности:

- при анализе БАД в форме таблеток, содержащих флавоноиды (например, кверцетин в «Скин Лайн», производитель ООО «Арт Лайф» г.Томск), пробу растирают в фарфоровой ступке, затем измельченную навеску пробы переводят в раствор путем растворения в соляной кислоте концентрации 0,1 моль/дм$^3$ при перемешивании с добавлением кристаллического хлорида калия. Полученный осадок отделяют фильтрованием раствора через двойной бумажный фильтр с последующим вольтамперометрическим определением (ВА) массовой концентрации витамина С в фильтрате;
- при анализе БАД в форме таблеток, не содержащих флавоноиды (типа кверцетина), таблетки растирают в фарфоровой ступке, затем измельченную навеску пробы переводят в раствор путем растворения в соляной кислоте концентрации 0,01 моль/дм$^3$ при перемешивании. Полученный осадок отделяют фильтрованием раствора через двойной бумажный фильтр с последующим ВА определением массовой концентрации витамина С в фильтрате.

Метод ВА измерения основан на способности витамина С окисляться на индикаторном стеклоуглеродном электроде при определенном потенциале, характерном для данного органического вещества (компонента).

Процесс электрохимического окисления витамина С проводят в растворе хлорида калия концентраций 0,1 моль/дм$^3$, подкисленном соляной кислотой до значения pH примерно 3 – 4, либо в растворе соляной кислоты концентраций 0,1 моль/дм$^3$ (если в БАД присутствует кверцетин), на индикаторном стеклоуглеродном электроде в области потенциалов от плюс 0,45 В до плюс 0,98 В относительно насыщенного хлорсеребряного электрода (нас.х.с.э.) в зависимости от pH среды. Регистрация аналитического сигнала на вольтамперограмме проводится при линейно-меняющемся (в сторону положительных значений) потенциале на полярографах или при накопительной развертке потенциала с использованием аналитического вольтамперометрического комплекса СТА в дифференциальном режиме записи вольтамперограмм. Массовая концентрация витамина С в пробе определяется методом добавок аттестованных смесей витамина С.

## ➢ 3.2 Витамин $B_1$

Сущность методики выполнения измерений состоит в переводе проб биологически активных добавок в раствор путем растворения навесок соответствующих проб в раство-

ре соляной кислоты с последующим ВА определением массовой концентрации витамина $B_1$ (тиамина хлорида или бромида).

Метод ВА измерения основан на способности витамина $B_1$ восстанавливаться на индикаторном ртутно-пленочном электроде при определенном потенциале, характерном для данного органического вещества (компонента).

Процесс электрохимического восстановления витамина $B_1$ проводят в растворе натрия фосфорнокислого двузамещенного концентрации 0,1 моль/дм$^3$ на индикаторном ртутно-пленочном электроде при потенциале, равном (минус 1,25 - минус 1,30) В относительно нас.х.с.э. в зависимости от содержания витамина $B_1$ в пробе. Регистрация аналитического сигнала на вольтамперограмме проводится при линейно-меняющемся (в сторону отрицательных значений) потенциале на полярографах или при дифференциально-импульсной развертке потенциала с использованием аналитического вольтамперометрического комплекса СТА в дифференциальном режиме записи вольтамперограмм. Массовая концентрация витамина $B_1$ в пробе определяется методом добавок аттестованных смесей витамина $B_1$.

➢ 3.3 Витамин $B_2$

Сущность методики выполнения измерений состоит в переводе проб биологически активных добавок в раствор путем растворения навесок соответствующих проб в воде с последующим ВА определением массовой концентрации витамина $B_2$ (рибофлавина).

Метод ВА измерения основан на способности витамина $B_2$ окисляться на индикаторном стеклоуглеродном электроде при определенном потенциале, характерном для данного органического вещества (компонента).

Процесс электрохимического окисления витамина $B_2$ проводят в растворе соляной кислоты концентрации 0,01 моль/дм$^3$ на индикаторном стеклоуглеродном электроде при потенциале, равном (минус 0,20 - минус 0,15) В относительно нас.х.с.э. в зависимости от содержания витамина $B_2$ в пробе. Регистрация аналитического сигнала на вольтамперограмме проводится при линейно-меняющемся (в сторону положительных значений) потенциале на полярографах или при накопительной развертке потенциала с использованием аналитического вольтамперометрического комплекса СТА в дифференциальном режиме записи вольтамперограмм. Массовая концентрация витамина $B_2$ в пробе определяется методом добавок аттестованных смесей витамина $B_2$.

➢ 3.4 Витамин Е

Сущность методики выполнения измерений состоит в переводе витамина Е из проб биологически активных добавков в раствор путем экстракции его хлороформом с последующим вольтамперометрическим определением массовой концентрации витамина Е ($\alpha$-токоферола ацетата).

Метод ВА измерений основан на способности $\alpha$-токоферола ацетата окисляться на индикаторном стеклоуглеродном электроде при определенном потенциале, характерном для данного органического вещества (компонента).

Процесс электрохимического окисления $\alpha$-токоферола ацетата проводят в ацетонитриле на фоне перхлората натрия на индикаторном стеклоуглеродном электроде.

Регистрация аналитического сигнала на вольтамперограмме проводится при линейно-меняющемся (в сторону положительных значений) потенциале на полярографах или при постоянно-токовой развертке потенциала с использованием аналитического вольтамперометрического комплекса СТА в дифференциальном режиме записи вольтамперограмм. Потенциал пика регистрируют в диапазоне от плюс 1,3 В до плюс 1,8 В относительно ртутного электрода сравнения. Массовая концентрация витамина Е в пробе определяется методом добавок аттестованных смесей $\alpha$-токоферола ацетата.

➢ 3.5 Кверцетин

Сущность методики выполнения измерений состоит в переводе проб биологически активных добавок в раствор путем растворения навесок соответствующих проб в этиловом спирте с последующим вольтамперометрическим определением массовой концентрации кверцетина.

Метод ВА измерения основан на способности кверцетина окисляться на индикатор-

ном стеклоуглеродном электроде при определенном потенциале характерном для данного органического компонента.

Процесс электрохимического окисления кверцетина проводят в растворе соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$ на индикаторном стеклоуглеродном электроде при потенциале, равном (плюс 0,45 - плюс 0,55) В относительно нас.х.с.э. в зависимости от содержания кверцетина в пробе. Регистрация аналитического сигнала на вольтамперограмме проводится при линейно-меняющемся (в сторону положительных значений) потенциале на полярографах или при постоянно-токовой развертке потенциала с использованием аналитического комплекса СТА в дифференциальном режиме записи вольтамперограмм. Массовая концентрация кверцетина в пробе определяется методом добавок аттестованных смесей кверцетина.

Общая схема анализа проб методом вольтамперометрии представлена на рисунке 1.

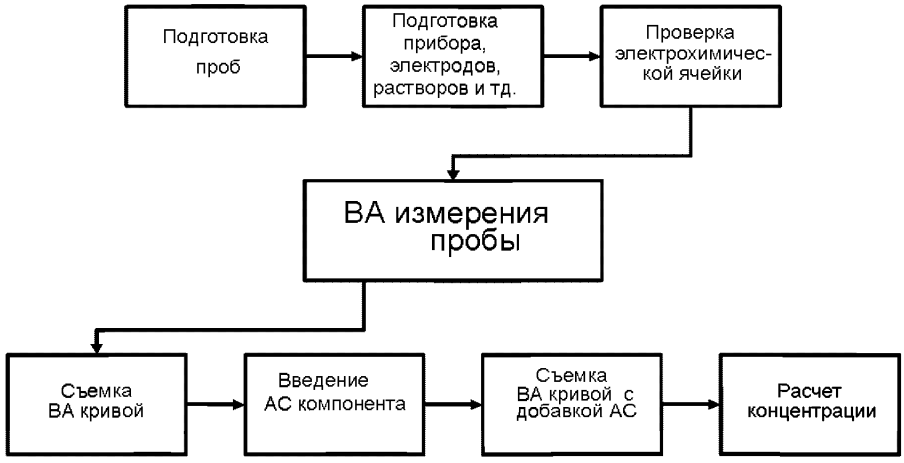



*Рисунок 1. Основные этапы анализа проб методом ВА*

## 4 ПРИПИСАННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ И ЕЕ СОСТАВЛЯЮЩИХ

4.1 Методика выполнения измерений массовых концентраций витаминов С, $B_1$, $B_2$, Е и кверцетина в пробах биологически активных добавок методом вольтамперометрии обеспечивает получение результатов измерений с погрешностью, не превышающей значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости методики при доверительной вероятности Р=0,95

| Компонент | Диапазон определяемых концентраций | Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r\left(\overset{\circ}{\delta}\right)$, % | Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R\left(\overset{\circ}{\delta}\right)$, % | Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики), $\delta$, % |
|---|---|---|---|---|
| *витамин С* | 10 000 – 200 000 мг/кг<br>Или 10 – 200 г/кг<br>Или 1,0 – 20,0 % масс | *8* | *12* | *25* |
| *витамин* | 50 – 10 000 мг/кг | | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *$B_1$* | Или 0,05 – 10,0 г/кг<br>Или 0,005 – 1,0 % масс | | | |
| *витамин $B_2$* | 100 – 3 000 мг/кг<br>Или 0,1 – 3,0 г/кг<br>Или 0,01 – 0,3 % масс. | | | |
| *витамин Е* | 2 000 – 30 000 мг/кг<br>Или 2 – 30 г/кг<br>Или 0,2 – 3,0 % масс | | | |
| *кверце-тин* | 100 – 150 000 мг/кг<br>Или 0,1 до 150 г/кг<br>Или 0,01 до 15 % масс. | | | |

4.2 Значения показателя точности методики используют при:

- оценке деятельности лабораторий на качество проведения испытаний;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики выполнения измерений в конкретной лаборатории.

## 5 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ, ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ИЗМЕРЕНИЙ

➢ 5.1 Условия безопасного проведения работ

5.1.1 При выполнении анализов необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами.

5.1.2 Электробезопасность при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

5.1.3 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

➢ 5.2 Требования к квалификации операторов

Измерения может проводить химик-аналитик, владеющий техникой вольтамперометрического анализа и изучивший инструкцию по эксплуатации используемой аппаратуры.

➢ 5.3 Условия выполнения измерений

Измерения проводят в нормальных лабораторных условиях:

- Температура окружающего воздуха (25 ± 10) °С;
- Атмосферное давление (97 ± 10) кПа;
- Относительная влажность (65 ± 15) %;
- Частота переменного тока (50 ± 5) Гц;
- Напряжение в сети (220 ± 22) В.

## 6 ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Отбор проб проводится согласно требованиям по ГОСТ 7047.

Растворы проб биологически активных добавок хранят под темным колпаком и анализируют в течение рабочего дня, так как витамины С, $B_1$, $B_2$, Е и кверцетина со временем в растворе разлагаются на свету (происходит уменьшение их концентраций в пробах).

## 7 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

При выполнении измерений используют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, посуду, материалы и реактивы:

➢ 7.1 Средства измерений и вспомогательное оборудование

7.1.1 Полярограф (РА-2, ПУ-1 или другой) в комплекте с двухкоординатным самописцем и цифровым вольтметром [1];

– или комплекс аналитический вольтамперометрический СТА [2] в комплекте с IBM-совместимым компьютером, имеющий накопительный или дифференциально-

импульсный режим развертки потенциала и имеющий возможность дифференцирования вольтамперограммы в виде первой производной (использование по приложениям Б, В, Г, Д и Е).

Допускается использовать другое оборудование и приборы, позволяющие воспроизводить технические и метрологические характеристики, указанные в данной методике анализа.

7.1.2 Электроды (поставляются заказчику в готовом виде):

***Для определения витаминов С, $B_2$ и кверцетина:***

- индикаторный электрод - стеклоуглеродный с рабочей поверхностью 25 -30 мм$^2$;
- электрод сравнения – хлоридсеребряный в насыщенном растворе хлорида калия (нас.х.с.) [3] с сопротивлением не более 3,0 кОм.
- вспомогательный электрод - хлоридсеребряный в насыщенном растворе хлорида калия (нас.х.с.) [3] с сопротивлением не более 3,0 кОм.

***Для определения витаминов $B_1$:***

- индикаторный электрод – ртутно-пленочный электрод на серебряной подложке с толщиной пленки ртути 10 - 20 мкм и рабочей поверхностью 0,03 - 0,20 см$^2$;
- электрод сравнения – хлоридсеребряный в насыщенном растворе хлорида калия (нас.х.с.) [3] с сопротивлением не более 3,0 кОм.
- вспомогательный электрод - хлоридсеребряный в насыщенном растворе хлорида калия (нас.х.с.) [3] с сопротивлением не более 3,0 кОм

***Для определения витамина Е:***

- индикаторный электрод - стеклоуглеродный с рабочей поверхностью 25 -30 мм$^2$;
- электрод сравнения – ртутный электрод;
- вспомогательный электрод - стеклоуглеродный с рабочей поверхностью 25 – 30 мм$^2$.

7.1.3 Электролитическая ячейка, в состав которой входят:

- сменные стаканчики из кварцевого стекла вместимостью 20 - 25 см$^3$;
- стеклянная или тефлоновая трубка с оттянутым концом для подвода инертного газа для удаления кислорода из раствора и его перемешивания.

7.1.4 Редуктор по ГОСТ 5381 с манометром (250 ± 1) атм по ГОСТ 8625.

7.1.5 Весы лабораторные аналитические общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г, 2-го класса точности по ГОСТ 24104.

7.1.6 Дозаторы пипеточные емкостью 0,01 - 1,00 см$^3$ (10 - 1000 мкл) типа П1 или другого типа.

7.1.7 Муфельная печь типа ПМ - 8 или МР - 64 - 02 15 по ГОСТ 9736;

или электропечь сопротивления камерная лабораторная, обеспечивающая поддержание заданного температурного режима от 150 °С до 600 °С с погрешностью ± 25 °С;

или комплекс пробоподготовки “Темос-Экспресс” с диапазоном рабочих температур от 50 °С до 650 °С с погрешностью измерений ±15 °С (изготовитель ООО “ИТМ”, г.Томск).

7.1.8 Аппарат для дистилляции воды АСД-4 по ГОСТ 15150.

7.1.9 Шланги резиновые для подвода газа к ячейке (при использовании инертного газа).

7.1.10 Линейка чертежная мерительная по ГОСТ 17435.

7.1.11 Темный бокс или светозащитная бумага.

7.1.12 Щипцы тигельные [4].

➢ 7.2 Посуда

7.2.1 Пипетки мерные лабораторные стеклянные 2-го класса точности вместимостью 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 см$^3$ по ГОСТ 29227.

7.2.2 Посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности по ГОСТ 1770: колбы вместимостью, 25,0; 50,0; 100,0 см$^3$, цилиндры вместимостью 25,0 см$^3$.

7.2.3 Палочки стеклянные по ГОСТ 21400.

7.2.4 Воронки лабораторные стеклянные по ГОСТ 25336.

7.2.5 Ступка фарфоровая с пестиком по ГОСТ 29225.

7.2.6 Аппарат Сокслета [5], состоящий из экстрактора, водяного холодильника, водяной бани.

➢ 7.3 Реактивы и материалы

7.3.1 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

7.3.2 Хлорид калия [3].

7.3.3 Кислота аскорбиновая (порошок) по ГОСТ 6245 (ИСО 6557/1-86 и ИСО 6557/2-84) или кислота аскорбиновая в ампулах жидкая Гос.фармакопея -10. ст.N6

7.3.4 Фармакопейный препарат: сухой порошок кверцетина с содержанием основного компонента не менее 99,5 %.

7.3.5 Фармакопейный препарат: сухой порошок витамина $B_1$ (тиамин хлорид (бромид) с содержанием основного компонента не менее 99,5 %.

7.3.6 Фармакопейный препарат: сухой порошок витамина $B_2$ (рибофлавин) с содержанием основного компонента не менее 99,5 %.

7.3.7 ГСО $\alpha$-токоферола ацетата ( ФС 42-1522-88 ).

7.3.8 Кислота соляная концентрированная по ГОСТ 14261 ос.ч. или по ГОСТ 3118 х.ч.

7.3.9 Натрия гидроксид [6].

7.3.10 Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный по ГОСТ 4172.

7.3.11 Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

7.3.12 Хлороформ по ГОСТ 20015.

7.3.13 Ацетонитрил [7].

7.3.14 Натрий хлорнокислый [8].

7.3.15 Азот газообразный по ГОСТ 9293 с массовой долей кислорода не более 0,03 %.

7.3.16 Фильтры беззольные любой марки по ГОСТ 12026.

7.3.17 Бумага масштабно-координатная.

Допускается использовать другое оборудование и приборы, позволяющие воспроизводить метрологические характеристики, указанные в данной методике.

## 8 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

При подготовки к выполнению измерений проводят следующие работы:

➢ 8.1 Подготовка приборов к работе

Подготовку и проверку полярографа, самописца и цифрового вольтметра проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническому описанию соответствующего прибора.

8.1.1 Устанавливают режим работы приборов ***(на примере серийных полярографов):***

| Параметры | *Определяемый компонент* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **витамин С** | **витамин $B_1$** | **витамин $B_2$** | **кверцетин** | **витамин Е** |
| - тип развертки потенциала | *накопительный* | *дифференциально-импульсный* | *накопительный* | *постоянно-токовый* | *постоянно-токовый* |
| - электроды: рабочий сравнения | СУЭ нас.х.с.э | *РПЭ* нас.х.с.э. | СУЭ нас.х.с.э | СУЭ нас.х.с.э | СУЭ РЭ* |
| - фоновой электролит | *KCl*, подкисленный *HCl* | $Na_2HPO_4$ *0,1 моль/дм³* | *HCl* 0,01 моль/дм³ | *HCl* 0,1 моль/дм³ | $NaClO_4$ 0,1 моль/дм³ в ацетонитриле |

| Параметры | *Определяемый компонент* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **витамин С** | **витамин $B_1$** | **витамин $B_2$** | **кверцетин** | **витамин Е** |
| - потенциал накопления, В | - 0,30 | ***-0,80*** | -0,50 | -0,10 | +1,0 |
| - диапазон развертки пот-лов (от начала регистрации ВА кривой до конечного напряжения развертки), В | От – 0,10 до +1,00 | ***От – 1,00 до –1,60*** | От – 0,50 до 0,10 | От –0,10 до +1,00 | От +1,0 до +2,0 |
| - скорость линейного изменения потенциала, мВ/с | 15 | ***10*** | 15 | 25 | 30 |
| - чувствительность прибора при регистрации вольтамперограммы, А/мм | $4 \cdot 10^{-9}$...$5 \cdot 10^{-10}$ А/мм (в зависимости от содержания компонента в анализируемой пробе); | | | | |
| - время электролиза, с | 30 | | | | 20 |
| - потенциалы пиков, В | от +0,45 до +0,98 в зависимости от pH раствора | ***от –1,25*** до –1,30 | от –0,20 до –0,15 | от +0,45 до +0,55 | от +1,3 до +1,8 |
| ** Ртутный электрод для определения витамина Е* | | | | | |

➢ 8.2 Проверка и подготовка лабораторной посуды

8.2.1 Лабораторную стеклянную посуду, сменные наконечники дозаторов, пипетки протирают фильтром с питьевой содой, промывают многократно дистиллированной водой и высушивают в сушильном шкафу.

8.2.2 Проверку стаканчиков для анализа на чистоту проводят путем регистрации вольтамперограмм раствора фонового электролита по 9.1. Для этого их предварительно многократного ополаскивают дистиллированной водой (при анализе витамина Е – хлороформом) и раствором фонового электролита.

Оптимальными по чистоте являются реактивы и посуда, когда наблюдается практическое отсутствие аналитических сигналов органического соединения в растворе фонового электролита (пик менее 2 мм при чувствительности прибора $1 \cdot 10^{-9}$ А/мм).

➢ 8.3 Приготовление и проверка работы индикаторного электрода и электрода сравнения

8.3.1 Подготовка индикаторного стеклоуглеродного электрода (СУЭ)

В работе используют игольчатый электрод. Игольчатый индикаторный электрод изготавливают из стекловидного графита, вклеенного в полиэтиленовую трубку. Индикаторный стеклоуглеродный электрод представляет собой стеклоуглеродный стержень диаметром 2 мм и длиной 10 - 15 мм, запрессованный в полиэтиленовый держатель (поставляется потребителю в готовом виде).

Перед работой боковую поверхность и торец электрода шлифуют на фильтре; выдерживают 2 - 5 мин в этиловом спирте (для удаления поверхностно-активных веществ, а также для очистки от адсорбированных частиц).

8.3.2 Подготовка индикаторного ртутно-пленочного электрода

Индикаторный ртутно-пленочный электрод представляет собой полиэтиленовый стержень с запрессованной серебряной проволокой диаметром 0,8 – 1,0 мм длиной 5 – 7 мм, площадь поверхности составляет около 0,16 – 0,20 $см^2$. Для подготовки электрода к работе проводят амальгамирование, то есть нанесение на поверхность серебра пленки ртути толщиной 10 – 20 мкм. Покрытие ртутью производят путем опускания рабочей части электрода (серебряной проволоки) в металлическую ртуть на 2 – 3 с, затем ртуть растирают фильтровальной бумагой для равномерного распределения по поверхности серебра. В том случае, если на конце серебряной проволоки "свисает" избыточное количество ртути в виде капли, ее удаляют мокрой фильтровальной бумагой или стряхиванием в бюкс со ртутью, покрытой водой. Электрод промывают бидистиллированной водой.

Процедуру амальгамирования рабочей поверхности электрода повторяют при появлении не амальгамированных участков на поверхности электрода. При образовании серого налета на поверхности, электрод протирают фильтровальной бумагой.

После проведения анализа электроды обмывают бидистиллированной водой и хранят в стаканчике с бидистиллированной водой.

8.3.3 Для определения массовой концентрации витамина Е в качестве электрода сравнения используют ртутный электрод. Внутреннюю пористую часть патрона электрода (предоставляется заказчику в готовом виде) заполняют перхлоратом натрия в ацетонитриле. Далее заполняют металлической ртутью (около 0,2 $см^3$) и снова приливают раствор перхлората натрия в ацетонитриле. Электрод сравнения выдерживают не менее 2 ч в ацетонитриле.

8.3.4 Подготовка к работе электрода сравнения

В качестве электрода сравнения используют насыщенный хлоридсеребряный электрод.

Электрод сравнения заполняют насыщенным раствором хлорида калия. При первом заполнении электрод выдерживают не менее 48 ч.

8.3.5 Проверку работы индикаторных электродов и электродов сравнения проводят в соответствии с 9.1 настоящей методики.

➢ 8.4 Приготовление растворов

8.4.1 Основной раствор (ОР) ***витамина С***, содержащий 1000 мг/$дм^3$ аскорбиновой кислоты

а) Приготовление из ампул, выпускаемых медицинской промышленностью (5% раствора 1,0 $см^3$)

В мерную колбу вместимостью 25,0 $см^3$ вводят 0,5 $см^3$ раствора аскорбиновой кислоты из ампулы и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

б) Приготовление из сухого порошка аскорбиновой кислоты

На аналитических весах берут навеску (0,025 ± 0,001) г аскорбиновой кислоты (витамина С) и переносят в мерную колбу вместимостью 25,0 $см^3$ и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

Стандартные растворы, приготовленные из ампул и сухого порошка витамина С, идентичны.

Основной раствор готовят не ранее, чем за 2 ч до проведения измерений. Хранить долго не рекомендуется, т.к. аскорбиновая кислота неустойчива и с течением времени разлагается. Поэтому стандартный раствор готовят в малых объемах для работы с ним в течение одних суток.

Основной раствор содержащий 1000 мг/$дм^3$ витамина С является одновременно аттестованной смесью (АС) этого компонента.

8.4.2 Основной раствор (ОР) ***витамина $B_1$***, содержащий 1000 мг/$дм^3$ витамина $B_1$

На аналитических весах берут навеску (0,050 ± 0,001) г витамина $B_1$ (тиамина хлорид или тиамина бромида), переносят в мерную колбу вместимостью 50,0 $см^3$, добавляют

около 10 – 15 см$^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,10 моль/дм$^3$, перемешивают до полного растворения порошка тиамина хлорида или тиамина бромида и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

Основной раствор, содержащий 1000 мг/дм$^3$ витамина $B_1$, является одновременно АС этого компонента.

8.4.3 Основной раствор (ОР) ***витамина $B_2$***, содержащий 100 мг/дм$^3$ витамина $B_2$

На аналитических весах берут навеску (0,0100 ± 0,0002) г витамина $B_2$ (рибофлавина), переносят в мерную колбу вместимостью 100,0 см$^3$, добавляют 10,0 см$^3$ раствора гидроксида натрия концентрации 0,10 моль/дм$^3$, перемешивают до полного растворения порошка рибофлавина и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

Основной раствор, содержащий 100 мг/дм$^3$ витамина $B_2$, является одновременно АС этого компонента.

8.4.4 Основной раствор (ОР) ***кверцетина***, содержащий 200 мг/дм$^3$ кверцетина

На аналитических весах берут навеску (0,010 ± 0,001) г кверцетина, переносят в мерную колбу вместимостью 50,0 см$^3$, приливают приблизительно 30,0 см$^3$ этилового спирта. После полного растворения кверцетина объем колбы доводят до метки этиловым спиртом.

Основной раствор, содержащий 200 мг/дм$^3$ кверцетина, является одновременно АС этого компонента.

8.4.5 Основной раствор (ОР) ***витамина Е***, содержащий 1000 мг/дм$^3$ α-токоферола ацетата

На аналитических весах берут навеску (0,025 ± 0,001) г α-токоферола ацетата (витамина Е), переносят в мерную колбу вместимостью 25,0 см$^3$, приливают 10,0 см$^3$ хлороформа и доводят объем до метки ацетонитрилом.

8.4.6 Раствор фонового электролита *для витамина С* - раствор хлорида калия концентрации 0,1 моль/дм$^3$, подкисленный раствором соляной кислоты концентраций 0,1 моль/дм$^3$ до pH 3 - 4

На аналитических весах взвешивают навеску (7,50 ± 0,01) г хлорида калия, переносят в мерную колбу вместимостью 1,0 дм$^3$, растворяют в небольшом количестве бидистиллированной воды, приливают 20,0 см$^3$ соляной кислоты концентраций 0,1 моль/дм$^3$ и доводят бидистиллированной водой до метки.

8.4.7 Раствор соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$

В мерную колбу вместимостью 100,0 см$^3$ примерно на половину заполненную бидистиллированной водой вносят 0,80 см$^3$ концентрированной соляной кислоты, тщательно перемешивают и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

8.4.8 Фоновый электролит *для витамина $B_1$* - раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного концентрации 0,10 моль/дм$^3$

На аналитических весах взвешивают навеску (35,8 ± 0,1) г натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного, переносят в мерную колбу вместимостью 1,0 дм$^3$, растворяют в небольшом количестве бидистиллированной воды и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

8.4.9 Фоновый электролит *для витамина $B_2$* - раствор соляной кислоты концентрации 0,01 моль/дм$^3$

В мерную колбу вместимостью 100,0 см$^3$ примерно наполовину заполненную бидистиллированной водой вносят (0,080 – 0,10) см$^3$ концентрированной соляной кислоты, перемешивают и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

8.4.10 Фоновый электролит *для кверцетина* - раствор соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$ приготовленный по 8.4.7.

8.4.11 Фоновый электролит *для витамина Е* – раствор перхлората натрия концентрации 0,1 моль/дм$^3$ в ацетонитриле

В мерную колбу вместимостью 50,0 см$^3$ вносят (0,610 ± 0,010) г перхлората натрия, растворяют в небольшом количестве ацетонитрила и доводят объем до метки ацетонитрилом.

8.4.12 Раствор гидроксида натрия концентрации 0,10 моль/дм$^3$

Навеску (0,40 ± 0,01) г гидроксида натрия переносят в мерную колбу вместимостью 100,0 см$^3$, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и доводят объем до метки дистиллированной водой.

➢ 8.5 Подготовка проб

8.5.1 ***Подготовка проб БАД для определения массовой концентрации витамина С***

В фарфоровую ступку помещают 5 таблеток БАД, растирают фарфоровым пестиком до однородной дисперсной смеси. Берут навеску растертой смеси БАД в количестве 1,000 г, взвешенной с точностью до 0,001 г и переносят в коническую колбу вместимостью 200 – 250 см$^3$. Добавляют 85 см$^3$ бидистиллированной воды и 15 см$^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$, 1 – 2 г кристаллического хлорида калия, растворяют, перемешивают, выдерживают 10 – 15 мин и отфильтровывают полученный раствор через двойной бумажный фильтр. Объем фильтрата измеряют мерным цилиндром и доводят объем раствора до 100,0 см$^3$ бидистиллированной водой. Фильтрат является подготовленной пробой для вольтамперометрического измерения массовой концентрации витамина С.

Если проба БАД содержит кверцетин, то пробоподготовку проводят аналогично описанному выше. Однако вместо 15,0 см$^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$ и 85 см$^3$ бидистиллированной воды вводят 100,0 см$^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$, не разбавляя её бидистиллированной водой.

8.5.2 ***Подготовка проб БАД для определения массовой концентрации витамина $B_1$***

В фарфоровую ступку помещают 3 - 5 таблеток БАД, растирают фарфоровым пестиком до однородной дисперсной смеси. Навеску растертой смеси БАД в количестве 1,000 - 3,000 г, взвешенной с точностью до 0,001 г переносят в коническую колбу вместимостью 200 - 250 см$^3$. Добавляют 25,0 см$^3$ бидистиллированной воды и 25,0 см$^3$ раствора соляной кислоты концентрации 0,10 моль/дм$^3$, перемешивают и оставляют на 30 мин, периодически встряхивая содержимое колбы. Отстоявшийся раствор отфильтровывают через бумажный фильтр. Объем фильтрата измеряют мерным цилиндром и доводят объем раствора до 50,0 см$^3$ бидистиллированной водой. Фильтрат является подготовленной пробой для вольтамперометрического измерения массовой концентрации витамина $B_1$.

8.5.3 ***Подготовка проб БАД для определения массовой концентрации витамина $B_2$***

В фарфоровую ступку помещают 3 - 5 таблеток БАД, растирают фарфоровым пестиком до однородной дисперсной смеси. Навеску растертой смеси БАД в количестве 1,000 - 3,000 г, взвешенной с точностью до 0,001 г, переносят в колбу вместимостью 200 - 250 см$^3$. Добавляют 75,0 см$^3$ бидистиллированной воды и 5,0 см$^3$ раствора гидроксиди натрия концентрации 0,1 моль/дм$^3$ , перемешивают и оставляют на 2 ч, периодически встряхивая содержимое колбы. Отстоявшийся раствор отфильтровывают через бумажный фильтр. Объем фильтрата измеряют мерным цилиндром и доводят объем раствора до 50,0 см$^3$ бидистиллированной водой. Фильтрат является подготовленной пробой для вольтамперометрического измерения массовой концентрации витамина $B_2$.

8.5.4 ***Подготовка проб БАД для определения массовой концентрации кверцетина***

В фарфоровую ступку помещают 3 - 5 таблеток БАД, растирают фарфоровым пестиком до однородной дисперсной смеси. Навеску растертой смеси БАД в количестве 0,100 - 1,000 г, взвешенной с точностью до 0,001 г переносят в колбу вместимостью 200 - 250 $см^3$. Добавляют 25,0 $см^3$ этилового спирта, перемешивают и оставляют на 2 ч, периодически встряхивая содержимое колбы. Отстоявшийся раствор отфильтровывают через бумажный фильтр. Объем фильтрата измеряют мерным цилиндром и доводят объем раствора до 25,0 $см^3$ этиловым спиртом. Фильтрат является подготовленной пробой для вольтамперометрического измерения массовой концентрации кверцетина.

8.5.5 ***Подготовка проб БАД для определения массовой концентрации витамина Е***

В фарфоровую ступку помещают 3 - 5 таблеток БАД, растирают фарфоровым пестиком до однородной дисперсной смеси. Навеску растертой смеси БАД в количестве 1,000 - 2,000 г, взвешенной с точностью до 0,001 г, помещают в футляр из фильтровальной бумаги. Экстракцию α-токоферола ацетата ведут в аппарате Сокслета. В верхнюю часть экстрактора аппарата Сокслета помещают навеску пробы в футляре, в нижнюю наливают 20 $см^3$ хлороформа. Экстракцию проводят в течение 30 мин. Хлороформенный экстракт охлаждают, объем экстракта измеряют мерным цилиндром. Для вольтамперометрического определения берут аликвоту экстракта.

8.5.6 Обобщение этапов пробоподготовки при анализе проб БАД на содержание витаминов С, $B_1$, $B_2$, Е и кверцетина представлено на рисунке 2.

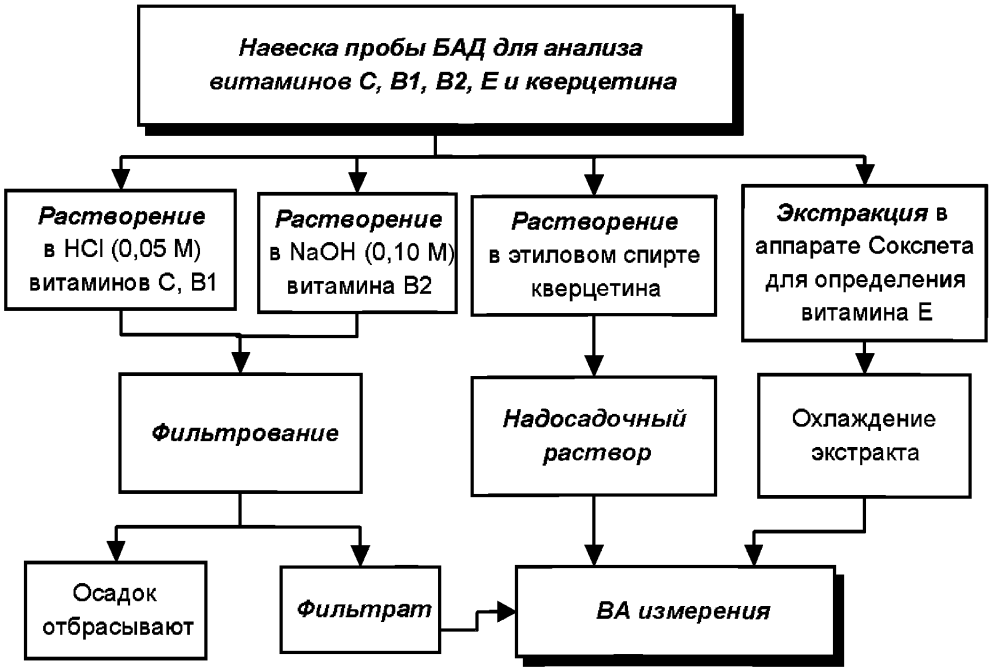



*Рисунок 2. Схема пробоподготовки*

8.5.7 При анализе проб биологически активных добавок «холостую» пробу делать не обязательно, так как витамины С, $B_1$, $B_2$, Е и кверцетин как загрязнение ни в реактивах, ни в воде не обнаружены. Посуда отмывается от витаминов С, $B_1$, $B_2$, Е и кверцетина очень легко по 8.2.

## 9 ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

Выполнение измерений с использованием аналитического вольтамперометрического комплекса СТА проводят по приложению Б, В , Г, Д и Е .

При проведении анализов проб БАД для определения массовых концентраций витаминов С, В1, В2, кверцетина и витамина Е методом ВА выполняют следующие операции (***на примере серийного полярографа):***

Полярограф предварительно должен быть подготовлен по 8.1.1.

➢ 9.1 Проверка стаканчиков, фонового раствора и электрода на чистоту

9.1.1 В подготовленный чистый кварцевый стаканчик (по 8.2) вместимостью 20 - 25 $см^3$ с помощью пипетки вносят 10,0 $см^3$ раствора фонового электролита:

- раствора хлорида калия концентрации 0,1 моль/$дм^3$ подкисленного раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/$дм^3$ до pH 3 - 4 ***для витамина С***;
- раствора натрия фосфорнокислого двузамещенного концентрации 0,1 моль/$дм^3$ ***для витамина $B_1$***;
- раствора соляной кислоты концентрации 0,01 моль/$дм^3$ ***для витамина $B_2$***;
- раствора соляной кислоты концентрации 0,1 моль/$дм^3$ ***для кверцетина***;
- ацетонитрила с добавлением 0,3 $см^3$ раствора перхлората натрия в ацетонитриле концентрации 0,1 моль/$дм^3$ ***для витамина Е.***

Стаканчик с раствором фонового электролита помещают в электролитическую ячейку или датчик.

9.1.2 Опускают в раствор индикаторный электрод, вспомогательный электрод и электрод сравнения.

Подключают к прибору электроды, устанавливают потенциал:

- минус 0,30 В (для витамина С),
- минус 0,80 В (для витамина $B_1$),
- минус 0,50 В (для витамина $B_2$),
- плюс 1,0 В (для витамина Е),
- минус 0,10 В (для кверцетина).

9.1.3 Устанавливают чувствительность прибора $4 \cdot 10^{-9} ... 5 \cdot 10^{-10}$ А/мм. Включают газ и в течение 180 с удаляют из раствора кислород пропусканием азота.

9.1.4 Проводят процесс электронакопления при потенциале:

- минус 0,30 В (для витамина С),
- минус 0,80 В (для витамина $B_1$),
- минус 0,50 В (для витамина $B_2$)
- плюс 1,0 В (для витамина Е),
- минус 0,10 В (для кверцетина).

в течение 30 с при перемешивании раствора.

9.1.5 По окончании электролиза отключают газ и через 10 с начинают регистрацию вольтамперограммы в диапазоне потенциалов

- от плюс 0,10 до плюс 1,50 В (для витамина С);
- от минус 1,00 до минус 1,60 В (для витамина $B_1$);
- от минус 0,50 до плюс 0,10 В (для витамина $B_2$);
- от плюс 1,00 до плюс 2,00 В (для витамина Е);
- от плюс 0,10 до плюс 1,00 В (для кверцетина).

Потенциал анодного пика ***витамина С*** находится в диапазоне от плюс 0,45 В до плюс 1,00 В (в зависимости от содержания витамина С и pH раствора подготовленной пробы).

Потенциал катодного пика ***витамина $B_1$*** находится в диапазоне от минус 1,25 до минус 1,30 В (в зависимости от содержания витамина В1).

Потенциал анодного пика ***витамина $B_2$*** находится в диапазоне от минус 0,20 до минус 0,15 В (в зависимости от содержания витамина В2 и pH раствора подготовленной про-

бы).

Потенциал анодного пика ***витамина Е*** находится в диапазоне от плюс 1,30 до плюс 1,80 В (в зависимости от содержания витамина Е).

Потенциал анодного пика ***кверцетина*** находится в диапазоне от плюс 0,45 В до плюс 0,55 В (в зависимости от содержания кверцетина).

9.1.6 После регистрации вольтамперограммы для ***витаминов С, $B_2$, Е и кверцетина*** стеклоуглеродный электрод вынимают из электрохимической ячейки, ополаскивают дистиллированной водой, опускают на 2 – 3 с в этиловый спирт (в стаканчике), протирают рабочую поверхность электрода фильтрованной бумагой (при анализе витамина Е рабочую поверхность стеклоуглеродного электрода протирают только фильтровальной бумагой) и снова подключают индикаторный электрод к прибору.

9.1.7 Повторяют операции по 9.1.4 - 9.1.6 три раза.

9.1.8 При наличии на вольтамперограмме сигнала определяемого компонента с высотой пика менее 2 мм стаканчик, фоновый раствор и электроды считают готовыми к проведению измерений. В противном случае проводят очистку электродов или стаканчика и повторяют операции по 9.1.1 - 9.1.7.

9.1.9 Отключают электроды от прибора, вынимают стаканчик с раствором из ячейки или датчика и выливают содержимое стаканчика.

***Примечание***: При анализе проб на содержание витамина Е содержимое стаканчика выливают в склянку для слива органических веществ.

➢ 9.2 ВА измерения раствора подготовленной пробы БАД

9.2.1 В кварцевый стаканчик, подготовленный к проведению ВА измерений по 9.1, помещают:

***для витамина С*** - аликвоту полученного фильтрата анализируемой пробы объемом (0,10 – 0,02) $см^3$ (подготовленного к измерению по 8.5 - для витамина С), доводят объем пробы до 10,0 $см^3$ раствором фонового электролита (хлорида калия концентрации 0,1 $моль/дм^3$ подкисленного раствором соляной кислоты концентрации 0,1 $моль/дм^3$ до pH 3 - 4);

***для витамина $B_1$*** - аликвоту полученного фильтрата анализируемой пробы объемом (1,00 – 3,00) $см^3$ (подготовленного к измерению по 8.5 - для витамина $B_1$), доводят объем пробы до 10,0 $см^3$ раствором фонового электролита (раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного концентрации 0,1 $моль/дм^3$);

***для витамина $B_2$*** – аликвоту полученного фильтрата анализируемой пробы объемом (0,10 – 0,02) $см^3$ (подготовленного к измерению по 8.5 - для витамина $B_2$), доводят объем пробы до 10,0 $см^3$ раствором фонового электролита (раствор соляной кислоты концентрации 0,01 $моль/дм^3$);

***для витамина Е*** - аликвоту полученного экстракта анализируемой пробы объемом (0,05 – 3,00) $см^3$ (подготовленного к измерению по 8.5 - для витамина Е), доводят объем пробы до 10,0 $см^3$ раствором фонового электролита (ацетонитрилом с добавлением 0,3 $см^3$ раствора перхлората натрия в ацетонитриле концентрации 0,1 $моль/дм^3$);

***для кверцетина*** - аликвоту полученного фильтрата анализируемой пробы объемом (0,10 – 0,02) $см^3$ (подготовленного к измерению по 8.5 - для кверцетина), доводят объем пробы до 10,0 $см^3$ раствором фонового электролита (раствор соляной кислоты концентрации 0,1 $моль/дм^3$).

9.2.2 Помещают стаканчик с анализируемым раствором в электролитическую ячейку или датчик.

9.2.3 Повторяют последовательно операции по 9.1.2 - 9.1.7.

9.2.4 Если высота анодных пиков витаминов С, $B_2$, Е и кверцетина или катодного пика витамина $B_1$ превышает 200 мм, то уменьшают чувствительность прибора.

Если высота анодного пика витаминов С, $B_2$, Е и кверцетина или катодного пика витамина $B_1$ будет меньше 5 мм, то увеличивают чувствительность прибора.

9.2.5 Операции по 9.1.4 - 9.1.7 повторяют три раза.

9.2.6 Измеряют линейкой высоты пиков определяемого компонента.

9.2.7 В стаканчик с анализируемым раствором с помощью пипетки или дозатора вносят добавку аттестованной смеси соответствующего компонента (витамина С, или $B_1$, или $B_2$, или Е, или кверцетина) в таком объеме, чтобы высота пика на вольтамперной кривой увеличилась примерно в два раза по сравнению с первоначальной.

Добавку вносят в малом объеме, чтобы предотвратить изменение концентрации фонового раствора. Рекомендуемые добавки аттестованной смеси известной концентрации приведены в таблицах 2а, 2б, 2в, 2г и 2д.

Для возможности представления значений содержания компонента в пробах биологически активных добавок диапазоны определяемых концентраций в таблице 2а приведены в мг/кг, г/кг и в % масс., в остальных таблицах – только в мг/кг.

Таблица 2а - Рекомендуемые добавки аттестованных смесей ***витамина С*** при анализе проб биологически активных добавок

| Диапазон определяемых концентраций компонента, мг/кг | 10000 - 50000 | 50000 - 100000 | 100000 - 200000 |
|---|---|---|---|
| Диапазон определяемых концентраций компонента, г/кг | 10 - 50 | 50 - 100 | 100 - 200 |
| Диапазон определяемых концентраций компонента, % масс. | 1,0 - 5,0 | 5,0 - 10,0 | 10,0 - 20,0 |
| Время электролиза, с | 30 | 30 | 30 |
| Навеска пробы, г | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Объем аликвоты растворенной пробы для измерения, $см^3$ | 1,0 - 0,05 | 0,05 | 0,02 |
| Концентрация аттестованной смеси для добавок, $мг/дм^3$ | 1000 | 1000 | 1000 |
| Рекомендуемый объем добавок аттестованных смесей, $см^3$ | 0,1 - 0,025 | 0,025 - 0,05 | 0,02 - 0,05 |

Таблица 2б - Рекомендуемые добавки аттестованных смесей ***витамина $B_1$*** при анализе проб биологически активных добавок

| Диапазон определяемых концентраций компонента, мг/кг | 50 - 1000 | 1000 - 10 000 |
|---|---|---|
| Время электролиза, с | 30 | 30 |
| Навеска пробы, г | 3,0 - 1,0 | 1,0 - 0,50 |
| Объем аликвоты растворенной пробы для измерения, $см^3$ | 3,0 - 1,0 | 0,10 - 0,20 |
| Концентрация аттестованной смеси для добавок, $мг/дм^3$ | 1000 | 1000 |
| Рекомендуемый объем добавок аттестованных смесей, $см^3$ | 0,025 - 0,020 | 0,02 |

Таблица 2в - Рекомендуемые добавки аттестованных смесей ***витамина $B_2$*** при анализе проб биологически активных добавок

| Диапазон определяемых концентраций компонента, мг/кг | 100 - 1000 | 1000 - 3 000 |
|---|---|---|
| Время электролиза, с | 30 | 30 |
| Навеска пробы, г | 3,0 | 1,0 |
| Объем аликвоты растворенной пробы для измерения, $см^3$ | 0,3 - 1,0 | 0,10 - 0,03 |
| Концентрация аттестованной смеси для добавок, $мг/дм^3$ | 100 | 100 |

| | | |
|---|---|---|
| Рекомендуемый объем добавок аттестованных смесей, $см^3$ | 0,05 - 0,03 | 0,03 - 0,01 |

Таблица 2г - Рекомендуемые добавки аттестованных смесей ***витамина Е*** при анализе проб биологически активных добавок

| | | |
|---|---|---|
| Диапазон определяемых концентраций компонента, мг/кг | 2000 - 10 000 | 10 000 - 30 000 |
| Время электролиза, с | 20 | 20 |
| Навеска пробы, г | 2,0 | 1,0 |
| Объем полученной пробы, $см^3$ | 20 | 20 |
| Объем аликвоты растворенной пробы для измерения, $см^3$ | 0,2 - 0,05 | 0,05 - 0,02 |
| Концентрация аттестованной смеси для добавок, $мг/дм^3$ | 1000 | 1000 |
| Рекомендуемый объем добавок аттестованных смесей, $см^3$ | 0,02 - 0,05 | 0,02 - 0,05 |

Таблица 2д - Рекомендуемые добавки аттестованных смесей ***кверцетина*** при анализе проб биологически активных добавок

| | | | |
|---|---|---|---|
| Диапазон определяемых концентраций компонента, мг/кг | 100 - 1000 | 1 000 - 10 000 | 10 000 - 150 000 |
| Время электролиза, с | 30 | 30 | 30 |
| Навеска пробы, г | 0,50 | 0,50 | 0,50 - 0,25 |
| Объем аликвоты растворенной пробы для измерения, $см^3$ | 0,2 - 0,1 | 0,10 - 0,02 | 0,02 - 0,01 |
| Концентрация аттестованной смеси для добавок, $мг/дм^3$ | 200 | 200 | 200 |
| Рекомендуемый объем добавок аттестованных смесей, $см^3$ | 0,01 - 0,02 | 0,01 - 0,05 | 0,05 |

9.2.8 Проводят электронакопление и регистрацию вольтамперограмм по 9.1.4 - 9.1.7 три раза.

9.2.9 Измеряют высоты пиков витамина С, или $B_1$, или $B_2$, или Е, или кверцетина в пробе с добавкой аттестованных смесей.

9.2.10 Выливают содержимое стаканчика.

9.2.11 Стаканчик протирают фильтром с питьевой содой, промывают дистиллированной водой или фоновым раствором.

***Примечание:*** При определении массовой концентрации витамина Е стаканчик ополаскивают хлороформом.

9.2.12 Операции по 9.2.1 - 9.2.11 проводят для каждой из параллельных анализируемых проб в одинаковых условиях.

9.2.13 При выполнении анализа по настоящей методике рекомендуется ведение записей условий анализа в рабочем журнале и регистрация вольтамперограммы на ленте самописца с указанием пробы и условий анализа согласно таблице 3.

Таблица 3 - Рекомендуемая форма записи результатов измерений при анализе проб

| Определяемый компонент | Анализируемая проба (характеристика, номер, дата...) | Условия измерений (чувствительность; время электролиза ; объем аликвоты) | Высота пика компонента в пробе, мм, или ток, А | Добавка АС: Vд $см^3$, $С_{доб}$ $мг/дм^3$. | Высота пика компонента после добавки АС, мм, или ток, А |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |
| | | | | | |

## 10 ВЫЧИСЛЕНИЕ И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

При использовании вольтамперометрического анализатора в комплекте с компьютером регистрацию и обработку результатов измерений аналитических сигналов и расчет массовых концентраций компонента в пробе (мг/кг) выполняет система сбора и обработки данных анализатора.

При использовании полярографов в комплекте с самописцем обработку результатов измерений аналитических сигналов определяемых компонента, расчет массовых концентраций компонента в пробе (мг/кг) проводят следующим образом:

### *10.1 Расчет массовой концентрации компонента в пробе*

10.1.1 Для определяемого компонента рассчитывают среднее арифметическое ($I_1$) не менее чем из трех значений воспроизводимых аналитических сигналов, полученных при регистрации вольтамперограмм раствора пробы.

Такой же расчет проводят и для вольтамперограмм при регистрации раствора анализируемой пробы с добавкой АС соответствующего компонента, получают значение $I_2$.

10.1.2. Вычисляют массовую концентрацию каждого определяемого компонента ($X_i$) в пробе по формуле (1):

$$X_i = \frac{I_1 \cdot C_{AC} \cdot V_{AC} \cdot V_{пр}}{(I_2 - I_1) \cdot V_{ал} \cdot m}, \quad (1)$$

где: $X_i$ – содержание компонента в анализируемой пробе, мг/кг;

$C_{АС}$ – концентрация аттестованной смеси компонента из которой делается добавка к анализируемой пробе, $мг/дм^3$;

$V_{АС}$ – объем добавки АС компонента, $см^3$;

$I_1$ – величина максимального анодного (катодного) тока компонента, в анализируемой пробе, А или мм;

$I_2$ – величина максимального анодного (катодного) тока компонента в пробе с добавкой АС, А или мм;

$m$ – масса анализируемой пробы, г;

$V_{пр}$ – объем растворенной пробы, $см^3$;

$V_{ал}$ – объем аликвоты раствора пробы, взятый для ВА измерения, $см^3$.

10.1.3 Вычисления проводят по 10.1.2. для каждой из двух параллельных анализируемых проб; получают соответственно значения $X_1$ и $X_2$

➢ 10.2 Проверка приемлемости результатов измерений

10.2.1 Проверяют приемлемость полученных результатов параллельных определений. Расхождение между полученными результатами двух параллельных анализируемых проб не должно превышать предела повторяемости $r$. Значение предела повторяемости для двух результатов параллельных определений приведено в таблице 4.

Таблица 4 - Диапазон измерений, значения пределов повторяемости при доверительной вероятности P=0,95

| Компонент | Диапазон определяемых концентраций | Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений), $r$ | Предел повторяемости (для четырех результатов параллельных определений), $r^*$ |
|---|---|---|---|
| *витамин С* | 10 000 – 200 000 мг/кг<br>Или 10 – 200 г/кг<br>Или 1,0 – 20,0 % масс | $0,22 \cdot \overline{X}$ | $0,28 \cdot \overline{X}$ |
| *витамин $B_1$* | 50 – 10 000 мг/кг<br>Или 0,05 – 10,0 г/кг<br>Или 0,005 – 1,0 % масс | | |
| *витамин $B_2$* | 100 – 3 000 мг/кг<br>Или 0,1 – 3,0 г/кг<br>Или 0,01 – 0,3 % масс. | | |
| *витамин Е* | 2 000 – 30 000 мг/кг<br>Или 2 – 30 г/кг<br>Или 0,2 – 3,0 % масс | | |
| *кверцетин* | 100 – 150 000 мг/кг<br>Или 0,1 до 150 г/кг<br>Или 0,01 до 15 % масс. | | |
| $\overline{X}$ - среднее арифметическое значение результатов параллельных определений массовой концентрации компонента | | | |

Результаты считают приемлемыми при выполнении условия

$$|X_1 - X_2| \le r. \quad (2)$$

Абсолютное значение предела повторяемости рассчитывается для среднеарифметического значения результатов двух параллельных определений

$$\overline{X} = \frac{X_1 + X_2}{2} \quad (3)$$

по формуле

$$r = 0,22 \cdot \overline{X} \ . \quad (4)$$

При выполнении условия (2) значение $\overline{X}$ принимается за результат измерения массовой концентрации определяемого компонента в пробе.

10.2.2 При превышении предела повторяемости ($r$) необходимо дополнительно получить еще два результата параллельных определений. Если при этом размах ($X_{max} - X_{min}$) результатов четырех параллельных определений равен или меньше предела повторяемости $r^*$, то в качестве окончательного результата принимают среднее арифметическое значение результатов четырех параллельных определений. Значения предела повторяемости ($r^*$) для четырех результатов параллельных определений приведены в таблице 4.

Если размах ($X_{max} - X_{min}$) больше $r^*$, выясняют причины появления неприемлемых результатов параллельных определений. При этом проводят оперативный контроль повторяемости по МИ 2335-2003 [9] или разделу А.2 приложения А настоящего документа на методику.

➢ 10.3 Пересчет концентрации

10.3.1 Для того, чтобы получить результат анализа в % масс., надо значение X (мг/кг) разделить на 10 000.

10.3.2 Для того, чтобы получить результат анализа в г/кг, надо значение X (мг/кг) разделить на 1000.

10.4 Числовое значение результата измерения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение предела повторяемости результатов параллельных определений, и содержать не более двух значащих цифр.

## *11 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ*

11.1 Результаты измерений хранят в памяти компьютера (при использовании компьютеризированного вольтамперометрического анализатора) или оформляют записью в журнале. При этом приводят сведения об анализируемой пробе, условиях измерений, дате получения результата измерений. Запись в журнале удостоверяет лицо, проводившее измерения.

11.2 Результат измерения (анализа) в документах, выдаваемых лабораторией представляют в следующих видах :

$\left(\overline{X} \pm \Delta\right)$, мг/кг , P=0,95,

или $\left(\overline{X} \pm \Delta_{Л}\right)$, мг/кг, P=0,95, при условии $\Delta_{Л} \leq \Delta$,

где: $\overline{X}$ – результат измерения, полученный в соответствии с настоящим документом на методику выполнения измерений;

$\pm \Delta_{Л}$ – значения характеристики погрешности результатов измерений, установленное при реализации методики лаборатории;

$\pm \Delta$ – значения характеристики погрешности настоящей методики выполнения измерений, которые рассчитываются по формуле

$$\Delta = 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \quad (5)$$

где $\delta$ - относительное значение показателя точности (характеристики погрешности) методики, приведенное в таблице 1.

***Примечание:*** Характеристику погрешности результатов измерений при реализации методики в лаборатории допускается устанавливать по формуле

$$\Delta_{Л} = 0{,}84 \cdot \Delta \quad (6)$$

с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений по разделам 12.3 и 12.4 настоящего документа.

## 12 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

12.1 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

- оперативный контроль процедуры анализа (на основе оценки погрешности результатов анализа при реализации отдельно взятой контрольной процедуры);
- контроль стабильности результатов анализа (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности, погрешности, среднеквадратического отклонения повторяемости).

➢ ***12.2*** Оперативный контроль процедуры анализа (выполнения измерений) проводят:

- при внедрении методики выполнения измерений в лаборатории;

- при появлении факторов, которые могут повлиять на стабильность процесса анализа (например, при смене партии реактивов, после ремонта прибора, при длительном промежутке времени между анализами и т.д.).

Оперативный контроль процедуры анализа проводит сам исполнитель с целью проверки его готовности к проведению анализа рабочих проб.

Оперативный контроль процедуры анализа проводят по МИ 2335-2003 [9] или по приложению А настоящего документа на методику.

12.3 Одной из форм ***контроля стабильности результатов анализа*** является контроль стабильности результатов анализа в пределах лаборатории с использованием контрольных карт, реализуемый

- путем контроля и поддержания на требуемом уровне погрешности результатов измерений;
- путем контроля и поддержания на требуемом уровне внутрилабораторной прецизионности;
- путем контроля и поддержания на требуемом уровне повторяемости результатов параллельных определений.

12.4 ***Процедуры и периодичность контроля точности*** (контроля стабильности) получаемых результатов измерений в пределах лаборатории проводят с учетом требований раздела 6 ГОСТ Р ИСО 5725-6 или по МИ 2335-2003.

Ответственность за организацию проведения контроля стабильности результатов анализа возлагают на лицо, ответственное за систему качества в лаборатории.

12.5 ***Периодичность контроля*** исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

## 13 Проверка ПРИЕМЛЕМОСТИ результатов измерений для двух лабораторий

13.1 Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости (в двух лабораториях, m=2), проводят с учетом требований 5.3.2.1 ГОСТ Р ИСО 5725-6 по отношению к пределу воспроизводимости, приведенному в таблице 5, или к критической разности для двух среднеарифметических результатов измерений в соответствии с разделом 5.3.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725.

Расхождение между результатами измерений, полученных в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости.

При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их общее среднее значение. Значения предела воспроизводимости приведены в таблице 5.

При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно раздела 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

Таблица 5 - Диапазон измерений, значения предела воспроизводимости при доверительной вероятности P=0,95

| Компонент | Диапазон определяемых концентраций | Предел воспроизводимости (для двух результатов измерений), *R* |
|---|---|---|
| *витамин С* | 10 000 – 200 000 мг/кг<br>Или 10 – 200 г/кг<br>Или 1,0 – 20,0 % масс | $0.34 \cdot \overline{\overline{X}}$ |
| *витамин $B_1$* | 50 – 10 000 мг/кг<br>Или 0,05 – 10,0 г/кг<br>Или 0,005 – 1,0 % масс | |
| *витамин $B_2$* | 100 – 3 000 мг/кг<br>Или 0,1 – 3,0 г/кг<br>Или 0,01 – 0,3 % масс. | |
| *витамин Е* | 2 000 – 30 000 мг/кг<br>Или 2 – 30 г/кг<br>Или 0,2 – 3,0 % масс | |
| *кверцетин* | 100 – 150 000 мг/кг<br>Или 0,1 до 150 г/кг<br>Или 0,01 до 15 % масс. | |
| $\overline{\overline{X}}$ - среднеарифметическое значение результатов анализа, полученных в двух лабораториях | | |

13.2 Разрешение противоречий между результатами двух лабораторий проводят в соответствии с 5.3.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

## *Приложение А*

### *Алгоритмы оперативного контроля процедуры анализа*

- А.1 Общие положения

А.1.1 Оперативный контроль процедуры анализа осуществляет непосредственно исполнитель на основе информации, получаемой при реализации отдельно взятой контрольной процедуры с использованием средств контроля.

А.1.2 Роль средств контроля выполняют:

- образцы для контроля (АС по МИ 2334-2002 [10]);
- рабочие пробы с известной добавкой определяемого компонента;
- рабочие пробы стабильного состава.

А.1.3 Схема оперативного контроля процедуры анализа предусматривает:

- реализацию контрольной процедуры;
- расчет результата контрольной процедуры;
- расчет норматива контроля;
- сравнение результата контрольной процедуры с нормативом контроля;
- принятие решения по результатам контроля.

- А.2 Алгоритм оперативного контроля повторяемости результатов контрольных измерений

А.2.1 Получают два результата параллельных определений любого средства контроля (по А.1.2).

А.2.2 Реализуют схему контроля повторяемости (по А.1.3), получая два результата параллельных определений. Результат контрольной процедуры равен

$$r_K = |X_1 - X_2|. \qquad (А.1)$$

Норматив контроля повторяемости равен пределу повторяемости $r$ при n=2, значение которого приведено в таблице 4.

Проверяют условие

$$r_K \le r. \qquad (А.2)$$

А.2.3 Если условие (А.2) выполняется, то рассчитывают результат контрольной процедуры анализа как среднее арифметическое из результатов двух параллельных определений.

Если $r_K > r$, то делают повторную контрольную процедуру, получая заново два результата параллельных определений.

При повторном превышении предела повторяемости процедуру анализа прекращают и выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

- А.3 Алгоритм оперативного контроля процедуры анализа в условиях внутрилабораторной прецизионности

А.3.1 Образцами для выполнения данной процедуры являются средства контроля по А.1.2. Объем отобранной пробы для контроля должен соответствовать удвоенному объему (массы), необходимому для проведения измерений. Отобранный объем (масса) делят на две части и анализируют в соответствии с требованиями настоящего стандарта в условиях внутрилабораторной прецизионности или различными операторами, или в различное время, или с использованием различных средств измерений и т.д., при соблюдении условий и сроков хранения проб. Получают соответственно $\overline{X_1}$ и $\overline{X_2}$, мг/кг.

А.3.2 Рассчитывают результат контрольной процедуры

$$R_{ЛК} = |\overline{X_1} - \overline{X_2}|. \quad (А.3)$$

Рассчитывают или устанавливают норматив контроля внутрилабораторной прецизионности

$$R_Д = 0{,}84 \cdot R = 0{,}28 \cdot \overline{\overline{X}}, \quad (А.4)$$

где $R$ – значение предела воспроизводимости, приведенное в таблице 5,

$\overline{\overline{X}}$ - среднее арифметическое значение результатов, полученных в условиях внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности.

А.3.3 Результаты, полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности ($\overline{X_1}, \overline{X_2}$), считают удовлетворительными при условии

$$R_{ЛК} \le R_Д. \quad (А.5)$$

А.3.4 При выполнении условия (А.5) общее среднее арифметическое $\overline{\overline{X}}$ представляют в качестве результата контрольной процедуры.

При невыполнении условия (А.5) измерения повторяют.

При повторном невыполнении условия (А.5) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

- А.4 Алгоритм контроля процедуры выполнения измерений с использованием метода добавок

А.4.1 Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры Кк с нормативом контроля Кд.

А.4.2 Результат контрольной процедуры Кк рассчитывают по формуле:

$$K_K = \left|\overline{X}' - \overline{X} - C\right|, \quad (А.6)$$

где $\overline{X}'$ - результат контрольного измерения массовой концентрации компонента в пробе с известной добавкой – среднее арифметическое двух результатов параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости *r*. Значение *r* приведено в таблице 4.

$\overline{X}$ - результат контрольного измерения массовой концентрации компонента в пробе без добавки - среднее арифметическое двух результатов параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости *r*;

С - величина добавки.

***Примечание.*** Величина добавки должна составлять от 50 до 150 % от массовой концентрации компонента в пробе без добавки.

А.4.3 Норматив оперативного контроля Кд рассчитывают по формуле

$$K_Д = \sqrt{\left(\Delta_{л\overline{X}'}\right)^2 + \left(\Delta_{л\overline{X}}\right)^2}, \text{где} \quad (А.7)$$

$\Delta_{л\overline{X}'}$, $\Delta_{л\overline{X}}$, (мг/кг) – значения характеристики погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие массовой концентрации компонента в пробе без добавки и в пробе с добавкой соответственно.

При установлении $\Delta_л$ можно использовать примечание в разделе 11.2 настоящего документа.

А.4.4 Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным, при выполнении условия:

$$Кк \le Кд . \quad (А.8)$$

При невыполнении условия (А.8) эксперимент повторяют.

При повторном невыполнении условия (А.8) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

### ➢ А.5 Алгоритм оперативного контроля процедуры выполнения измерений с использованием образцов для контроля

А.5.1 Образцами для контроля являются рабочие пробы БАД с отсутствием данного компонента или малой концентрацией компонента, в которые введена точная концентрация искомого компонента (аттестованная характеристика – *С*). Компонент концентрации *С* вводят в пробу до стадии пробоподготовки.

А.5.2 Алгоритм проведения контроля точности с применением образцов для контроля состоит в сравнении результата контрольной процедуры $К_к$, равного разности между результатом контрольного измерения аттестованной характеристики в образце для контроля – *Х* и его аттестованным значением – *С*, с нормативом оперативного контроля точности – *К*.

Результат контрольной процедуры равен

$$K_K = \left|\overline{X} - C\right|. \quad (А.9)$$

Норматив контроля точности К рассчитывают по формуле:

$$К = \Delta_Л = 0{,}84 \cdot \Delta = 0{,}21 \cdot \overline{X} . \quad (А.10)$$

А.5.3 Точность контрольного измерения признают удовлетворительной, если:

$$Кк \le К . \quad (А.11)$$

При невыполнении условия (А.11) эксперимент повторяют.

При повторном невыполнении условия (А.11) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### *выполнение измерений с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА для определения витамина С (с программным обеспечением DOS)*

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный прибор.

- Б.1 Проверяют работу стеклоуглеродного электрода по контрольным пробам витамина С

Для этого проводят следующие операции:

Из команды «ВЫБОР» выбирают или создают файл «Вит.С».

Б.1.1 Загружают или создают трассу анализа со следующими параметрами:

<table>
<tr><td>Ячейки</td><td>1 - Вкл.</td><td>2 – Вкл.</td><td colspan="3">3 – Вкл.</td><td>Тип развертки</td></tr>
<tr><td>Этапы</td><td>Время</td><td>Потен-циал</td><td>УФО</td><td>Газ</td><td>Меш.</td><td rowspan="6">Накопительная<br><br>Шаг - 4<br>Амплитуда – 0<br>Задержка 1 –25<br>Задержка 2 – 0<br>Заполнение – 0<br>Потенциал –0,0<br>Iрез = 11 – 12<br>График разв.</td></tr>
<tr><td>1. Подготовка раствора</td><td>180 с</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>2. Обработка раствора</td><td>0</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>3. Обработка электрода</td><td colspan="2">0 с<br>Цикл мс 1: 0,000<br>0 2 : 0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>4. Очистка электрода</td><td>0 с</td><td>+1,200</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>5. Накопление</td><td>30 с</td><td>-0,300</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл</td></tr>
<tr><td>6. Успокоение</td><td>10 с</td><td>+0,100</td><td colspan="3">Отключено</td><td></td></tr>
<tr><td>7. Развертка</td><td>Скорость 15 мВ/с</td><td>+1,50</td><td colspan="3">Отключено</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="3">Число циклов – 5<br>Множитель - 1· $10^{-10}$<br>Производная – Вкл.<br>Циклическая- Выкл.<br>Инверсия – Выкл.<br>Реверс – Выкл.<br>Фильтр – 30</td><td colspan="3">Сплайн-разметка<br>Выкл.<br>Вычитание ФОНа<br>0%</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="6">Диапазоны поиска пиков элементов:<br>Элемент С<br>Потенциал 0,650<br>Зона [+/- мВ] 150</td><td></td></tr>
</table>

Б.1.2 Стаканчик с раствором фонового электролита (раствор хлорида калия концентрации 0,1 моль/дм$^3$, подкисленный раствором соляной кислоты концентраций 0,1 моль/дм$^3$ до pH 3 ÷ 4) объемом 10,0 см$^3$, помещают в анализатор.

Б.1.3 Устанавливают электроды:

Стеклоуглеродный (катод) – в гнездо РЭ,
Хлорсеребряный (анод) – в гнездо ХСЭ,
Вспомогательный ХСЭ – в гнездо ВЭ,
Трубочки для подачи газа.

Б.1.4 Погружают электроды в раствор фонового электролита и запускают команду «ФОН» (см. «Руководство пользователя» команда ФОН).

Б.1.5 Снимают 3 – 5 вольтамперограмм (первые две исключают), проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ»).

Б.1.6 Проводят команду «ВЫХОД».

Б.1.7 Переходят в команду «ПРОБЫ».

Б.1.8 Вводят в стаканчики с фоновым электролитом 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина С концентраций 1000 $мг/дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина С равным 2,0 $мг/дм^3$ при объеме пробы 10,0 $см^3$.

Б.1.9 Запускают команду «ПРОБА» (устанавливают курсор на «ПУСК/СТОП», щелкают левой клавишей мыши один раз), производят несколько съемок вольтамперных кривых, и проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ») (см. «Руководство пользователя»). Переходят в команду «ДОБАВКА» (см. «Руководство пользователя» команда ДОБАВКА).

Б.1.10 Вводят в стаканчик с пробой еще одну добавку витамина С объемом 0,02 $см^3$ концентраций 1000 $мг/дм^3$ и запускают команду «ДОБАВКА».

Б.1.11 Пока комплекс проводит измерения, заполняют таблицу в графе «КОЛИЧЕСТВО».

| Масса навески | | 0.00 [ г ] |
|---|---|---|
| Объем пробы | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| Объем минерализата | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| Объем аликвоты | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [ $см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| С | 0,02 | 1000 |

После обработки вольтамперных кривых добавки («УСРЕДНЕНИЕ») смотрят «СОДЕРЖАНИЕ».

Если расхождение между полученными и введенными концентрациями не превышает 30%, электроды считают пригодными к работе. После этого приступают к измерению проб в такой же последовательности.

➢ Б.2 Измерения при анализе пробы на содержание витамина С

Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

Б.2.1 В проверенные на чистоту кварцевые стаканчики вносят аликвоты проб, подготовленных по 8.5.1 настоящей методики, и доводят объем пробы до 10 $см^3$ фоновым электролитом.

Б.2.2 Запускают команду «ПРОБА» из колонки «ДЕЙСТВИЯ». Затем команду «ПУСК». После каждого цикла измерений на экран выводятся очередные вольтамперограммы характерного типа. В результате выполнения серии измерений на экране должно быть по 3-5 вольтамперограмм в каждом из окон вывода, соответствующим ячейкам 1, 2, 3. Невоспроизводимые вольтамперограммы исключают.

Б.2.3 После измерения сигнала витамина С в пробе выходят из меню действий по пробе и входят в меню "ДОБАВКА". Заполняют таблицу "КОЛИЧЕСТВО" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Например:

| | | |
|---|---|---|
| Масса навески | 1,0 [ г ] | |
| Объем пробы | 0,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем минерализата | 100,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем аликвоты | 0,05 [ $см^3$ ] | |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [$см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| Вит С | 0,02 | 1000 |

Б.2.4 Вносят с помощью пипетки или дозатора добавку АС витамина С с такими же параметрами в каждую ячейку и запускают измерение по добавке, нажав "ПУСК" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Если к этому моменту времени комплекс провел измерение и разметка кривых проведена, смотрят результаты анализа в таблице «СОДЕРЖАНИЕ» (см. «Руководство пользователя»).

После завершения всех измерений, исключения выпавших кривых и усреднения результатов - анализ пробы на содержание витамина С завершен. Окончательный результат смотрят в «СОДЕРЖАНИЕ» и заносят в «АРХИВ» (см. «Руководство пользователя»).

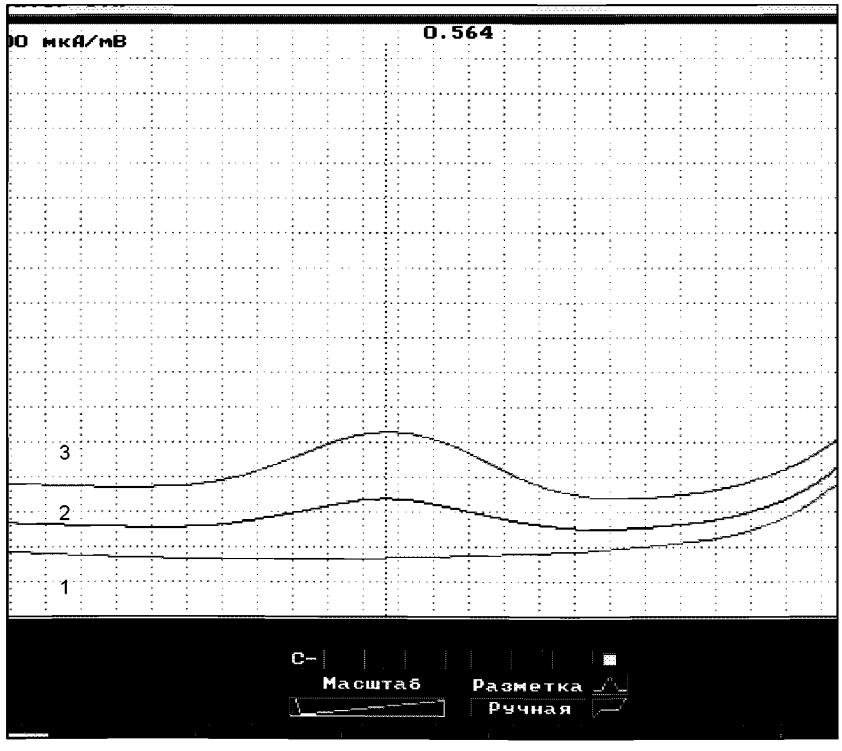



*Рисунок 3. Вольтамперограмма определения витамина С в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) стандартного раствора*

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

### *выполнение измерений с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА для определения витамина $B_1$ (с программным обеспечением DOS)*

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный прибор.

- В.1 Проверяют работу ртутно-пленочного электрода по контрольным пробам витамина $B_1$

Для этого проводят следующие операции:

Из команды «ВЫБОР» выбирают или создают файл «В1».

В.1.1 Загружают или создают трассу анализа со следующими параметрами:

<table>
<tr><td>Ячейки</td><td>1 - Вкл.</td><td colspan="2">2 – Вкл.</td><td colspan="2">3 - Вкл.</td><td>Тип развертки</td></tr>
<tr><td>Этапы</td><td>Время</td><td>Потен-циал</td><td>УФО</td><td>Газ</td><td>Меш.</td><td rowspan="6">Дифференциально-импульсная<br><br>Шаг – 8<br>Амплитуда – 25<br>Задержка 1 – 80<br>Задержка 2 – 20<br>Заполнение – 50<br>Потенциал – 0,0<br>Iрез = 11 – 12<br>График разв.</td></tr>
<tr><td>1. Подготовка раствора</td><td>180 с</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>2. Обработка раствора</td><td>0</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>3. Обработка электрода</td><td colspan="2">0 с<br>Цикл мс 1: 0,000<br>0 2 : 0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>4. Очистка электрода</td><td>20 с</td><td>-1,600</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>5. Накопление</td><td>30 с</td><td>-0,800</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>6. Успокоение</td><td>10 с</td><td>-1,000</td><td colspan="3">Отключено</td><td rowspan="4"></td></tr>
<tr><td>7. Развертка</td><td>Скорость 10 мВ/с</td><td>-1,600</td><td colspan="3">Отключено</td></tr>
<tr><td colspan="3">Число циклов – 5<br>Множитель - $1 \cdot 10^{-10}$<br>Производная – Вкл.<br>Циклическая- Выкл.<br>Инверсия – Вкл.<br>Реверс – Выкл.<br>Фильтр – 50</td><td colspan="4">Сплайн-разметка Выкл.<br>Вычитание ФОНа 0%</td></tr>
<tr><td colspan="7">Диапазоны поиска пиков элементов:<br>Элемент В1<br>Потенциал -1,300<br>Зона [+/- мВ] 100</td></tr>
</table>

В.1.2 Стаканчик с раствором фонового электролита (раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного концентрации 0,1 моль/дм$^3$) объемом 10,0 см$^3$ помещают в анализатор.

В.1.3 Устанавливают электроды:

Ртутно-пленочный (катод) – в гнездо РЭ,
Хлоридсеребряный (анод) – в гнездо ХСЭ,
Вспомогательный ХСЭ – в гнездо ВЭ,
Трубочки для подачи газа.

В.1.4 Погружают электроды в раствор фонового электролита и запускают команду «ФОН» (см. «Руководство пользователя» команда ФОН).

В.1.5 Снимают 3 – 5 вольтамперограмм (первые две исключают), проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ»).

В.1.6 Проводят команду «ВЫХОД».

В.1.7 Переходят в команду «ПРОБЫ».

В.1.8 Вводят в стаканчики с фоновым электролитом 0,01 $см^3$ аттестованного раствора витамина $B_1$ концентраций 1000 $мг/дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина $B_1$ 1,0 $мг/дм^3$ при объеме пробы 10,0 $см^3$.

В.1.9 Запускают команду «ПРОБА» (устанавливают курсор на «ПУСК/СТОП», щелкают левой клавишей мыши один раз), производят несколько съемок вольтамперных кривых, и проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ») (см. «Руководство пользователя»). Переходят в команду «ДОБАВКА» (см. «Руководство пользователя» команда ДОБАВКА).

В.1.10 Вводят в стаканчик с пробой еще одну добавку кверцетина объемом 0,01 $см^3$ концентраций 1000 $мг/дм^3$ и запускают команду «ДОБАВКА».

В.1.11 Пока комплекс проводит измерения, заполняют таблицу в графе «КОЛИЧЕСТВО».

| | | |
|---|---|---|
| Масса навески | 0.00 [ г ] | |
| Объем пробы | 10,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем минерализата | 10,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем аликвоты | 10,00 [ $см^3$ ] | |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [ $см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| B1 | 0,01 | 1000 |

После обработки вольтамперных кривых добавки («УСРЕДНЕНИЕ») смотрят «СОДЕРЖАНИЕ».

Если расхождение между полученными и введенными концентрациями не превышает 30%, электроды считают пригодными к работе. После этого приступают к измерению проб в такой же последовательности.

➢ В.2 Измерения при анализе пробы на содержание витамина $B_1$

Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

В.2.1 В проверенные на чистоту кварцевые стаканчики вносят аликвоты проб, подготовленных по 8.5 настоящей методики, и доводят объем пробы до 10 $см^3$ фоновым электролитом.

В.2.2 Запускают команду «ПРОБА» из колонки «ДЕЙСТВИЯ». Затем команду «ПУСК». После каждого цикла измерений на экран выводятся очередные вольтамперограммы характерного типа. В результате выполнения серии измерений на экране должно быть по 3-5 вольтамперограмм в каждом из окон вывода, соответствующим ячейкам 1, 2, 3. Невоспроизводимые вольтамперограммы исключают.

В.2.3 После измерения сигнала витамина $B_1$ в пробе выходят из меню действий по пробе и входят в меню "ДОБАВКА". Заполняют таблицу "КОЛИЧЕСТВО" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Например:

| | | |
|---|---|---|
| Масса навески | 1,000 [ г ] | |
| Объем пробы | 0,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем минерализата | 50,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем аликвоты | 1,00 [ $см^3$ ] | |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [$см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| B1 | 0,01 | 1000 |

В.2.4 Вносят с помощью пипетки или дозатора добавку АС витамина $B_1$ с такими же параметрами в каждую ячейку и запускают измерение по добавке, нажав "ПУСК" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Если к этому моменту времени комплекс провел измерение и разметка кривых проведена, смотрят результаты анализа в таблице «СОДЕРЖАНИЕ» (см. «Руководство пользователя»).

После завершения всех измерений, исключения выпавших кривых и усреднения результатов - анализ пробы на содержание витамина $B_1$ завершен. Окончательный результат смотрят в «СОДЕРЖАНИЕ» и заносят в «АРХИВ» (см. «Руководство пользователя»).

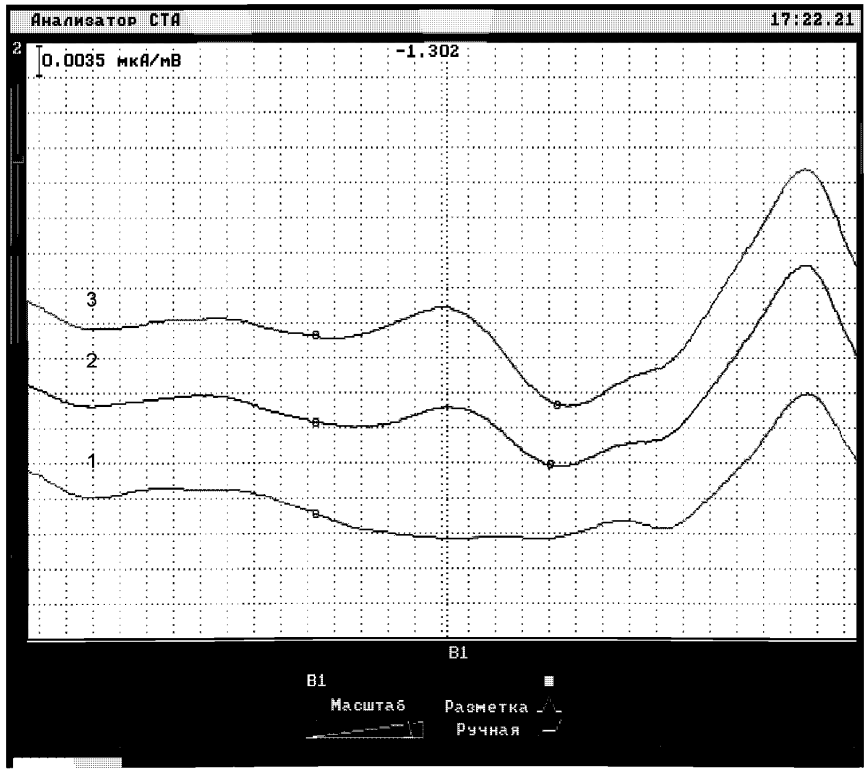



*Рисунок 4. Вольтамперограмма определения витамина $B_1$ в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) стандартного раствора*

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

### *выполнение измерений с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА для определения витамина $B_2$ (с программным обеспечение DOS)*

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный прибор.

- Г.1 Проверяют работу стеклоуглеродного электрода по контрольным пробам витамина $B_2$

Для этого проводят следующие операции:

Из команды «ВЫБОР» выбирают или создают файл «В2».

Г.1.1 Загружают или создают трассу анализа со следующими параметрами:

<table>
<tr><td>Ячейки</td><td>1 - Вкл.</td><td>2 – Вкл.</td><td colspan="3">3 - Вкл.</td><td>Тип развертки</td></tr>
<tr><td>Этапы</td><td>Время</td><td>Потенци-ал</td><td>УФО</td><td>Газ</td><td>Меш.</td><td rowspan="6">Накопительная<br><br>Шаг – 4<br>Амплитуда – 0<br>Задержка 1 -25<br>Задержка 2 - 0<br>Заполнение - 0<br>Потенциал – 0,0<br>I рез = 11 – 12<br>График разв.</td></tr>
<tr><td>1. Подготовка раствора</td><td>180 с</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>2. Обработка раствора</td><td>0</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>3. Обработка электрода</td><td colspan="2">0 с<br>Цикл мс 1: 0,000<br>0 2 : 0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>4. Очистка электрода</td><td>10 с</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>5. Накопление</td><td>30 с</td><td>-0,500</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл</td></tr>
<tr><td>6. Успокоение</td><td>10 с</td><td>-0,500</td><td colspan="3">Отключено</td><td rowspan="4"></td></tr>
<tr><td>7. Развертка</td><td>Скорость 15 мВ/с</td><td>0,100</td><td colspan="3">Отключено</td></tr>
<tr><td colspan="4">Число циклов – 5<br>Множитель - 1· $10^{-10}$<br>Производная – Вкл.<br>Циклическая- Выкл. Инверсия – Выкл.<br>Реверс – Выкл. Фильтр – 50</td><td colspan="3">Сплайн-разметка<br>Выкл.<br>Вычитание ФОНа<br>0%</td></tr>
<tr><td colspan="7">Диапазоны поиска пиков элементов:<br>Элемент В2<br>Потенциал -0,150<br>Зона [+/- мВ] 100</td></tr>
</table>

Г.1.2 Стаканчик с раствором фонового электролита (раствор соляной кислоты концентраций 0,01 моль/дм$^3$) объемом 10,0 см$^3$ помещают в анализатор.

Г.1.3 Устанавливают электроды:

Стеклоуглеродный (катод) – в гнездо РЭ,

Хлоридсеребряный (анод) – в гнездо ХСЭ,

Вспомогательный ХСЭ – в гнездо ВЭ,

Трубочки для подачи газа.

Г.1.4 Погружают электроды в раствор фонового электролита и запускают команду «ФОН» (см. «Руководство пользователя» команда ФОН).

Г.1.5 Снимают 3 – 5 вольтамперограмм (первые две исключают), проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ»).

Г.1.6 Проводят команду «ВЫХОД».

Г.1.7 Переходят в команду «ПРОБЫ».

Г.1.8 Вводят в стаканчики с фоновым электролитом 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина $B_2$ концентраций 100 $мг/дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина $B_2$ 1,0 $мг/дм^3$ при объеме пробы 10,0 $см^3$.

Г.1.9 Запускают команду «ПРОБА» (устанавливают курсор на «ПУСК/СТОП», щелкают левой клавишей мыши один раз), производят несколько съемок вольтамперных кривых, и проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ») (см. «Руководство пользователя»). Переходят в команду «ДОБАВКА» (см. «Руководство пользователя» команда ДОБАВКА).

Г.1.10 Вводят в стаканчик с пробой еще одну добавку кверцетина объемом 0,02 $см^3$ концентраций 100 $мг/дм^3$ и запускают команду «ДОБАВКА».

Г.1.11 Пока комплекс проводит измерения, заполняют таблицу в графе «КОЛИЧЕСТВО».

| Масса навески | | 0.00 [ г ] |
|---|---|---|
| Объем пробы | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| Объем минерализата | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| Объем аликвоты | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [ $см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| B2 | 0,02 | 100 |

После обработки вольтамперных кривых добавки («УСРЕДНЕНИЕ») смотрят «СОДЕРЖАНИЕ».

Если расхождение между полученными и введенными концентрациями не превышает 30%, электроды считают пригодными к работе. После этого приступают к измерению проб в такой же последовательности.

➢ Г.2 Измерения при анализе пробы на содержание витамина B2

Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

Г.2.1 В проверенные на чистоту кварцевые стаканчики вносят аликвоты проб, подготовленных по 8.5.2 настоящей методики, и доводят объем пробы до 10 $см^3$ фоновым электролитом.

Г.2.2 Запускают команду «ПРОБА» из колонки «ДЕЙСТВИЯ». Затем команду «ПУСК». После каждого цикла измерений на экран выводятся очередные вольтамперограммы характерного типа. В результате выполнения серии измерений на экране должно быть по 3-5 вольтамперограмм в каждом из окон вывода, соответствующим ячейкам 1, 2, 3. Невоспроизводимые вольтамперограммы исключают.

Г.2.3 После измерения сигнала витамина $B_2$ в пробе выходят из меню действий по пробе и входят в меню "ДОБАВКА". Заполняют таблицу "КОЛИЧЕСТВО" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Например:

| Масса навески | | 1,000 [ г ] |
|---|---|---|
| Объем пробы | | 0,00 [ $см^3$ ] |
| Объем минерализата | | 50,00 [ $см^3$ ] |
| Объем аликвоты | | 0,10 [ $см^3$ ] |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [$см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| B2 | 0,02 | 100 |

Г.2.4 Вносят с помощью пипетки или дозатора добавку АС витамина $B_2$ с такими же параметрами в каждую ячейку и запускают измерение по добавке, нажав "ПУСК" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Если к этому моменту времени комплекс провел измерение и разметка кривых проведена, смотрят результаты анализа в таблице «СОДЕРЖАНИЕ» (см. «Руководство пользователя»).

После завершения всех измерений, исключения выпавших кривых и усреднения результатов - анализ пробы на содержание витамина $B_2$ завершен. Окончательный результат смотрят в «СОДЕРЖАНИЕ» и заносят в «АРХИВ» (см. «Руководство пользователя»).

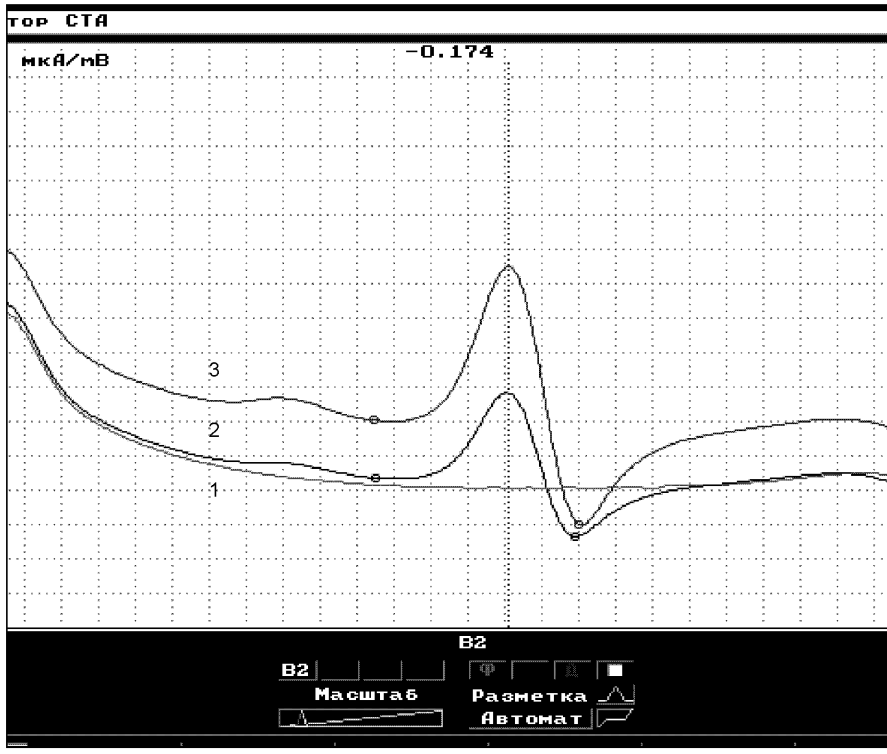



*Рисунок 5. Вольтамперограмма определения витамина $B_2$ в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) стандартного раствора*

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

### *выполнение измерений с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА для определения кверцетина (с программным обеспечением DOS)*

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный прибор.

- Д.1 Проверяют работу стеклоуглеродного электрода по контрольным пробам кверцетина

Для этого проводят следующие операции:

Из команды «ВЫБОР» выбирают или создают файл «КВ».

Д.1.1 Загружают или создают трассу анализа со следующими параметрами:

<table>
<tr><td>Ячейки</td><td>1 - Вкл.</td><td>2 – Вкл.</td><td colspan="3">3 - Вкл.</td><td>Тип развертки</td></tr>
<tr><td>Этапы</td><td>Время</td><td>Потен-циал</td><td>УФО</td><td>Газ</td><td>Меш.</td><td rowspan="6">Постоянно-токовая<br><br>Шаг – 4<br>Амплитуда – 0<br>Задержка 1 – 25<br>Задержка 2 – 0<br>Заполнение – 0<br>Потенциал – 0,0<br>Iрез = 11 – 12<br>График разв.</td></tr>
<tr><td>1. Подготовка раствора</td><td>180 с</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>2. Обработка раствора</td><td>0</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>3. Обработка электрода</td><td colspan="2">0 с<br>Цикл мс 1: 0,000<br>0 2 : 0,000</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>4. Очистка электрода</td><td>0 с</td><td>+1,200</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>5. Накопление</td><td>30 с</td><td>-0,100</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл</td></tr>
<tr><td>6. Успокоение</td><td>10 с</td><td>+0,100</td><td colspan="3">Отключено</td><td rowspan="4"></td></tr>
<tr><td>7. Развертка</td><td>Скорость 30 мВ/с</td><td>+1,000</td><td colspan="3">Отключено</td></tr>
<tr><td colspan="3">Число циклов – 5<br>Множитель - 1· $10^{-10}$<br>Производная – Вкл.<br>Циклическая- Выкл.<br>Инверсия – Выкл.<br>Реверс – Выкл.<br>Фильтр – 50</td><td colspan="3">Сплайн-разметка<br>Выкл.<br>Вычитание ФОНа<br>0%</td></tr>
<tr><td colspan="6">Диапазоны поиска пиков элементов:<br>Элемент КВ<br>Потенциал 0,500<br>Зона [+/- мВ] 50</td></tr>
</table>

Д.1.2 Стаканчик с раствором фонового электролита (раствор соляной кислоты концентраций 0,1 моль/дм$^3$) объемом 10,0 см$^3$ помещают в анализатор.

Д.1.3 Устанавливают электроды:

Стеклоуглеродный (катод) – в гнездо РЭ,

Хлорсеребряный (анод) – в гнездо ХСЭ,

Вспомогательный ХСЭ – в гнездо ВЭ,

Трубочки для подачи газа.

Д.1.4 Погружают электроды в раствор фонового электролита и запускают команду «ФОН» (см. «Руководство пользователя» команда ФОН).

Д.1.5 Снимают 3 – 5 вольтамперограмм (первые две исключают), проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ»).

Д.1.6 Проводят команду «ВЫХОД».

Д.1.7 Переходят в команду «ПРОБЫ».

Д.1.8 Вводят в стаканчики с фоновым электролитом 0,02 $см^3$ аттестованного раствора кверцетина концентраций 200 $мг/дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием кверцетина 2,0 $мг/дм^3$ при объеме пробы 10,0 $см^3$.

Д.1.9 Запускают команду «ПРОБА» (устанавливают курсор на «ПУСК/СТОП», щелкают левой клавишей мыши один раз), производят несколько съемок вольтамперных кривых, и проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ») (см. «Руководство пользователя»). Переходят в команду «ДОБАВКА» (см. «Руководство пользователя» команда ДОБАВКА).

Д.1.10 Вводят в стаканчик с пробой еще одну добавку кверцетина объемом 0,02 $см^3$ концентраций 200 $мг/дм^3$ и запускают команду «ДОБАВКА».

Д.1.11. Пока комплекс проводит измерения, заполняют таблицу в графе «КОЛИЧЕСТВО».

| | | |
|---|---|---|
| Масса навески | 0.00 [ г ] | |
| Объем пробы | 10,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем минерализата | 10,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем аликвоты | 10,00 [ $см^3$ ] | |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [ $см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| КВ | 0,02 | 200 |

После обработки вольтамперных кривых добавки («УСРЕДНЕНИЕ») смотрят «СОДЕРЖАНИЕ».

Если расхождение между полученными и введенными концентрациями не превышает 30%, электроды считают пригодными к работе. После этого приступают к измерению проб в такой же последовательности.

➢ Д.2 Измерения при анализе пробы на содержание кверцетина

Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

Д.2.1 В проверенные на чистоту кварцевые стаканчики вносят аликвоты проб, подготовленных по 8.5.3 настоящей методики, и доводят объем пробы до 10 $см^3$ фоновым электролитом.

Д.2.2 Запускают команду «ПРОБА» из колонки «ДЕЙСТВИЯ». Затем команду «ПУСК». После каждого цикла измерений на экран выводятся очередные вольтамперограммы характерного типа. В результате выполнения серии измерений на экране должно быть по 3-5 вольтамперограмм в каждом из окон вывода, соответствующим ячейкам 1, 2, 3. Невоспроизводимые вольтамперограммы исключают.

Д.2.3 После измерения сигнала кверцетина в пробе выходят из меню действий по пробе и входят в меню "ДОБАВКА". Заполняют таблицу "КОЛИЧЕСТВО" в меню действий по «ДОБАВКЕ». Например:

| | | |
|---|---|---|
| Масса навески | 0,50 [ г ] | |
| Объем пробы | 0,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем минерализата | 25,00 [ $см^3$ ] | |
| Объем аликвоты | 0,05 [ $см^3$ ] | |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [ $см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| КВ | 0,02 | 200 |

Д.2.4 Вносят с помощью пипетки или дозатора добавку АС кверцетина с такими же параметрами в каждую ячейку и запускают измерение по добавке, нажав "ПУСК" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Если к этому моменту времени комплекс провел измерение и разметка кривых проведена, смотрят результаты анализа в таблице «СОДЕРЖАНИЕ» (см. «Руководство пользователя»).

После завершения всех измерений, исключения выпавших кривых и усреднения результатов - анализ пробы на содержание кверцетина завершен. Окончательный результат смотрят в «СОДЕРЖАНИЕ» и заносят в «АРХИВ» (см. «Руководство пользователя» ).

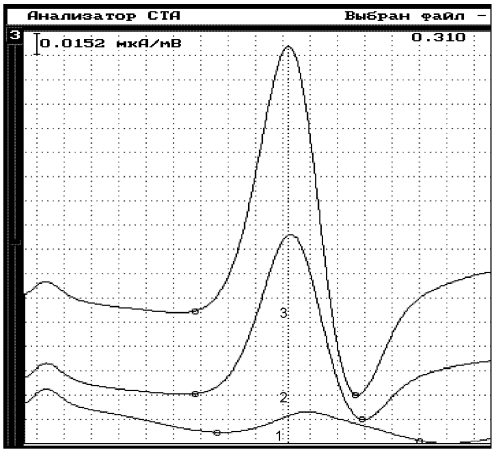



*Рисунок 6. Вольтамперограмма определения кверцетина в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) стандартного раствора*

## ПРИЛОЖЕНИЕ Е

### *выполнение измерений с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА для определения витамина Е (с программным обеспечением DOS)*

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный прибор.

Е.1 Проверяют работу стеклоуглеродного электрода ***по контрольным пробам витамина Е.***

Для этого проводят следующие операции:

Из команды «ВЫБОР» выбирают или создают файл «Вит.Е».

Е.1.1 Загружают или создают трассу анализа со следующими параметрами:

<table>
<tr><td>Ячейки</td><td>1 - Вкл.</td><td>2 – Вкл.</td><td colspan="3">3 - Вкл.</td><td>Тип развертки</td></tr>
<tr><td>Этапы</td><td>Время</td><td>Потен-циал</td><td>УФО</td><td>Газ</td><td>Меш.</td><td rowspan="6">Постоянно-токовая<br><br>Шаг – 4<br>Амплитуда – 0<br>Задержка 1 – 0<br>Задержка 2 – 0<br>Заполнение – 0<br>Потенциал – 0,0<br>Iрез = 11 – 12<br>График разв.</td></tr>
<tr><td>1. Подготовка раствора</td><td>20 с</td><td>1,000</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td></tr>
<tr><td>2. Обработка раствора</td><td>0</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>3. Обработка электрода</td><td colspan="2">0 с<br>Цикл мс 1: 0,000<br>0 2 : 0,000</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>4. Очистка электрода</td><td>0 с</td><td>0,000</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>5. Накопление</td><td>20 с</td><td>+1,000</td><td>Выкл.</td><td>Выкл.</td><td>Вкл</td></tr>
<tr><td>6. Успокоение</td><td>10 с</td><td>+ 1,000</td><td colspan="3">Отключено</td><td rowspan="4"></td></tr>
<tr><td>7. Развертка</td><td>Скорость 30 мВ/с</td><td>+ 2,000</td><td colspan="3">Отключено</td></tr>
<tr><td colspan="4">Число циклов – 5<br>Множитель - 1· $10^{-10}$<br>Производная – Вкл. Циклическая- Выкл.<br>Инверсия – Выкл. Реверс – Выкл.<br>Фильтр – 40</td><td colspan="3">Сплайн-разметка<br>Выкл.<br>Вычитание ФОНа<br>0%</td></tr>
<tr><td colspan="7">Диапазоны поиска пиков элементов:<br>Элемент E<br>Потенциал 1,60<br>Зона [+/- мВ] 200</td></tr>
</table>

Е.1.2 Стаканчик с раствором фонового электролита (0,3 $см^3$ раствора перхлората натрия в ацетонитриле концентрации 0,1 моль/$дм^3$ в 10,0 $см^3$ ацетонитрила) помещают в анализатор.

Е.1.3 Устанавливают электроды:

Стеклоуглеродный – в гнездо РЭ,

Ртутный – в гнездо ХСЭ,

Вспомогательный СУ – в гнездо ВЭ.

Е.1.4 Погружают электроды в раствор фонового электролита и запускают команду «ФОН» (см. «Руководство пользователя» команда ФОН).

Е.1.5 Снимают 3 – 5 вольтамперограмм (первые две исключают), проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ»).

Е.1.6 Проводят команду «ВЫХОД».

Е.1.7 Переходят в команду «ПРОБЫ».

Е.1.8 Вводят в стаканчики с фоновым электролитом 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина Е концентрации 1000 $мг/дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина Е 2,0 $мг/дм^3$ при объеме пробы 10,0 $см^3$.

Е.1.9 Запускают команду «ПРОБА» (устанавливают курсор на «ПУСК/СТОП», щелкают левой клавишей мыши один раз), производят несколько съемок вольтамперных кривых, и проводят их обработку («УСРЕДНЕНИЕ») (см. «Руководство пользователя»). Переходят в команду «ДОБАВКА» (см. «Руководство пользователя» команда ДОБАВКА).

Е.1.10 Вводят в стаканчик с пробой еще одну добавку витамина Е объемом 0,02 $см^3$ концентраций 1000 $мг/дм^3$ и запускают команду «ДОБАВКА».

Е.1.11 Пока комплекс проводит измерения, заполняют таблицу в графе «КОЛИЧЕСТВО».

| Масса навески | | 0.00 [ г ] |
|---|---|---|
| Объем пробы | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| Объем минерализата | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| Объем аликвоты | | 10,00 [ $см^3$ ] |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [ $см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| Е | 0,02 | 1000 |

После обработки вольтамперных кривых добавки («УСРЕДНЕНИЕ») смотрят «СОДЕРЖАНИЕ».

Если расхождение между полученными и введенными концентрациями не превышает 30%, электроды считают пригодными к работе. После этого приступают к измерению проб в такой же последовательности.

➢ Е.2 Измерения при анализе пробы на содержание витамина Е

Одновременно проводят анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

Е.2.1 В проверенные на чистоту кварцевые стаканчики вносят аликвоты проб, подготовленных по 8.5.1 настоящей методики, и доводят объем пробы до 10 $см^3$ фоновым электролитом.

Е.2.2 Запускают команду «ПРОБА» из колонки «ДЕЙСТВИЯ». Затем команду «ПУСК». После каждого цикла измерений на экран выводятся очередные вольтамперограммы характерного типа. В результате выполнения серии измерений на экране должно быть по 3-5 вольтамперограмм в каждом из окон вывода, соответствующим ячейкам 1, 2, 3. Невоспроизводимые вольтамперограммы исключают.

Е.2.3 После измерения сигнала витамина Е в пробе выходят из меню действий по пробе и входят в меню "ДОБАВКА". Заполняют таблицу "КОЛИЧЕСТВО" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Например:

| Масса навески | | 1,00 [ г ] |
|---|---|---|
| Объем пробы | | 0,00 [ $см^3$ ] |
| Объем минерализата | | 20,00 [ $см^3$ ] |
| Объем аликвоты | | 0,05 [ $см^3$ ] |
| ДОБАВКА | | |
| Элемент | Объем добавки АС [$см^3$ ] | Концентрация АС [ $мг/дм^3$ ] |
| Вит Е | 0,02 | 1000 |

Е.2.4 Вносят с помощью пипетки или дозатора добавку АС витамина Е с такими же параметрами в каждую ячейку и запускают измерение по добавке, нажав "ПУСК" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Если к этому моменту времени комплекс провел измерение и разметка кривых проведена, смотрят результаты анализа в таблице «СОДЕРЖАНИЕ» (см. «Руководство пользователя»).

После завершения всех измерений, исключения выпавших кривых и усреднения результатов - анализ пробы на содержание витамина Е завершен. Окончательный ре-

зультат смотрят в «СОДЕРЖАНИЕ» и заносят в «АРХИВ» (см. «Руководство пользователя»).

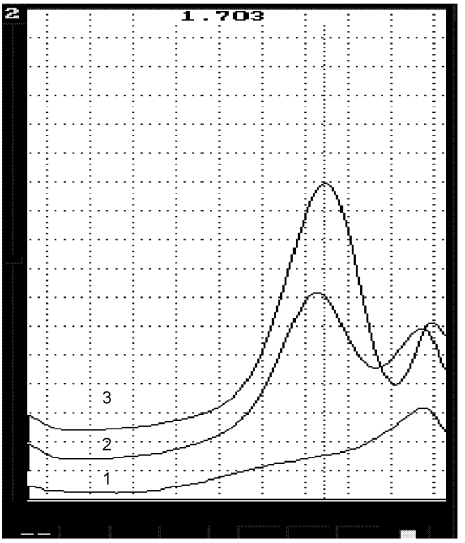



*Рисунок 7. Вольтамперограмма определения витамина Е в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) стандартного раствора*

## *ПРИЛОЖЕНИЕ Ж*

*(Информационное )*

Библиография


[1] ТУ 25-04-1696-75 Вольтметр цифровой. Технические условия

[2] ТУ 4215-001-20694097-98 Комплекс СТА аналитический вольтамперометрический. Технические условия

[3] ТУ 6-09-3678-74 Калия хлорид ос. ч. Технические условия

[4] ТУ 64-1.973-76 Щипцы тигельные. Технические условия

[5] ТУ 4321-002-07609129-94 Аппарат Сокслета с экстрактором. Технические условия

[6] ТУ 6-09-2540-87 Натрия гидроксид. Технические условия

[7] ТУ 6-09-3534-87 Ацетонитрил. Технические условия

[8] ТУ 6-09-3250-66 Натрий хлорнокислый. Технические условия

[9] МИ 2335–95 Рекомендация. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа

[10] МИ 2334-2002 Рекомендация. ГСИ. Смеси аттестованные. Общие требования к разработке

***Инструкция №1***

***выполнение измерений с использованием вольтамперометрического анализатора СТА при определении массовой концентрации витамина С (программное обеспечение Windows)***

Анализатор СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный вольтамперометрический комплекс.

Электроды:

- индикаторный электрод - стеклоуглеродный с рабочей поверхностью 25 – 30 мм$^2$;
- электрод сравнения – хлоридсеребряный, заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 3,0 кОм.
- вспомогательный электрод - хлоридсеребряный, заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 3,0 кОм.
- Фоновый электролит: раствор хлорида калия концентрации 0,1 моль/дм$^3$, подкисленный раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$ до pH 3 ÷ 4

➢ 1.1 Загружают файл ***созданной заранее методики*** *«Витамин С»* ***(в главном меню выбирают пункт***  ***Методика / Открыть) или создают новую методику.***

**Создание новой методики** (см. «Руководство пользователя» раздел.3.1 «Создание новой методики»). В главном меню выбирают пункт  **Методика / Новая методика.** Вводят следующие параметры.

**Трасса**

| Методика | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Наименование [ **Витамин С** ] | | | | | | | |
| **Трасса** | | Развертка | Режим | Элемент | | Контроль | |
| | | Время, с | Потенциал, В | УФО | Газ | Мешалка | Скорость |
| Y | **Подготовка раствора** | **60** | **+1,100** | | Y | Y | |
| | Обработка раствора | 0 | 0,000 | | | | 0 |
| | Обработка электрода | 0 | 0,000 0,000 | | | | |
| Y | **Очистка электрода** | **10** | **1,100** | | Y | Y | 0 |
| Y | **Накопление** | **30** | **-0,300** | | Y | Y | |
| Y | **Успокоение** | **5** | **-0,300** | | | | |
| Y | **Развертка** | **30мВ/с** | **0,10 1,200** | | | | |

**Развертка**

| Трасса | **Развертка** | | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|---|
| **Тип развертки** | [ **Ступенчатая**] | | [**Форма развертки**] | | |
| **Диапазон тока** | **0,3** | мА | | | |
| **Шаг развертки** | **4** | мВ | | | |
| **Задержка 1** | **10** | % | | | |
| Задержка 2 | | % | | | |
| Начало импульса | | % | | | ↓ |
| Окончание импульса | | % | | | |
| Амплитуда | | мВ | | ↓ | |
| **Накопление** | **50** | | ↓ | | |

**Режим**

| Трасса | Развертка | **Режим** | | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|---|
| Y | Ячейка 1 | Число опытов [ 3 ] | Фильтр **70** | | |
| Y | Ячейка 2 | | | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Y | Ячейка 3 | Схема [ 3-х электродная] | | Инверсия по току |
| | | | | Инверсия по потенциалу |
| | | | Y | Первая производная |
| Разметка | | | Форма разметки | |
| [ Ручная ] | | [Автомат ] | [ Линия ] | Сплайн |

**Элемент**

| Трасса | Развертка | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| | Имя | Потенциал, В | Зона, мВ | |
| 1 | **С** | 0,45 | 100 | |
| 2 | | 0,000 | 0,000 | |

**Сохраняют методику**: или в команде главного меню «**Сохранить методику**» или панели управления (например **«витамин С»** ).

***1.2 Проверка стаканчиков, фонового раствора и электродов на чистоту***

**Измерение фона.** В три чистых кварцевых стаканчика вносят по 10,0 см$^3$ раствора фонового электролита (**раствор хлорида калия концентрации 0,1 моль/дм$^3$, подкисленный раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм$^3$ до pH 3 ÷ 4)**. Стаканчики с раствором фонового электролита помещают в электролитическую ячейку, стаканчики помещают в ячейку, опускают электроды и запускают команду « **ФОН**» (см. «Руководство пользователя» раздел 4.2 «Запуск анализа фонового раствора»).

Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых»).

При наличии на вольтамперных кривых пиков определяемого компонента высотой более 0,2 мкА содержимое стаканчиков выливают, отмывают стаканчики и электроды так, чтобы в чистом фоне отсутствовали пики определяемого компонента (или были менее 0,2 мкА).

**Измерение контрольной пробы** (см. «Руководство пользователя» раздел 4.6 «Запуск анализа пробы»)

В стаканчики с фоновым электролитом вносят пипеткой или дозатором по 0,01 см$^3$ витамина С концентрации 1000,0 мг/дм$^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием 1,0 мг/дм$^3$ при объеме пробы 10 см$^3$ .

Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых (см. раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых»).

**Измерение пробы с добавкой** (см. «Руководство пользователя», раздел 4.7 «Запуск анализа добавки»).

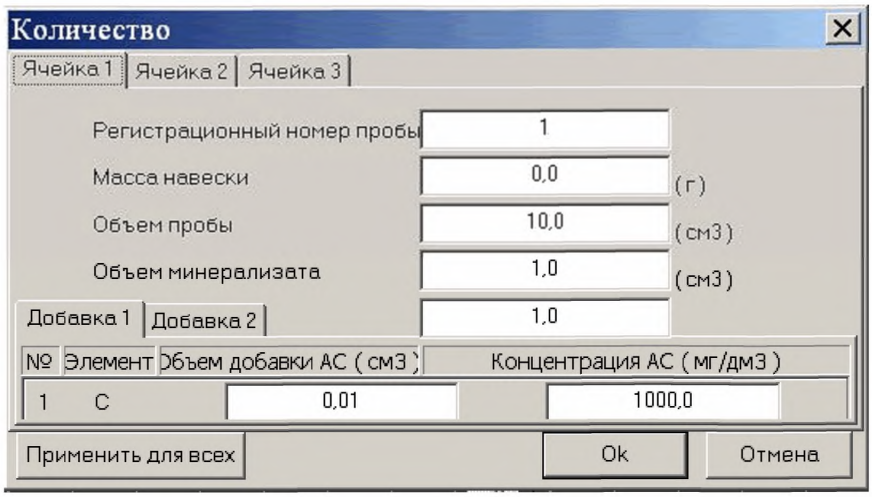
Программой предусмотрена возможность оценки концентрации по одной или двум добавкам АС витамина С.

Вносят в стаканчики с пробой добавки АС витамина С объемом 0,01 см$^3$ концентрации 1000,0 мг/дм$^3$. Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

В окне «Результаты измерения сигналов» отображаются результаты разметки для всех типов вольтамперограмм.

**Расчет массовой концентрации витамина С в контрольной пробе**

Заполняют таблицу «**Количество**», например:




Для перехода в таблицу **«Концентрация»** в главном окне на панели управления нажимают кнопку – **Окно просмотра результаты анализа.** (См. «Руководство пользователя», раздел 4.9 «Вычисление концентрации»

Например:

| **Результат анализа** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Элемент | | Ячейка 1 | Ячейка 2 | Ячейка 3 |
| C | | 0,98 | 0,96 | 0,92 |
| | | | | |
| Y | **Учитывать фон** | | | |
| | Учитывать Добавку 2 | | | |
| | Вычислять по усредненным вольтамперограммам | | | **Приемлемость** |
| Элемент | | Результат анализа | Доверительная вероятность | |
| C | | 0,95 ± 0,095 (мг/кг) | P=0,95 | |

Если расхождение между полученными и введенными концентрациями не превышает 30 %, стеклоуглеродные электроды считают пригодными к работе. После этого приступают к измерению при анализе проб в такой же последовательности.

➢ 1.3 Выполнение измерений при анализе реальной пробы анализируемого продукта на содержание витамина С

Одновременно рекомендуется проводить измерения при анализе двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

Стаканчики с пробой анализируемого объекта, подготовленные для измерения по разделу «Подготовка пробы» методики количественного химического анализа, помещают в электрохимическую ячейку, опускают электроды.

Запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы**» (см. Руководство пользователя раздел 4.6 «Запуск анализа пробы»). Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых»).

В стаканчики с пробой с помощью пипетки или дозатора вносят добавки АС витамина С в таких объемах, чтобы высоты пиков на вольтамперограмме увеличились примерно в 2 раза ((по 0,01 см$^3$ концентрации 1000,0 мг/дм$^3$).

Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку так же, как и при измерении пробы.

При необходимости в стаканчики с пробой вводят такую же вторую добавку АС витамина С, запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы с двумя добавками»**, снимают 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их обработку.

В окне «Просмотр результатов измерения сигнала» смотрят результаты разметки для всех типов вольтамперограмм во всех 3-х ячейках (после второй добавки).

**Вычисление массовых концентраций определяемых элементов**

В таблице «**Количество**» для каждой активной ячейки указывают: массу навески или объем пробы, объем минерализата, пошедший на растворение пробы, и объем аликвотной части подготовленной к анализу пробы.

Нажимают кнопку – **Окно просмотра результатов анализа** в главном окне на панели управления.

В таблице представлены значения массовых концентраций витамина С для каждой из параллельных проб. Нажимают кнопку [**Приемлемость**], в случае, когда результаты измерений параллельных проб приемлемы, вычисляется среднее арифметическое значение, которое принимают за результат анализа.

**Сохранение документа**

Для сохранения документа на панели управления нажимают кнопку или в главном меню выбирают пункт **Документ/Сохранить в архиве.** (См. «Руководство пользователя», раздел 5 «Работа с документом»).

Для печати вольтамперных кривых на принтере нажимают кнопку или в главном меню выбирают пункт **Документ / Печать графиков** (См. «Руководство пользователя», раздел 6 «Печать»).

Данные результата анализа могут быть распечатаны в виде протокола в формате Microsoft ® Word по существующему шаблону отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.2). Так же возможно создание шаблона по требуемому типу оформления отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.1).



*Рисунок 8. Вольтамперограмма определения витамина С в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) АС витамина С*

***Инструкция №2***
***выполнение измерений при определении массовых концентраций витамина $B_1$ с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА (с программным обеспечением Windows)***

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный вольтамперометрический комплекс.

➢ Подготовка электродов и стаканчиков

Электроды:

- **индикаторный электрод** – *ртутно-пленочный на серебряной подложке* с толщиной пленки ртути 10 – 15 мкм и рабочей поверхностью 0,2 – 0,3 $см^3$;
- **электрод сравнения** – *хлоридсеребряный,* заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 30, кОм.
- **вспомогательный электрод** – *хлоридсеребряный,* заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 30, кОм.

Сменные стаканчики из кварцевого стекла вместимостью 15 – 20 $см^3$.

Трубки тефлоновые для подвода инертного газа с целью удаления растворенного кислорода и перемешивания раствора.

Раствор фонового электролита - раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12 водного концентрации 0,1 моль/$дм^3$.

➢ Проверка стаканчиков, раствора фонового электролита и электродов на чистоту при определении концентрации витамина В1

Выбор или создание параметров определения

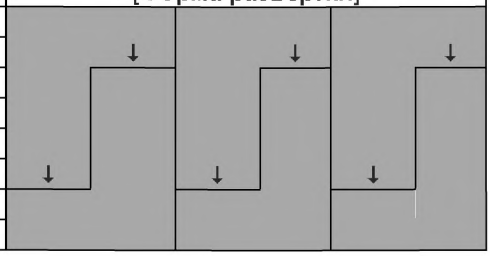
Для загрузки существующей методики в главном меню выбирают пункт  МЕТОДИКА / ОТКРЫТЬ. В окне выбора файла выбирают необходимый файл методики и нажимают кнопку ОТКРЫТЬ ФАЙЛ (например, «Витамин_В1»).

**Создание новой методики** (см. раздел 3.1 «Руководства пользователя»). В главном меню выбирают пункт  Методика / Новая. В окно редактирования вводят параметры согласно методике проведения количественного химического анализа.

**Трасса**

| Методика | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Наименование [**Витамин В 1** ] | | | | | | |
| **Трасса** | | Развертка | Режим | | Элемент | Контроль | |
| | | Время, с | Потенциал, В | | УФО | Газ | Мешалка |
| Y | **Подготовка раствора** | **60** | **-1,600** | | - | Y | Y |
| Y | **Обработка раствора** | **10** | **-1,600** | | - | Y | Y |
| | Обработка электрода | 0 | 0,000 | 0,000 | - | | |
| Y | **Очистка электрода** | **10** | **-1,600** | | - | Y | Y |
| Y | **Накопление** | **30** | **-0,800** | | - | Y | Y |
| Y | **Успокоение** | **5** | **-0,800** | | | | |
| Y | **Развертка** | **50 мВ/с** | **-0,800** | **-1,600** | | | |

**Развертка**

| Трасса | Развертка | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| Тип развертки | [ Импульсная] | [Форма развертки] | | |
| Диапазон тока | 0,3 мВ |  | | |
| Шаг развертки | 10 мВ | | | |
| Задержка 1 | 30 % | | | |
| Задержка 2 | 80 % | | | |
| Начало импульса | 1 % | | | |
| Окончание импульса | 50 % | | | |
| Амплитуда | - 40 мВ | | | |
| Накопление | 1 раз | | | |

**Режим**

| Трасса | Развертка | Режим | | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|---|
| Y | Ячейка 1 | Число опытов [ 3 ] | Фильтр 30 | | |
| Y | Ячейка 2 | | | | |
| Y | Ячейка 3 | Схема [ 3-х электродная ] | Y | Инверсия по току | |
| | | | | Инверсия по потенциалу | |
| | | | Y | Первая производная | |
| Разметка | | | Форма разметки | | |
| Ручная | | [ Автомат ] | [ Линия ] | | Сплайн |

**Элемент**

| Трасса | Развертка | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| | Имя | Потенциал, В | Зона, мВ | |
| 1 | **B1** | **-1,300** | **100** | |
| 2 | | 0,000 | 0,000 | |

**Контроль**

| Трасса | Развертка | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| | Элемент | Относительный предел повторяемости, r, % | Характеристика погрешности, σ, % | |
| 1 | **B1** | | | |

Сохраняют методику: в команде главного меню «**Сохранить методику**» или на панели управления  (например «Определение витамина В1 в БАД»).

**Измерение фона** В подготовленные чистые кварцевые стаканчики с помощью пипетки или дозатора вносят по 10,0 $см^3$ раствор фонового электролита – раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного 12 водного концентрации 0,1 моль/$дм^3$, стаканчики помещают в ячейку анализатора, опускают электроды.

Запускают команду « **ФОН**» (см. «Руководство пользователя» раздел «Запуск анализа фонового раствора»). Снимают 5 вольтамперограмм.

Проводят разметку полученных вольтамперограмм (см. «Руководство пользователя», раздел «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел «Обработка вольтамперных кривых»).

При наличии на вольтамперных кривых пиков определяемого компонента высотой более 0,1 мкА содержимое стаканчиков выливают, отмывают стаканчики и электроды так, чтобы в чистом фоне отсутствовали пики определяемого компонента (или были менее 0,1 мкА). По окончании измерения фона содержимое стаканчиков не выливают.

➢ *Проверка работы ртутно-пленочных электродов по контрольной пробе (методом «введено-найдено»)*

Проверку работы ртутно-пленочных электродов (РПЭ) проводят:

1) после нанесения пленки ртути на поверхность РПЭ;
2) при неудовлетворительной сходимости результатов анализа;
3) при отсутствии на вольтамперограммах пробы с добавкой пика определяемого компонента.

Вводят в стаканчики с раствором фонового электролитом 0,02 см$^3$ аттестованного раствора витамина $B_1$ концентрации 1000,0 мг/дм$^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина $B_1$ равным 2,0 мг/дм$^3$ при объеме пробы 10,0 см$^3$.

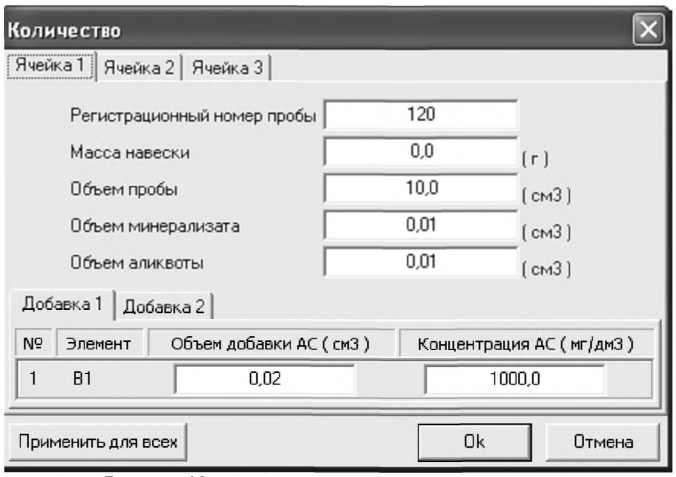
Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых (см. раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых» ).

**Измерение пробы с первой добавкой.** Вводят в каждый стаканчик еще одну добавку аттестованного раствора витамина В1 объемом 0,02 см$^3$ концентрации 1000,0 мг/дм$^3$. Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

**Измерение пробы со второй добавкой.** Вводят в каждый стаканчик еще одну добавку аттестованного раствора витамина В1 объемом 0,02 см$^3$ концентрации 1000,0 мг/дм$^3$. Запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы с 2-мя добавками**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

В окне «Результаты измерения сигналов» отображаются результаты разметки для всех типов вольтамперограмм:

**Расчет массовой концентрации компонента в контрольной пробе.** Заполняют таблицу «**Количество**» , например:




Для перехода в таблицу «Концентрация» в главном окне на панели управления нажимают кнопку – **Окно просмотра результаты анализа.** (См. «Руководство пользователя», раздел 4.9 «Вычисление концентрации»

Если расхождения между полученными и введенными концентрациями не превышают 30 %, ртутно-пленочные электроды считают пригодными к работе. В противном случае проверку ртутно-пленочных электродов следует повторить еще раз.

➢ Анализ подготовленной для анализа пробы на содержание витамина В1

Одновременно рекомендуется проводить анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

В проверенные на чистоту стаканчики с раствором фонового электролита объемом по 7 – 9 $см^3$ переносят аликвотную часть анализируемой пробы объемом по 1 – 3 $см^3$, подготовленной по разделу 8.5 «Подготовка проб» настоящей методики .

Запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы**» (см. Руководство пользователя раздел 4.6 «Запуск анализа пробы»). Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел «Обработка вольтамперных кривых» ).

В стаканчики с пробой с помощью пипетки или дозатора вносят добавки АС витамина В1 в таких объемах, чтобы высоты пиков на вольтамперограмме увеличились примерно в 2 раза (например 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина $B_1$ концентрации 1000,0 $мг/дм^3$).

Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку так же, как и при измерении пробы.

При необходимости в стаканчики с пробой вводят вторую добавку АС компонента, запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с двумя добавками**», снимают 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их обработку.

В окне « **Просмотр результатов измерения сигнала**» смотрят результаты разметки для всех типов вольтамперограмм во всех 3-х ячейках (после второй добавки).

**Вычисление массовых концентраций витамина В1.** В таблице «**Количество**» для каждой активной ячейки указывают: массу навески или объем пробы, объем минерализата, пошедший на растворение озолённой пробы, и объем аликвотной части подготовленной к анализу пробы.

Нажимают кнопку « **Окно просмотра результатов анализа**» в главном окне на панели управления.

В таблице представлены значения массовых концентраций витамина В1 для каждой из параллельных проб. Нажимают кнопку **[Приемлемость]**, в случае, когда результаты измерений параллельных проб приемлемы, вычисляется среднее арифметическое значение, которое принимают за результат анализа.

**Сохранение документа.** Для сохранения документа на панели управления нажимают кнопку « **Сохранить файл архива (F6)**» или в главном меню выбирают пункт **Документ/Сохранить в архиве.** (См. «Руководство пользователя», раздел 5 «Работа с документом»).

Для печати вольтамперных кривых на принтере нажимают кнопку « **Печать кривых вольтамперограмм**» или в главном меню выбирают пункт **Документ / Печать графиков** (См. «Руководство пользователя», раздел 6 «Печать»).

Данные результата анализа могут быть распечатаны в виде протокола в формате Microsoft ® Word по существующему шаблону отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.2). Так же возможно создание шаблона по требуемому типу оформления отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.1).

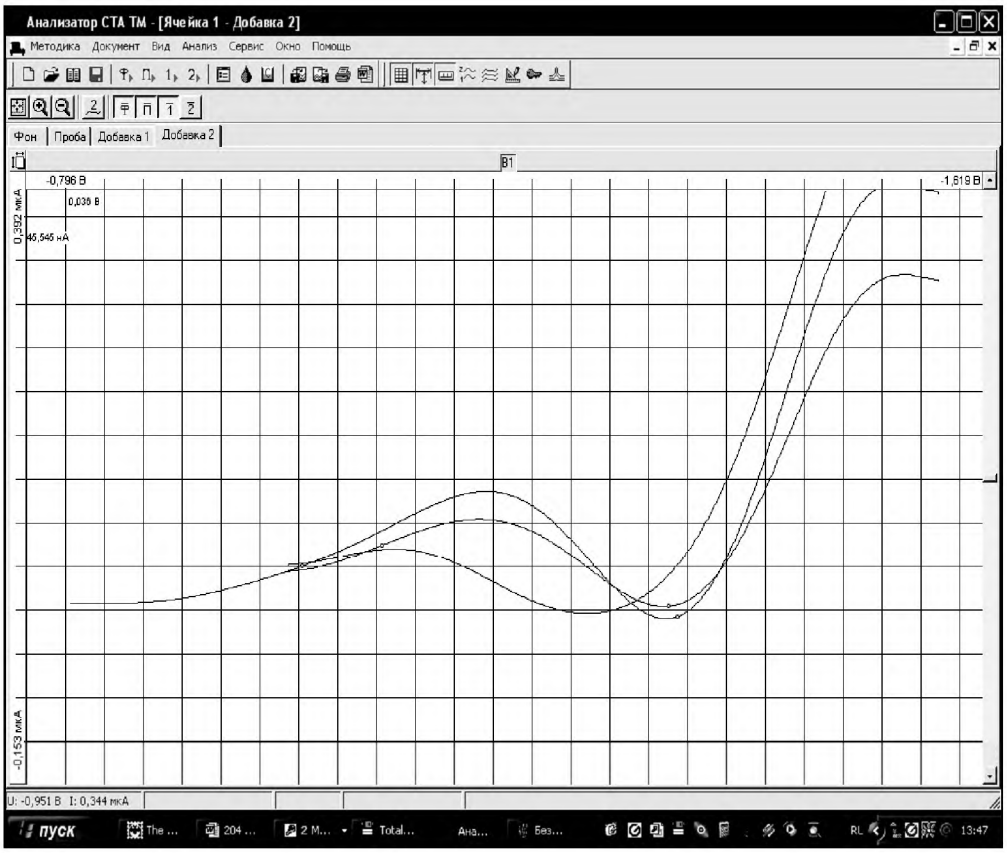



*Рисунок 9. Вольтамперограммы фонового электролита, пробы и пробы с добавками АС компонента при определении массовой концентрации витамина В1*

***Инструкция №3***

***выполнение измерений массовой концентрации витамина В2 с использованием комплекса аналитического вольтамперометрического СТА (с программным обеспечением Windows)***

Комплекс СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный вольтамперометрический комплекс.

➢ Подготовка электродов и стаканчиков

Электроды:

**индикаторный электрод** – стеклоуглеродный с рабочей поверхностью 25 – 30 мм$^2$;

- **электрод сравнения** – *хлоридсеребряный*, заполненный насыщенным Раствором хлорида калия с сопротивлением не более 30, кОм.
- **вспомогательный электрод** – *хлоридсеребряный*, заполненный насыщенным Раствором хлорида калия с сопротивлением не более 30, кОм.

Сменные стаканчики из кварцевого стекла вместимостью 15 – 20 см$^3$.

Трубки тефлоновые для подвода инертного газа с целью удаления растворенного кислорода и перемешивания раствора.

Раствор фонового электролита - ***раствор соляной кислоты концентрации 0,01 моль/дм$^3$.***

➢ Проверка стаканчиков, раствора фонового электролита и электродов на чистоту при определении концентрации витамина В2

Выбор или создание параметров определения

Для загрузки существующей методики в главном меню выбирают пункт  МЕТОДИКА / ОТКРЫТЬ. В окне выбора файла выбирают необходимый файл методики и нажимают кнопку ОТКРЫТЬ ФАЙЛ (например, «Витамин_В2»).

**Создание новой методики** (см. раздел 3.1 «Руководства пользователя»). В главном меню выбирают пункт  Методика / Новая. В окно редактирования вводят параметры согласно методике проведения количественного химического анализа.

**Трасса**

| Методика | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Наименование [**Витамин В 2** ] | | | | | | |
| **Трасса** | | Развертка | Режим | | Элемент | | Контроль |
| | | Время, с | Потенциал, В | | УФО | Газ | Мешалка |
| Y | **Подготовка раствора** | **60** | **0,100** | | - | Y | Y |
| Y | **Обработка раствора** | **10** | **0,100** | | - | Y | Y |
| | Обработка электрода | 0 | 0,000 | 0,000 | - | | |
| Y | **Очистка электрода** | **10** | **0,100** | | - | Y | Y |
| Y | **Накопление** | **30** | **-0,600** | | - | Y | Y |
| Y | **Успокоение** | **5** | **-0,500** | | | | |
| Y | **Развертка** | **50 мВ/с** | **-0,500** | **0,100** | | | |

**Развертка**

| Трасса | **Развертка** | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| **Тип развертки** | [ **Ступенчатая**] | [**Форма развертки**] | | |
| **Диапазон тока** | **0,3** мВ | | | |
| **Шаг развертки** | **8** мВ | | | |
| **Задержка 1** | **25** % | | | |
| Задержка 2 | % | | | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Начало импульса | % | | | | | | |
| Окончание импульса | % | | | | | | |
| Амплитуда | мВ | | | | | | |
| **Накопление** | **100 раз** | | | | | | |

**Режим**

| Трасса | | Развертка | Режим | | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Y | Ячейка 1 | | Число опытов | Фильтр **60** | | |
| Y | Ячейка 2 | | **[ 3 ]** | | | |
| Y | Ячейка 3 | | Схема | | Инверсия по току | |
| | | | **[ 3-х электродная ]** | | Инверсия по потенциалу | |
| | | | | Y | **Первая производная** | |
| **Разметка** | | | | **Форма разметки** | | |
| Ручная | | | **[ Автомат ]** | **[ Линия ]** | | Сплайн |

**Элемент**

| Трасса | | Развертка | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|---|
| | Имя | | Потенциал, В | Зона, мВ | |
| 1 | **B2** | | **- 0,250** | **100** | |
| 2 | | | 0,000 | 0,000 | |

**Контроль**

| Трасса | | Развертка | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|---|
| | Элемент | | Относительный предел повторяемости, г, % | | Характеристика погрешности, σ, % |
| 1 | **B2** | | **30** | | **30** |

Сохраняют методику: в команде главного меню «**Сохранить методику**» или на панели управления (например «Определение витамина В2 в пробах БАД»).

**Измерение фона** В подготовленные чистые кварцевые стаканчики с помощью пипетки или дозатора вносят по 10,0 см$^3$ раствор фонового электролита, стаканчики помещают в ячейку анализатора, опускают электроды.

Запускают команду «**ФОН**» (см. «Руководство пользователя» раздел «Запуск анализа фонового раствора»). Снимают 5 вольтамперограмм.

Проводят разметку полученных вольтамперограмм (см. «Руководство пользователя», раздел «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел «Обработка вольтамперных кривых»).

При наличии на вольтамперных кривых пиков определяемого компонента высотой более 0,1 мкА содержимое стаканчиков выливают, отмывают стаканчики и электроды так, чтобы в чистом фоне отсутствовали пики определяемого компонента (или были менее 0,1 мкА). По окончании измерения фона содержимое стаканчиков не выливают.

- *Проверка работы рабочих (стеклоуглеродных) электродов по контрольной пробе (методом «введено-найдено»)*

Проверку работы стеклоуглеродных электродов (СУЭ) проводят:

- при неудовлетворительной сходимости результатов анализа;
- при отсутствии на вольтамперограммах пробы с добавкой пика определяемого компонента.

Вводят в стаканчики с раствором фонового электролитом 0,02 см$^3$ аттестованного раствора витамина В2 концентрации 1000,0 мг/дм$^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина В2 равным 2,0 мг/дм$^3$ при объеме пробы 10,0 см$^3$.

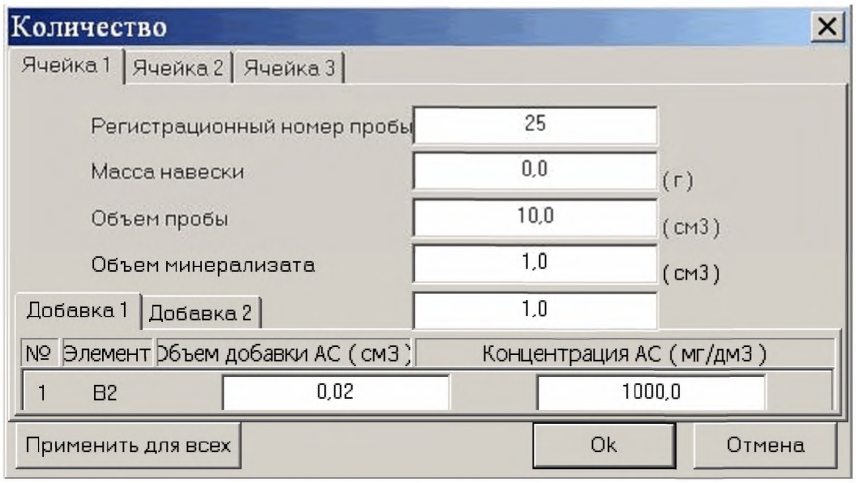
Запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых (см. раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых» ).

**Измерение пробы с первой добавкой.** Вводят в каждый стаканчик еще одну добавку аттестованного раствора витамина В2 объемом 0,02 $см^3$ концентрации 1000,0 $мг/дм^3$. Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

**Измерение пробы со второй добавкой.** Вводят в каждый стаканчик еще одну добавку аттестованного раствора витамина В2 объемом 0,02 $см^3$ концентрации 1000,0 $мг/дм^3$. Запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы с 2-мя добавками**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

В окне «Результаты измерения сигналов» отображаются результаты разметки для всех типов вольтамперограмм:

**Расчет массовой концентрации компонента в контрольной пробе.** Заполняют таблицу «**Количество**», например:




Для перехода в таблицу «Концентрация» в главном окне на панели управления нажимают кнопку – **Окно просмотра результаты анализа.** (См. «Руководство пользователя», раздел 4.9 «Вычисление концентрации»

Если расхождения между полученными и введенными концентрациями не превышают 30 %, стеклоуглеродные электроды считают пригодными к работе. В противном случае проверку электродов повторяют еще раз.

- Анализ подготовленной для анализа пробы на содержание витамина В2

Одновременно рекомендуется проводить анализ двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

В проверенные на чистоту стаканчики с раствором фонового электролита объемом по 7 – 9 $см^3$ переносят аликвотную часть анализируемой пробы объемом по 1 – 3 $см^3$, подготовленной по разделу 8.5 «Подготовка проб» настоящей методики .

Запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы**» (см. Руководство пользователя раздел 4.6 «Запуск анализа пробы»). Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел «Обработка вольтамперных кривых» ).

В стаканчики с пробой с помощью пипетки или дозатора вносят добавки АС витамина В2 в таких объемах, чтобы высоты пиков на вольтамперограмме увеличились примерно в 2 раза (например 0,02 $см^3$ аттестованного раствора витамина В2 концентрации 1000,0 $мг/дм^3$).

Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку так же, как и при измерении пробы.

При необходимости в стаканчики с пробой вводят вторую добавку АС компонента, запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с двумя добавками**», снимают 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их обработку.

В окне « **Просмотр результатов измерения сигнала**» смотрят результаты разметки для всех типов вольтамперограмм во всех 3-х ячейках (после второй добавки).

**Вычисление массовых концентраций витамина В2.** В таблице «**Количество**» . для каждой активной ячейки указывают: массу навески или объем пробы, объем минерализата, пошедший на растворение озолённой пробы, и объем аликвотной части подготовленной к анализу пробы.

Нажимают кнопку « **Окно просмотра результатов анализа**» в главном окне на панели управления.

В таблице представлены значения массовых концентраций витамина В2 для каждой из параллельных проб. Нажимают кнопку [**Приемлемость**], в случае, когда результаты измерений параллельных проб приемлемы, вычисляется среднее арифметическое значение, которое принимают за результат анализа.

**Сохранение документа.** Для сохранения документа на панели управления нажимают кнопку « **Сохранить файл архива (F6)**» или в главном меню выбирают пункт **Документ/Сохранить в архиве.** (См. «Руководство пользователя», раздел 5 «Работа с документом»).

Для печати вольтамперных кривых на принтере нажимают кнопку « **Печать кривых вольтамперограмм**» или в главном меню выбирают пункт **Документ / Печать графиков** (См. «Руководство пользователя», раздел 6 «Печать»).

Данные результата анализа могут быть распечатаны в виде протокола в формате Microsoft ® Word по существующему шаблону отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.2). Так же возможно создание шаблона по требуемому типу оформления отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.1).




*Рисунок 10. Вольтамперограммы фонового электролита, пробы и пробы с добавками АС компонента при определении массовой концентрации витамина В2*

*Инструкция №4*

***выполнение измерений***
***при определении массовой концентрации кверцетина***
***с использованием вольтамперометрического анализатора СТА***
***(программное обеспечение Windows)***

Анализатор СТА должен быть предварительно подготовлен к работе в соответствии с «Руководством пользователя» на данный вольтамперометрический комплекс.

## *1 Подготовка электродов, фонового электролита*

Электроды:

- индикаторный электрод - стеклоуглеродный с рабочей поверхностью 25 – 30 мм$^2$;
- электрод сравнения – *хлоридсеребряный*, заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 3,0 кОм.
- вспомогательный электрод - *хлоридсеребряный*, заполненный насыщенным раствором хлорида калия с сопротивлением не более 3,0 кОм.

Фоновый электролит: раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного концентрации (0,05 – 0,1) моль/дм$^3$

- Загружают файл ***созданной заранее методики*** *«Кверцетин»* ***(в главном меню выбирают пункт***  ***Методика / Открыть) или создают новую методику (в главном меню выбирают пункт***  ***Методика / Новая методика. Вводят следующие параметры.***

**Трасса**

| Методика | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Наименование [ **Кверцетин** ] | | | | | | | |
| **Трасса** | | Развертка | Режим | Элемент | Контроль | | |
| | | Время, с | Потенциал, В | УФО | Газ | Мешалка | Скорость |
| Y | **Подготовка раствора** | **180** | **0,000** | | Y | | |
| Y | **Обработка раствора** | **20** | **0,250** | | Y | | 0 |
| | Обработка электрода | 0 | 0,000 0,000 | | | | |
| Y | **Очистка электрода** | **30** | **0,250** | | Y | | 0 |
| Y | **Накопление** | **30** | **-0,300** | | Y | | |
| Y | **Успокоение** | **10** | **-0,200** | | | | |
| Y | **Развертка** | **30мВ/с** | **-0,20 0,250** | | | | |

**Развертка**

| Трасса | **Развертка** | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| **Тип развертки** | [ **Ступенчатая**] | [**Форма развертки**] | | |
| **Диапазон тока** | **0,3** мА | | | |
| **Шаг развертки** | **4** мВ | | | |
| **Задержка 1** | **25** % | | | |
| Задержка 2 | % | | | ↓ |
| Начало импульса | % | | | |
| Окончание импульса | % | | ↓ | |
| Амплитуда | мВ | | | |
| **Накопление** | **50** | ↓ | | |

**Режим**

| Трасса | Развертка | **Режим** | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| Y | Ячейка 1 | Число опытов [ 3 ] | Фильтр 50 | |
| Y | Ячейка 2 | | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Y | Ячейка 3 | Схема [ 3-х электродная] | | Инверсия по току |
| | | | | Инверсия по потенциалу |
| | | | Y | Первая производная |
| Разметка | | | Форма разметки | |
| [ Ручная ] | | [Автомат ] | [ Линия ] | [ Сплайн ] |

**Элемент**

| Трасса | Развертка | Режим | Элемент | Контроль |
|---|---|---|---|---|
| | Имя | Потенциал, В | Зона, мВ | |
| 1 | KV | 0,05 | 70 | |
| 2 | | 0,000 | 0,000 | |

**Сохраняют методику**: или в команде главного меню «**Сохранить методику**» или панели управления (например **«Кверцетин»** ).

***Проверка стаканчиков, фонового раствора и электродов на чистоту***

3 **Измерение фона.** В три чистых кварцевых стаканчика вносят по 10,0 см$^3$ раствора фонового электролита (***раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного концентрации (0,05 – 0,1) моль/дм$^3$***). Стаканчики с раствором фонового электролита помещают в электролитическую ячейку, опускают электроды и запускают команду « **ФОН**» (см. «Руководство пользователя» раздел 4.2 «Запуск анализа фонового раствора»).

Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых», ).

При наличии на вольтамперных кривых пиков определяемого компонента высотой более 0,2 мкА содержимое стаканчиков выливают, отмывают стаканчики и электроды так, чтобы в чистом фоне отсутствовали пики определяемого компонента (или были менее 0,2 мкА).

4 **Измерение контрольной пробы** (см. «Руководство пользователя» раздел 4.6 «Запуск анализа пробы»)

В стаканчики с фоновым электролитом вносят пипеткой или дозатором по 0,02 см$^3$ кверцетина концентрации 200,0 мг/дм$^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием 0,4 мг/дм$^3$ при объеме пробы 10 см$^3$ .

Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых (см. раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых» ).

**Измерение пробы с добавкой** (см. «Руководство пользователя», раздел 4.7 «Запуск анализа добавки»).

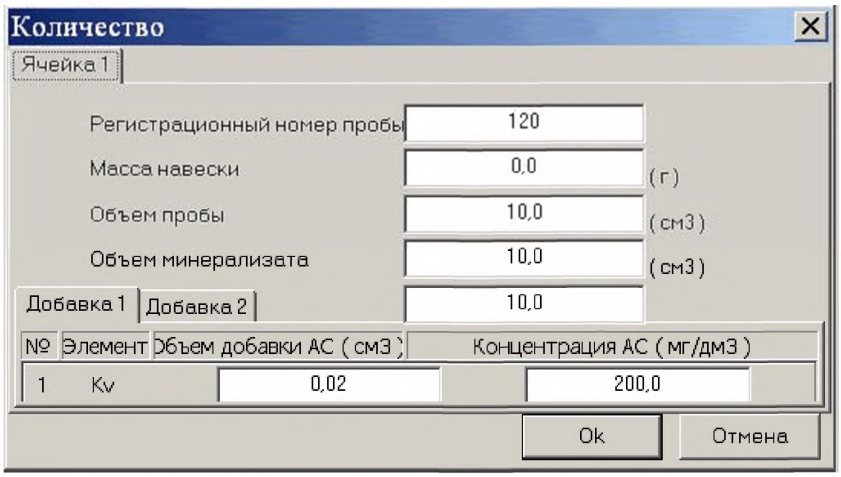
Программой предусмотрена возможность оценки концентрации по одной или двум добавкам АС кверцетина.

Вносят в стаканчики с пробой добавки АС кверцетина объемом 0,02 см$^3$ концентрации 200,0 мг/дм$^3$. Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку.

В окне «Результаты измерения сигналов» отображаются результаты разметки для всех типов вольтамперограмм.

**Расчет массовой концентрации кверцетина в контрольной пробе**

Заполняют таблицу «**Количество**» , например:




Для перехода в таблицу «**Концентрация**» в главном окне на панели управления нажимают кнопку – **Окно просмотра результаты анализа.** (См. «Руководство пользователя», раздел 4.9 «Вычисление концентрации»

Например:

| **Результат анализа** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Элемент | | Ячейка 1 | Ячейка 2 | Ячейка 3 |
| **KV** | | **0,37** | **0,41** | **0,38** |
| | | | | |
| Y | **Учитывать фон** | | | |
| | Учитывать Добавку 2 | | | |
| | Вычислять по усредненным вольтамперограммам | | | **Приемлемость** |
| Элемент | | Результат анализа | Доверительная вероятность | |
| **KV** | | 0,39 ± 0,09 (мг/кг) | P=0,95 | |

Если расхождение между полученными и введенными концентрациями не превышает 30 %, стеклоуглеродные электроды считают пригодными к работе. После этого приступают к измерению при анализе проб в такой же последовательности.

- 5 Выполнение измерений при анализе реальной пробы анализируемого продукта на содержание кверцетина

Одновременно рекомендуется проводить измерения при анализе двух параллельных и одной резервной пробы в трех стаканчиках.

Стаканчики с пробой анализируемого объекта, подготовленные для измерения по разделу «Подготовка пробы» методики количественного химического анализа, помещают в электрохимическую ячейку, опускают электроды.

Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы**» (см. Руководство пользователя раздел 4.6 «Запуск анализа пробы»). Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых» (см. «Руководство пользователя», раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых»).

В стаканчики с пробой с помощью пипетки или дозатора вносят добавки АС кверцетина в таких объемах, чтобы высоты пиков на вольтамперограмме увеличились примерно в 2 раза ((по 0,02 см$^3$ концентрации 200,0 мг/дм$^3$).

Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы с добавкой**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их обработку так же, как и при измерении пробы.

При необходимости в стаканчики с пробой вводят такую же вторую добавку АС кверцетина, запускают команду «**Получение вольтамперограмм пробы с двумя добавками**», снимают 3 – 5 вольтамперограмм, проводят их обработку.

В окне «Просмотр результатов измерения сигнала» смотрят результаты разметки для всех типов вольтамперограмм во всех 3-х ячейках (после второй добавки).

**Вычисление массовых концентраций определяемых элементов**

В таблице «**Количество**» для каждой активной ячейки указывают: массу навески или объем пробы, объем минерализата, пошедший на растворение пробы, и объем аликвотной части подготовленной к анализу пробы.

Нажимают кнопку – **Окно просмотра результатов анализа** в главном окне на панели управления.

В таблице представлены значения массовых концентраций кверцетина для каждой из параллельных проб. Нажимают кнопку [**Приемлемость**], в случае, когда результаты измерений параллельных проб приемлемы, вычисляется среднее арифметическое значение, которое принимают за результат анализа.

**Сохранение документа**

Для сохранения документа на панели управления нажимают кнопку или в главном меню выбирают пункт **Документ/Сохранить в архиве.** (См. «Руководство пользователя», раздел 5 «Работа с документом»).

Для печати вольтамперных кривых на принтере нажимают кнопку или в главном меню выбирают пункт **Документ / Печать графиков** (См. «Руководство пользователя», раздел 6 «Печать»).

Данные результата анализа могут быть распечатаны в виде протокола в формате Microsoft ® Word по существующему шаблону отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.2). Так же возможно создание шаблона по требуемому типу оформления отчета (См. «Руководство пользователя», раздел 7.1).

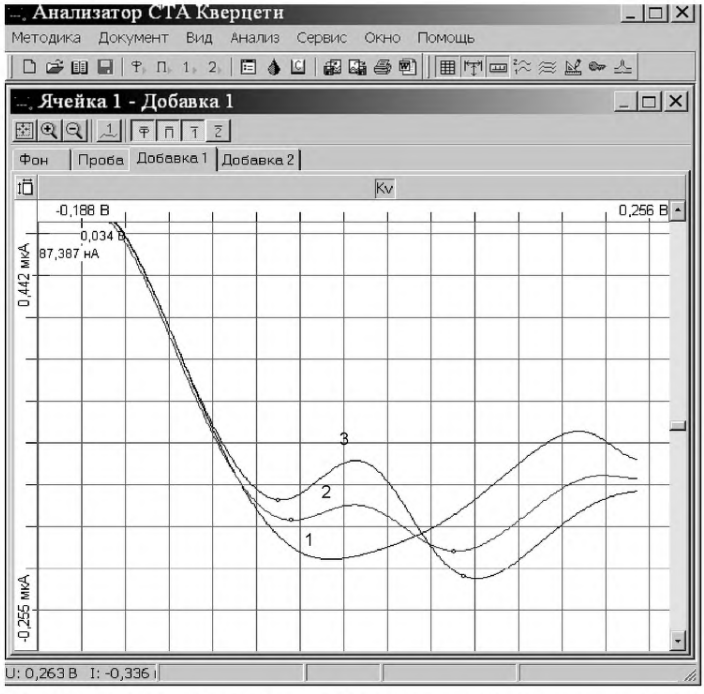



*Рисунок 11. Вольтамперограмма определения кверцетина в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) АС кверцетина*

## ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

➢ РАЗРАБОТЧИКИ:

1. *Слипченко В.Ф.* – к.х.н., н.с. НИЛ микропримесей Томского политехнического университета, сотрудник ООО ВНПФ «ЮМХ»;
2. *Михеева Е В.* – н.с. НИЛ микропримесей Томского политехнического университета, сотрудник ООО ВНПФ «ЮМХ».
3. *Анисимова* Л.С. – к.х.н., доцент каф. ФАХ Томского политехнического университета;
4. *Слепченко* Г.Б. – д.х.н., с.н.с., зав. НИЛ микропримесей Томского политехнического университета
5. *Пикула* Н.П. – к.х.н., доцент каф. ФАХ ТПУ, эксперт по аккредитации аналитических лабораторий.
6. *Щукина Т.И.* – н.с. НИЛ микропримесей Томского политехнического университета, сотрудник ООО ВНПФ «ЮМХ».

***ООО «Внедренческая научно-производственная фирма «ЮМХ»***
***(382-2)563-860, 563-572,***
***microlab@tpu.ru***, gost.e-ecolog.ru

***Перечень аттестованных в соответствии с ГОСТ Р 5725 вольтамперометрических методик количественного химического анализа***

| | Объект анализа | Компонент | Нормативный документ |
|---|---|---|---|
| ЭКОЛОГИЯ | Вода природная, питьевая, очищенная сточная | Zn, Cd Pb, Cu | **08-47/163,** ГОСТ Р 52180, ПНД Ф 14.1:2:4.236-07 ФР.1.31.2004.01219, МР №01-19/137-17 |
| | | Mn, Bi, Sb | **08-47/174,** ФР.1.31.2005.01632 |
| | | Hg | **08-47/162,** ФР.1.31.2005.01450 |
| | | As | **08-47/176,** ФР.1.31.2005.01553 |
| | | Ni | **08-47/187** ФР.1.31.2005.01811 |
| | | Фенол | **08-48/189** ФР.1.31.2005.01919, ПНД Ф 14.1:2:4.18-95 (издание 2007 г.) |
| | | Анилин | **08-47/147,** ФР.1.31.2004.01077 |
| | Воды питьевые, минеральные природн.столовые, лечебно-столовые | Se | **08-47/082, ГОСТ 52315,** ФР.1.31.2001.00235 |
| | | Ag | **08-47/161,** ФР.1.31.2004.01323 |
| | | Нитрат-ионы | **08-47/178,** ФР.1.31.2005.01634 |
| | Почвы | Zn, Cu, Cd, Pb | **08-47/152,** ФР.1.31.2004.01216 |
| | | Hg, Fe, As, Ni, Cr **НОВИНКА !!! на стадии разработки** | |
| | Воздух рабочей зоны и атмосферный возд. нас. мест | Zn, Cd Pb, Cu, Ni | **08-47/143,** ФР.1.31.2004.01073 |
| ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ | Продукты пищевые и продовольственное сырье *(плоды, овощи, мясо, мясопродукты, яйцо, рыба, морепродукты, молоко и молочные продукты, зерно (семена), крупа, хлеб, мукомольно-крупяные и хлебобулочные, кондитерские изделия, жиры, маргарины, масла и др., напитки алкогольные и безалкогольные, чай, кофе, какао, сахар, соль)* | Zn, Cd, Pb, Cu | **08-47/136, ГОСТ Р 51301,** ФР.1.31.2005.01637 |
| | | As | **08-47/175, ГОСТ Р 51962,** ФР.1.31.2005.01552 |
| | | Se | **08-47/132,** ФР.1.31.2003.00935 |
| | Напитки безалког., воды питьевые и минеральные, хлеб, соль поваренная | Йод | **08-47/112,** ФР.1.31.2001.00214, Изм.1, 2004г. |
| | Напитки алкогольные и безалкогольные | Hg | **08-47/168, ГОСТ Р 51823,** ФР.1.31.2005.01453 |
| | Алкогольные и безалкогольные напитки, Питьевые и минеральные воды | Fe, As | **08-47/078,** ФР.1.31.2001.00236 |
| | Напитки алкогольные | Co | **08-47/155,** ФР.1.31.2004.01113 |
| | | Ni | **08-47/156,** ФР.1.31.2004.01114 |
| | Молоко и молочные продукты | Co | **08-47/157,** ФР.1.31.2004.01115 |
| | | Левомицетин | **08-47/086,** ФР.1.31.2001.00238 |
| | | Hg | **08-47/160,** ФР.1.31.2004.01118 |
| | | Йод | **08-47/149,** ФР.1.31.2004.01110 |
| | Соки, напитки овощные и фруктовые, детского питания | Sn, Pb | **08-47/154,** ФР.1.31.2004.01218 |
| | | Витамин С | **08-47/113,** ФР.1.31.2001.00251, Изм.1, 2004 |
| | Прод.детского питания, соки, фрукты, ягоды и вит.преп-ты | Вит. $B_1$ | **08-47/164,** ФР.1.31.2005.01551 |
| | | Вит. $B_2$ | **08-47/144,** ФР.1.31.2004.01074 |
| | Овощи, фрукты и продукты их переработки | As, Hg | **08-47/158,** ФР.1.31.2004.01116 |
| | Продукты консервированные | Sn, Pb | **08-47/169,** ФР.1.31.2005.01454 |

| | Объект анализа | Компонент | Нормативный документ |
|---|---|---|---|
| | **Рыба и рыбопродукты** | **Hg** | **08-47/167**, ФР.1.31.2005.01452 |
| | **Мясо и мясопродукты** | | **08-47/196**, ФР.1.31.2006.02272 |
| | **Яйцо. Мясо и прод.их перер.** | *Левомицетин* | **08-47/106**, ФР.1.31.2001.00250 |
| | **Жировые продукты** *(масла растит. и прод. их перераб. маргарин, майонез, масла животн., сливоч. масло, жиры)* | **Fe, As** | **08-47/077**, ФР.1.31.2001.00237,Изм.1, 2004 |
| | | **Ni** | **08-47/188**, ФР.1.31.2005.01918 |
| | **Мука, крупа, хлеб, хлебобулочные и мукомольно-крупяные изделия** | **Hg** | **08-47/138**, ФР.1.31.2004.01320 |
| | | **Витамин В1** | **08-47/204** |
| БИООБЪЕКТЫ | **Биологические объекты (ВОЛОСЫ)** | **Zn, Cd, Pb, Cu, As, Se, Йод, Fe, Ni** | **08-47/197**, ФР.1.31.2006.02273 |
| | **Биологические объекты** *(кровь, моча)* | **Cd, Pb, Cu** | **08-47/073**, ФР.1.39.2001.00216 |
| | | **Hg** | **08-47/074**, ФР.1.39.2001.00217 |
| | *(кровь, сыворотка крови)* | **Йод** | **08-47/195**, ФР.1.31.2006.02271 |
| | | **Se** | **08-47/194**, ФР.1.31.2006.02270 |
| | *(моча)* | **Уран** | **08-47/105**, ФР.1.39.2001.00215, Изм.1, 2004 |
| | | **Йод** | **08-47/148**, ФР.1.31.2004.01109 |
| | | **Se** | **08-47/137**, ФР.1.31.2003.00936 |
| КОРМА | **Комбикорма и продукты переработки** | **As** | **08-47/150**, ФР.1.31.2004.01111 |
| | **Корма, витаминные подкормки, премиксы** | **Вит. $B_2$** | **08-47/088**, ФР.1.31.2001.00247 |
| | | **Вит. $B_1$** | **08-47/089**, ФР.1.31.2001.00248, |
| ТОВАРЫ НАРОДНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ | **Косметические преп. и средства декоративной косметики** *(тушь, помада, крем, тени и т.д.)* | **Zn, Cd, Pb, Cu** | **08-47/151**, ФР.1.31.2004.01112 |
| | | **Hg** | **08-47/159**, ФР.1.31.2004.01117 |
| | **Детские игрушки** | **Cd, Pb, Sb, Se, As, Hg** | **08-47/145**, ФР.1.31.2004.01075 |
| | **Посуда и посудо-хозяйственные товары** | **As, Zn, Cu Cd, Pb** | **08-47/146**, ФР.1.31.2004.01076, Изм.1, 2004 |
| | **Средства гигиены полости рта** *(зубные пасты, эликсиры и т.д.)* | **Zn, Cd, Pb Cu, Hg** | **08-47/084**, ФР.1.39.2001.00253, Изм.1, 2004 |
| | *Таблетки, порошки,капсулы* | **Тетрациклин, Левомицетин** | **08-47/111**, ФР.1.39.2001.00249, Изм.1, 2004 |
| БАД | **Биологически Активные Добавки (БАД)** | **Вит.С, Вит. $B_1$ Вит. $B_2$, Вит. Е Кверцетин** | **08-47/141**, ФР.1.31.2004.01071 |
| | | **Zn, Cd,Pb, Cu Se, As, Fe** | **08-47/142**, ФР.1.31.2004.01072 |
| | | **Йод** | **08-47/177** , ФР.1.31.2005.01554 |
| | **Спирт. экстракты и настойки лекарств. трав, плодов и ягод** | **Флавоноиды** *(рутин и кверцетин)* | **08-47/166**, ФР.1.31.2005.01451 |

**ФР….. – номер аттестованной методики по Государственному реестру методик выполнения измерений допущенных к применению в сферах распространения метрологического контроля и надзора**

**Изм.1 - методических указаний актуализированные в соответствии с ГОСТ Р 5725-2002, путем внесения изменений**

**ПНД Ф…. – методика внесена в «Государственный реестр методик количественного химического анализа и оценки состояния объектов окружающей среды, допущенных для государственного экологического контроля и мониторинга (ПНД Ф)»**

gost.e-ecolog.ru