Методика зарегистрирована в Федеральном реестре методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора (регистр. код ФР.1.31.2004.01074)

МУ 08-47/144

(по реестру аккредитованной метрологической службы Томского политехнического университета)

ПРОДУКТЫ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ, СОКИ, ФРУКТЫ, ЯГОДЫ И ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ ПРЕПАРАТЫ.

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ВИТАМИНА B_2

взамен ***08-47/054***

Томск

gost.e-ecolog.ru

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

СВИДЕТЕЛЬСТВО ОБ АТТЕСТАЦИИ МВИ

№ 08-47/144

(взамен № 08-47/054)

Методика выполнения измерений массовой концентрации витамина B_2 методом вольтамперометрии, разработанная в Томском политехническом университете и ООО «ВНП Ф «ЮМХ» и регламентированная в МУ 08-47/144 (по реестру аккредитованной метрологической службы Томского политехнического университета)

ПРОДУКТЫ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ, СОКИ, ФРУКТЫ, ЯГОДЫ И ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ ПРЕПАРАТЫ. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ВИТАМИНА B_2

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96.

Аттестация осуществлена по результатам теоретического и экспериментального исследования методики выполнения измерений.

В результате аттестации установлено, что данная методика обладает следующими основными метрологическими характеристиками:

1 Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости методики при доверительной вероятности P=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 B_2	от 0,02 до 1,00, мг/100г включ. или от 0,20 до 10,00, мг/кг включ.	8	12	24
	св. 1,00 до 500,0, мг/100 г или св. 10,00 до 5000, мг/кг	5	7	14

2 Значения нормативов оперативного контроля сходимости 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 B_2	от 0,02 до 1,00, мг/100г включ. или от 0,20 до 10,00, мг/кг включ.	$0,22 \cdot \overline{X}$	$0,29 \cdot \overline{X}$	$0,34 \cdot \overline{\overline{X}}$
	св. 1,00 до 500,0, мг/100 г или св. 10,00 до 5000, мг/кг	$0,14 \cdot \overline{X}$	$0,18 \cdot \overline{X}$	$0,20 \cdot \overline{\overline{X}}$

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

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

3 Дата выдачи свидетельства 6 февраля 2004 г

Метролог метрологической службы ТПУ

_____ Н.П.Пикула

"6" февраля 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

"6" февраля 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

" 6 " февраля 2004 г.

МУ 08-47/144

(по реестру аккредитованной метрологической службы)

ПРОДУКТЫ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ, СОКИ, ФРУКТЫ, ЯГОДЫ И ВИТАМИНИЗИРОВАННЫЕ ПРЕПАРАТЫ. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ВИТАМИНА B_2

взамен ***08-47/054***

Методика количественного химического анализа проб овощей и фруктов, продуктов их переработки, продуктов детского питания, включая молочные смеси и крупы на содержание количеств витамина B_2 (рибофлавина) методом инверсионной вольтамперометрии

"СОГЛАСОВАНО"
Метролог
метрологической службы ТПУ

_____ Н.П. Пикула
" 6 " февраля 2004 г.

Томск

1 НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий документ (МУ 08-47/144) устанавливает методику выполнения измерений массовых концентраций витамина B_2 (рибофлавина) при анализе проб продуктов детского питания, соков, фруктов, ягод и витаминизированных препаратов методом вольтамперометрии (ВА).

Диапазоны содержаний определяемого компонента (витамина B_2) представлены в таблице 1.

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

2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей методике использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 8.563-96 Методики выполнения измерений

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.019-79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009-83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 612-75 Реактивы. Марганца хлорид четырех водный ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$). Технические условия

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 4461-77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 5381-72 Редуктор. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7047-55 Витамины А, С, Д, В1, В2 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 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 Реактивы. Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

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

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

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 29169-91 (ИСО 648-77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

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 29228-91 (ИСО 835-2-81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 2. Пипетки градуированные без установленного времени ожидания

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

Сущность методики состоит в переводе проб продуктов детского питания, соков, фруктов, ягод и витаминизированных препаратов в раствор путем кислотного гидролиза навесок соответствующих проб, денатурации и высаливания белка из гидролизата с последующим вольтамперометрическим 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.

Процесс электрохимического накопления витамина B_2 проводят в растворе хлорида калия концентрации 0,05 - 0,10 моль/дм^3, подкисленном соляной кислотой до значений pH примерно 2 - 4, на индикаторном стеклоуглеродном электроде при потенциале, равном минус 0,60 В отно-

сительно насыщенного хлорсеребряного электрода (нас.х.с.) в течение 30 с.

Процесс электрохимического окисления витамина B_2 проводят при линейно-меняющемся (в сторону положительных значений) потенциале при заданной чувствительности прибора ПУ-1 и при накопительной развертке потенциала с использованием комплекса СТА в дифференциальном режиме записи вольтамперограмм в этом же растворе. Потенциал пика витамина B_2 в пробах на данном фоне находится в диапазоне от минус 0,20 В до минус 0,10 В в зависимости от его содержания и pH анализируемого раствора. Массовая концентрация витамина B_2 в пробе определяется методом добавок аттестованных смесей витамина B_2.

Общая схема анализа проб методом вольтамперометрии представлена на рисунке 1.

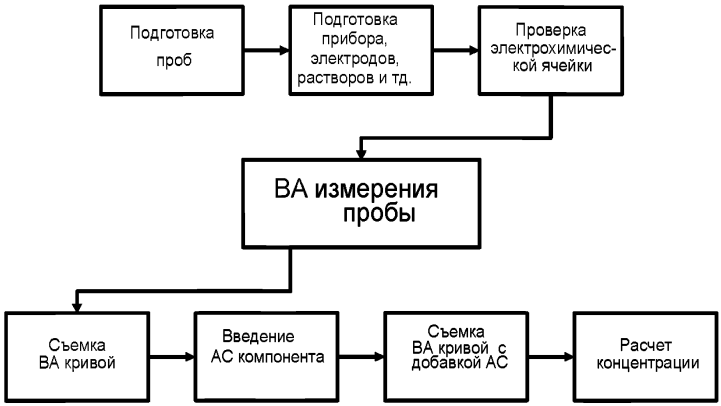


Рисунок 1. Основные этапы анализа проб методом ВА

4 ПРИПИСАННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ И ЕЕ СОСТАВЛЯЮЩИХ

4.1 Методика выполнения измерений массовых концентраций витамина B_2 в пробах продуктов детского питания, соков, фруктов, ягод и витаминизированных препаратов 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 P=0,95

Компонент	Диапазон определяемых концентраций	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r\left(\overset{0}{\delta}\right)$, %	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R\left(\overset{0}{\delta}\right)$, %	Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики), δ,%
витамин B_2	от 0,02 до 1,00, мг/100г включ. или от 0,20 до 10,00, мг/кг включ.	8	12	24
	св. 1,00 до 500,0, мг/100 г или св. 10,00 до 5000, мг/кг	5	7	14

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 ± 10) В.

6 ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

Отбор проб проводится согласно требованиям по ГОСТ 7047.

Растворы проб продуктов детского питания, соков, фруктов, ягод и витаминизированных препаратов хранят под темным колпаком и анализируют в течение рабочего дня, так как витамин B_2 со временем в растворе разлагается на свету (происходит уменьшение его концентрации в пробе).

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

При проведении количественного химического анализа применяют 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 Ф-203 [1];

– или комплекс аналитический вольтамперометрический СТА [2] в комплекте с IBM-совместимым компьютером (выполнение измерений приведено в приложении Б);

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

7.1.2 Электроды

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

7.1.3 Электролитическая ячейка, в состав которой входят:

- сменные стаканчики из кварцевого стекла вместимостью 15 - 20 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 типа ДП-1-50 или ДП-1-200 или ДП-1-1000 с дискретностью установки доз 1,0 или 3,0 мкл и погрешностью не более 5 % отн.

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

7.1.8 Линейка чертежная мерительная по ГОСТ 17435.

7.1.9 Темный бокс или светозащитная бумага.

7.1.10 Центрифуга ОПН-8 или любая другая.

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 50,0, 25,0; 100,0, 250,0 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.

7.3 Реактивы и материалы

7.3.1 Вода бидистиллированная по ГОСТ 6709.

7.3.2 Спирт этиловый высшей очистки по ГОСТ 18300.

7.3.3 Калий хлористый [3].

7.3.4 Марганца хлорид 4-водный по ГОСТ 612 ч.д.а.

7.3.5 Натрий двууглекислый по ГОСТ 2156.

7.3.6 Рибофлавин (сухой порошок с содержанием основного вещества не менее 99,0 %).

7.3.7 Кислота серная концентрированная по ГОСТ 11125 ос.ч. или по ГОСТ 4461 х.ч.

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

7.3.9 Азот газообразный по ГОСТ 9293 или другой инертный газ (аргон, гелий) с массовой долей кислорода не более 0,01 %.

7.3.10 Бумага индикаторная универсальная.

7.3.11 Фильтры беззольные любой марки.

7.3.12 Бумага масштабно-координатная.

8 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

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):

- двухэлектродная система измерений;
- постояннотоковый дифференциальный режим регистрации вольтамперограмм;
- поляризующее напряжение для электронакопления витамина B_2 - минус 0,60 В;
- скорость линейного изменения потенциала 15 мВ/с;
- чувствительность прибора при регистрации вольтамперограммы $1 \cdot 10^{-10} ... 1 \cdot 10^{-9}$ А/мм (в зависимости от содержания витамина в анализируемой пробе);
- время электронакопления 30 с.

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 после многократного ополаскивания их дистиллированной водой и раствором фонового электролита.

Оптимальными по чистоте являются реактивы и посуда, когда регистрируемые аналитические сигналы органического соединения в рас-

творе фонового электролита практически отсутствуют (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 тефлоновую трубку. Индикаторный стеклоуглеродный электрод представляет собой стеклоуглеродный стержень диаметром 2 мм и длиной 10 – 15 мм, запрессованный во фторопластовый держатель (поставляется потребителю в готовом виде).

Перед работой электрод шлифуют на фильтровальной бумаге, выдерживают 2 – 5 мин в этиловом спирте (для удаления поверхностно-активных органических веществ, а также для очистки от адсорбированных частиц).

8.3.2 Подготовка к работе электрода сравнения

В качестве электрода сравнения используют насыщенный хлорсеребряный электрод. Электрод сравнения заполняют насыщенным раствором хлорида калия. При первом заполнении электрод выдерживают не менее 48 ч.

8.3.3 Проверку работы индикаторного стеклоуглеродного электрода и электрода сравнения проводят в соответствии с 9.1 настоящей методики.

8.4 Приготовление растворов

8.4.1 Основной раствор (ОР), содержащий 1000 мг/дм^3 витамина B_2

На аналитических весах берут навеску (0,050±0,001) г витамина B_2 и переносят в мерную колбу вместимостью 50,0 см^3, приливают 5,0 - 10,0 см^3 раствора *NaOH* концентрации 0,01 моль/дм^3, тщательно перемешивают до полного растворения витамина B_2 и доводят объем колбы до метки бидистиллированной водой.

8.4.2 Аттестованные смеси серий АС-1, АС-2 с содержанием по 300,0 мг/дм^3 и 500,0 мг/дм^3 витамина B_2 готовят соответствующими разбавлениями растворов в мерных пробирках (цилиндрах) вместимостью 10,0 см^3 бидистиллированной водой согласно таблице 2.

Т а б л и ц а 2 - Приготовление аттестованных смесей витамина B_2

Компонент	Концентрация исходного раствора для приготовления АС, мг/дм^3	Отбираемый объем, см^3	Объем мерной посуды, см^3	Концентрация приготовленного раствора АС, мг/дм^3	Код полученного раствора (АС)
витамин B_2	1000,0	3,0	10,0	300,0	АС-1
	1000,0	5,0	10,0	500,0	АС-2

АС-1, АС-2 - можно использовать в течение недели.

8.4.3 Фоновый электролит - раствор хлорида калия концентрации 0,05 - 0,10 моль/дм^3, подкисленный раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 до значений pH 2 - 4

На аналитических весах взвешивают навеску (7,5 $\pm$ 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 концентрации 0,1 моль/дм^3 и доводят бидистиллированной водой до метки.

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

В мерную колбу вместимостью 100,0 см^3 вносят 0,80 см^3 перегнанной соляной кислоты концентрации 7,0 - 8,0 моль/дм^3, растворяют в небольшом количестве бидистиллированной воды и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

8.5 Подготовка проб

Анализируемые сухие молочные смеси, овощные и фруктовые пюре и соки, крупы, витаминизированные препараты и др. готовят для анализа, предварительно проведя кислотный гидролиз.

Навеску пробы массой (согласно таблицы 3) переносят в мерную колбу вместимостью 250,0 см^3, добавляют бидистиллированной воды (согласно таблицы 3), 2,0 см^3 соляной кислоты концентрации 7 моль/дм^3, нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Затем гидролизат охлаждают до температуры 30 °С - 40 °С и добавляют 0,5 г марганца хлорида 4-водного ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$), центрифугируют в течение 15 мин. Центрифугат сливают в колбу и добавляют 3 - 4 г хлорида калия, осадок отфильтровывают через бумажный фильтр. Полученный фильтрат является подготовленной пробой для выполнения ВА измерений.

Для измерений берут аликвоту пробы объемом 0,1 - 1,0 см^3.

Т а б л и ц а 3 – Рекомендуемые навески проб продуктов детского питания, соков, фруктов и ягод для определения массовых концентраций витамина B_2 и витаминизированных препаратов

Объект анализа	Навеска пробы, г	Объем бидистиллированной воды, $см^3$
1. Пюре и соки на фруктовой и ягодной основе	50	50
2. Пюре и соки на овощной и овощемолочной основе	10	90
3. Детские молочные смеси	10	90
4. Крупы	10	90
5. Витаминизированные препараты	0,1 – 0,5	100

9 ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

Выполнение измерений с использованием вольтамперометрического комплекса СТА проводят по ***приложению Б (с программным обеспечением DOS) или по Инструкции №1 (с программным обеспечением Windows).***

При проведении анализов проб продуктов детского питания, соков, фруктов, ягод и витаминизированных препаратов для определения массовой концентрации витамина B_2 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 прокаленный в муфельной печи кварцевый стаканчик вместимостью 15 - 20 $см^3$ с помощью пипетки вносят 10,0 $см^3$ раствора фонового электролита (хлорида калия концентрации 0,05 - 0,10 моль/$дм^3$, подкисленного раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/$дм^3$ до pH 2 - 4). Стаканчик с раствором фонового электролита помещают в электролитическую ячейку или датчик.

9.1.2 Опускают в раствор индикаторный электрод и электрод сравнения. Подключают к прибору электроды, устанавливают потенциал минус 0,60 В.

9.1.3 Устанавливают чувствительность прибора $4 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-9}$ А/мм. Включают газ и в течение 180 с удаляют из раствора кислород пропусканием азота.

9.1.4 Проводят процесс электронакопления при потенциале минус 0,60 В 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 минус 0,60 В до 0,10 В. Потенциал анодного пика витамина B_2 находится в диапазоне от минус 0,20 В до минус 0,10 В (в зависимости от содержания витамина B_2 и значений pH раствора подготовленной пробы).

9.1.6 После снятия вольтамперограммы стеклоуглеродный электрод вынимают из электрохимической ячейки, ополаскивают дистиллированной водой, опускают на 2 – 3 с в стаканчик с этиловым спиртом и протирают рабочую поверхность электрода фильтрованной бумагой.

9.1.7 Подключают индикаторный электрод и 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.

9.2 ВА измерения пробы продуктов детского питания, соков, фруктов, ягод и витаминизированных препаратов

9.2.1 В кварцевый стаканчик, подготовленный к проведению ВА измерений по 9.1, помещают точно отмеренную аликвоту 0,1 - 1,0 $см^3$ полученного фильтрата анализируемой пробы, подготовленного к измерению по 8.5. Доводят объем пробы до 10 $см^3$ раствором фонового электролита (раствор хлорида калия концентрации 0,05 - 0,10 моль/$дм^3$, подкисленного раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/$дм^3$ до значений pH 2 - 4).

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 анодного пика витамина B_2 превышает 200 мм, то изменяют чувствительность прибора (загрубить). Если высота анодного пика витамина B_2 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 анодных пиков определяемого компонента.

9.2.7 В стаканчик с анализируемым раствором с помощью пипетки или дозатора вносят добавку аттестованной смеси витамина B_2 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 таблице 4.

Таблица 4 - Рекомендуемые добавки аттестованных смесей и чувствительности прибора при регистрации вольтамперограмм продуктов детского питания, соков, фруктов, ягод и витаминизированных препаратов

Диапазон определяемых концентраций вещества, мг/100 г	0,02 - 3,0	3,0 - 30,0	30,0 - 500,0
Время электролиза, с	30	30	30
Концентрация аттестованной смеси для добавок, мг/дм^3	500,0	500,0	1000,0
Рекомендуемый объем добавок, см^3	0,02	0,04 - 0,08	0,04 - 0,08
Чувствительность прибора , А/мм	5.10^{-10}	1.10^{-9}	2.10^{-9}

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

9.2.9 Измеряют высоты анодных пиков витамина B_2 в пробе с добавкой аттестованной смеси витамина B_2.

9.2.10 Выливают содержимое стаканчика.

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

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 5.

Таблица 5 - 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 $см^3$, Сдоб $мг/дм^3$	Высота пика компонента после добавки АС, мм, или ток, А

10 ВЫЧИСЛЕНИЕ И ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

10.1 При использовании вольтамперометрического анализатора в комплекте с компьютером регистрацию и обработку результатов измерений аналитических сигналов и расчет массовых концентраций компонента в пробе 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 проводят следующим образом:

10.2 Расчет содержания компонента в пробе

10.2.1 Расчет содержания ***витамина B_2*** в анализируемой пробе проводится по формуле:

$$X_i = \frac{I_1 \cdot C_Д \cdot V_Д \cdot V_{пр}}{(I_2 - I_1) \cdot m \cdot V_{ал}}, \qquad (1)$$

где: X_i - содержание ***витамина B_2*** в анализируемой пробе, мг/кг;

$C_Д$ - концентрация аттестованной смеси витамина B_2, из которой делается добавка к анализируемой пробе, $мг/дм^3$;

$V_Д$ - объем добавки АС витамина B_2, $см^3$;

I_1 - величина максимального анодного тока витамина B_2, в анализируемой пробе, А;

I_2 - величина максимального анодного тока витамина B_2 в пробе с добавкой АС, А;

m - масса навески анализируемой пробы, г ;

$V_{пр}$ - объем разведенной анализируемой пробы, $см^3$;

$V_{ал}$ - объем аликвоты пробы, взятой для ВА измерений, $см^3$.

Примечание: Для получения результата анализа в мг/100 г необходимо полученное значение разделить на 10.

Таким образом получен результат анализа первой параллельной пробы – X_1.

10.2.2 Аналогичные вычисления проводят для второй параллельной анализируемой пробы. Получают соответственно значения X_2.

10.2.3 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 6.

Таблица 6 - 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 B_2	от 0,02 до 1,00, мг/100г включ. или от 0,20 до 10,00, мг/кг включ.	$0{,}22 \cdot \overline{X}$	$0{,}29 \cdot \overline{X}$
	св. 1,00 до 500,0, мг/100 г или св. 10,00 до 5000, мг/кг	$0{,}14 \cdot \overline{X}$	$0{,}18 \cdot \overline{X}$
$\overline{X}$ - среднее арифметическое значение результатов параллельных определений массовой концентрации компонента			

Результаты считают приемлемыми при выполнении условия

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

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

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

по таблице 6.

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

10.2.4 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 6.

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 [4] или разделу А.2 приложения А настоящего документа на методику.

10.2.5 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.

10.3 Оформление результатов измерений

10.3.1 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.

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

$\overline{X} \pm \Delta$, мг/кг или мг/100 г продукта, P=0,95,

или

$\overline{X} \pm \Delta_Л$, мг/кг или мг/100 г продукта, 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;

± Δ – значения характеристики погрешности настоящей методики выполнения измерений, которые рассчитываются по формуле

$$\Delta = 0{,}01.\delta \cdot \overline{X}, \quad (4)$$

где δ - 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

$$\Delta_{Л} = 0{,}84 \cdot \Delta \quad (5)$$

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 [4] 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 возглавляют 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 7, или к критической разности для двух среднеарифметических результатов измерений в соответствии с 5.3.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

Расхождение между результатами измерений, полученных в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости. Значения предела воспроизводимости приведены в таблице 7.

При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их общее среднее значение.

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

Таблица 7 - Диапазон измерений, значения предела воспроизводимости при доверительной вероятности P=0,95

Компонент	Диапазон определяемых концентраций	Предел воспроизводимости (для двух результатов измерений), *R*
витамин B_2	от 0,02 до 1,00, мг/100г включ. или от 0,20 до 10,00, мг/кг включ.	$0{,}34 \cdot \overline{\overline{X}}$
	св. 1,00 до 500,0, мг/100 г или св. 10,00 до 5000, мг/кг	$0{,}19 \cdot \overline{\overline{X}}$
$\overline{\overline{X}}$ - 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 [5]);
- 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 6.

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.

А.3.2 Рассчитывают результат контрольной процедуры

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

Рассчитывают или устанавливают норматив контроля внутрилабораторной прецизионности

$$R_{Л} = 0,84 \cdot R = 0,28 \cdot \overline{\overline{X}}, \qquad (А.4)$$

где R – значение предела воспроизводимости, приведенное в таблице 7,

$\overline{\overline{X}}$ – 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

$$R_{ЛК} \le R_{Л}. \qquad (А.5)$$

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 невыполнения 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:

$$K_K = \left| \overline{X}^{/} - \overline{X} - C \right|, \text{ где} \qquad (А.6)$$

$\overline{X}^{/}$ - 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 6.

$\overline{X}$ - 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

$$K_Д = \sqrt{\Delta_{л\overline{X}^{/}}^{2} + \Delta_{л\overline{X}}^{2}}, \text{ где} \qquad (А.7)$$

$\Delta_{л\overline{X}^{/}}$, $\Delta_{л\overline{X}}$ – 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 $\Delta_П$ можно использовать примечание в разделе 11.2 настоящего документа.

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

$$Кк \leq Кд . \qquad (А.8)$$

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 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 – *X* и его аттестованным значением – *С*, с нормативом оперативного контроля точности – *К*.

Результат контрольной процедуры равен

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

Норматив контроля точности К рассчитывают по формуле:

$$К = \Delta_П = 0{,}84 \cdot \Delta = 0{,}0084 \cdot \delta \cdot \overline{X} , \qquad (А.10)$$

где значение δ приведено в таблице 1.

А.5.3 Точность контрольного измерения признают удовлетворительной, если:

$$Кк \le К . \qquad (А.11)$$

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 B_2

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 B_2.***

Для этого проводят следующие операции:

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

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

<table>
<tr><td>Ячейки</td><td colspan="2">1 - Вкл.</td><td colspan="2">2 – Вкл.</td><td colspan="2">3 - Вкл.</td><td rowspan="7">Тип развертки

Накопительная

Шаг - 4
Амплитуда – 0
Задержка 1 - 5
Задержка 2 - 0
Заполнение - 0
Потенциал – 0,0
I рез = 11 – 12
График разв.</td></tr>
<tr><td>Этапы</td><td>Время</td><td>Потен-циал</td><td>УФО</td><td>Газ</td><td>Меш.</td></tr>
<tr><td>1. Подготовка раствора</td><td>180 с</td><td>0,100</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>2. Обработка раствора</td><td>10</td><td>0,100</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>3. Обработка электрода</td><td colspan="2">0 с
Цикл мс 1: 0,000
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>0,100</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл.</td></tr>
<tr><td>5. Накопление</td><td>30 с</td><td>-0,600</td><td>Выкл.</td><td>Вкл.</td><td>Выкл</td></tr>
<tr><td>6. Успокоение</td><td>10 с</td><td>-0,600</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
Множитель - 1· 10-10
Производная – Вкл.
Циклическая - Выкл.
Инверсия – Выкл. Реверс – Выкл.
Фильтр – 50</td><td colspan="3">Сплайн-разметка Выкл.
Вычитание ФОНа 0%</td></tr>
<tr><td colspan="7">Диапазоны поиска пиков элементов:
Элемент B2
Потенциал - 0,150
Зона [+/- мВ] 100</td></tr>
</table>

Б.1.2 Стаканчик с раствором фонового электролита (раствор хлорида калия концентрации 0,05 - 1,00 моль/дм^3, подкисленный раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 до pH 2 - 4) объемом 10,0 см^3 помещают в анализатор.

Б.1.3 Устанавливают электроды:
Стеклоуглеродный (катод) – в гнездо РЭ,
Хлорсеребряный (анод) – в гнездо ХСЭ,
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 B_2 концентрации 1000,0 $мг/дм^3$. Полученный раствор является контрольной пробой с содержанием витамина B_2 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»). Переходят в команду «ДОБАВКА» (см. «Руководство пользователя» команда ДОБАВКА).

Б.1.10 Вводят в стаканчик с пробой еще одну добавку витамина B_2 объемом 0,02 $см^3$ концентрации 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 [см3]	
Объем минерализата	10,00 [см3]	
Объем аликвоты	10,00 [см3]	
ДОБАВКА		
Элемент	Объем добавки АС [см3]	Концентрация АС [мг/дм3]
B2	0,02	1000

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

Если расхождение между результатами в ячейках составляет менее 30%, электроды считают пригодными к работе. После этого присту-

пают к измерению проб в такой же последовательности.

Б.2 Измерения при анализе пробы на содержание витамина B_2

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 настоящей методики, и доводят объем пробы до 10 $см^3$ раствором фонового электролита.

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 В2 в пробе выходят из меню действий по пробе и входят в меню "ДОБАВКА". Заполняют таблицу "КОЛИЧЕСТВО" в меню действий по «ДОБАВКЕ».

Например:

Масса навески	10,00 [г]	
Объем пробы	0,00 [см3]	
Объем минерализата	100,00 [см3]	
Объем аликвоты	10,00 [см3]	
ДОБАВКА		
Элемент	Объем добавки АС [см3]	Концентрация АС [мг/дм3]
B2	0,02	1000

Б.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»).

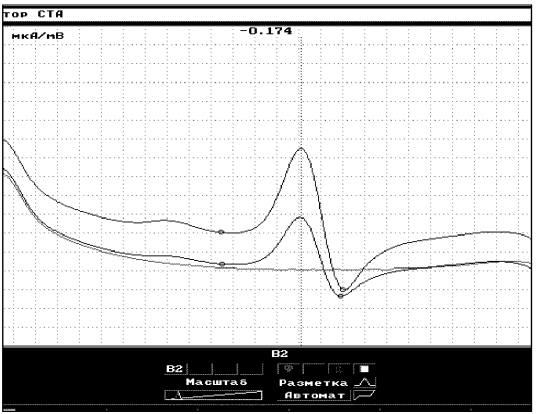


Рисунок 2. Вольтамперограмма определения витамина B_2 в фоновом электролите (1), в пробе (2) и в пробе с добавкой (3) стандартного раствора

ПРИЛОЖЕНИЕ В

(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] МИ 2335–2003 Рекомендация. ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа

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

Инструкция №1

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 хлоридом калия концентрации 1,0 моль/дм^3 с сопротивлением не более 30, кОм.
- **вспомогательный электрод** – *хлоридсеребряный,* заполненный хлоридом калия концентрации 1,0 моль/дм^3 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 хлорида калия концентрации 0,05 - 0,10 моль/дм^3, подкисленный раствором соляной кислоты концентрации 0,1 моль/дм^3 до значений pH 2 – 4.***

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	**0,03** 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 **[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	**B2**	**- 0,250**	**100**	
2		0,000	0,000	

Контроль

Трасса	Развертка	Режим	Элемент	**Контроль**
	Элемент	Относительный предел повторяемости, r, %		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 _____»).

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 стеклоуглеродных электродов по контрольной пробе (методом «введено-найдено»)

Проверку работы стеклоуглеродных электродов (СУЭ) проводят:

1) при неудовлетворительной сходимости результатов анализа;

2) 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 $см^3$.

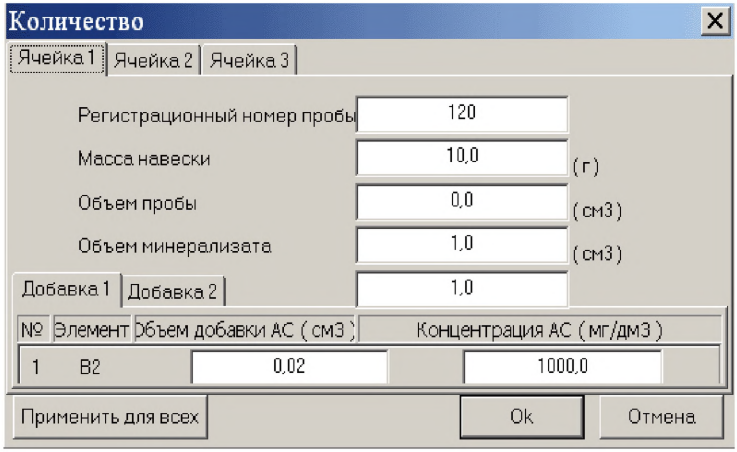
Запускают команду « **Получение вольтамперограмм пробы**». Снимают по 3 – 5 вольтамперограмм. Проводят их разметку (см. «Руководство пользователя», раздел 4.3 «Разметка вольтамперных зависимостей»), удаление «выпадающих» кривых (см. раздел 4.4 «Обработка вольтамперных кривых»).

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 следует повторить еще раз.

Анализ подготовленной для анализа пробы на содержание витамина B2

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).

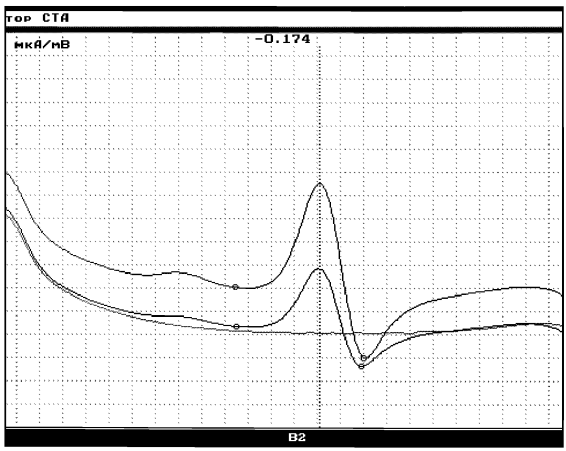


Рисунок 3. Вольтамперограммы фонового электролита, пробы и пробы с добавками АС компонента при определении массовой концентрации витамина В2

Томский центр стандартизации, метрологии и сертификации
НПП "Техноаналит "

СОГЛАСОВАНО
Госстандарт РФ
зам. директора УНИИМ
Добровинский И.Е.
"10" 10 1995 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор НПП "Техноаналит"
Иванов Ю.А.
"29" 06 1995 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор Томского ЦСМ
Мазур Ю.П.
"17" V 06 1995 г.

СВИДЕТЕЛЬСТВО N 08-47/054

о метрологической аттестации методики количественного химического анализа проб овощей и фруктов, продуктов их переработки, продуктов детского питания, включая молочные смеси и крупы на содержание количеств витамина В2 (рибофлавина) методом инверсионной вольтамперометрии

В процессе метрологической аттестации методики количественного химического анализа проб овощей и фруктов, продуктов их переработки, продуктов детского питания, включая молочные смеси и крупы на содержание количеств витамина В2 (рибофлавина) установлены следующие значения характеристик погрешности (и ее составляющих) и значения нормативов оперативного контроля :

1. Приписанные характеристики погрешности (и ее составляющих) результатов определения содержания витамина В2 в продуктах методом инверсионной вольтамперометрии :

Характеристики погрешности и ее составляющих	Диапазон определяемых содержаний, мг/кг	Хар-ка погрешности, %отн.	Вид уравнений зависимости характеристик погрешности и ее составляющих от содержания (X, мг/кг) элемента в пробе
1	3	2	4
Показатель сходимости – $\sigma_{сх}$. Показатель воспроизводимости – $\sigma_{(\Delta)}$. Показатель правильности – Δc Показатель точности – Δ	0.02...1.0	24	$\sigma_{сх} = 0.08 * X$ $\sigma_{(\Delta)} = 0.12 * X$ Δc = незначима $\Delta = 0.24 * X$
	1.0...500	14	$\sigma_{сх} = 0.05 * X$ $\sigma_{(\Delta)} = 0.07 * X$ Δc = незначима $\Delta = 0.14 * X$

2. Виды зависимостей значений нормативов оперативного контроля сходимости, воспроизводимости и точности (в соответствии с принятой системой контроля) при определении содержания витамина В2 в пробах овощей и фруктов, продуктов их переработки, продуктов детского питания, включая молочные смеси и крупы методом инверсионной вольтамперометрии, приведены ниже :

Норматив оперативного контроля	Элемент	Диапазон определяемых содержаний элемента, мг/кг	Вид уравнений зависимости нормативов оперативного контроля от содержания (X,мг/кг) элемента в пробе
1	2	3	4
Норматив контроля сходимости- d при P=0.95 и n=2	Витамин В2	0.02 .. 1.0	d = 0.22 * X
Норматив контроля воспроизводимости - D при P = 0.95			D = 0.33 * X
Норматив контроля точности - K при P = 0.95			K = 0.24 * X
Норматив контроля точности - K1 при P = 0.90			K1 = 0.28 * X
	Витамин В2	1.0 .. 500	d = 0.14 * X
			D = 0.19 * X
			K = 0.14 * X
			K1 = 0.16 * X

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

РАЗРАБОТЧИКИ:

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

© ООО «ВНП Ф «ЮМХ»

(382-2)563-860, 563-572,

gost.e-ecolog.ru *microlab@tpu.ru*, gost.e-ecolog.ru