МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34151— 2017

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение витамина С с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2017

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук (ИФР РАН) и Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования» (ФГБНУ «ВНИИТеК»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 1 июня 2017 г. № 51)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 2 августа 2017 г. № 787-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34151—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 В настоящем стандарте учтены основные положения BS EN 14130:2003 «Продукты пищевые. Определение витамина С с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии» («Foodstuffs. Determination of vitamin C by HPLC»)

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2017

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Сущность метода 2
4 Реактивы 2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование и посуда 4
6 Проведение определений 4
7 Обработка результатов 6
8 Прецизионность измерений 6
9 Протокол испытаний 7
10 Требования безопасности 7
Приложение А (справочное) Пример хроматограммы 8
Приложение Б (справочное) Данные по прецизионности методики 9

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение витамина С с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Foodstuffs. Determination of vitamin C by high performance liquid chromatography

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения витамина С в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Содержание витамина С определяется в виде суммы *L*(+)-аскорбиновой и *L*(+)-дегидроаскорбиновой кислот.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

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

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ ISO 3696—2013** Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля

ГОСТ ISO 5725-2—2003*** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ ISO 7886-1—2011 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

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

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

---

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002.

Издание официальное

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Метод основан на экстракции витамина С из пробы раствором метафосфорной кислоты, с последующим восстановлением *L*(+)-дегидроаскорбиновой кислоты до *L*(+)-аскорбиновой кислоты и определением общего содержания *L*(+)-аскорбиновой кислоты с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием при длине волны 265 нм.

4 Реактивы

4.1 Общие положения

При проведении определений, если не оговорены другие условия, используют только реактивы установленной аналитической чистоты и воду не ниже первой степени чистоты по ГОСТ ISO 3696.

4.2 Реактивы и растворы

4.2.1 Кислота метафосфорная $(HPO_3)_n$.

4.2.2 Натрий фосфат трехзамещенный 12-водный $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ с массовой долей основного вещества не менее 98,0 %.

4.2.3 Калий фосфат однозамещенный (дигидрофосфат) KH_2PO_4 с массовой долей не менее 99,0 %.

4.2.4 *L*-цистеин $C_3H_7NO_2S$ с массовой долей не менее 99,0 %.

4.2.5 *N*-цетил-*N,N,N*-триметиламмонийбромид (цетримид) $C_{19}H_{42}BrN$ с массовой долей не менее 99,0 %.

4.2.6 Метанол (для ВЭЖХ) с массовой долей не менее 99,0 %.

4.2.7 Кислота метафосфорная, раствор массовой концентрации $\rho[(HPO_3)_n] = 200$ г/дм^3

200 г метафосфорной кислоты (см. 4.2.1) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 дм^3, объем содержимого в колбе доводят водой до метки.

Срок годности раствора — 1 мес при температуре 4 °С.

4.2.8 Кислота метафосфорная, раствор массовой концентрации $\rho[(HPO_3)_n] = 20$ г/дм^3

50 см^3 раствора метафосфорной кислоты, приготовленной по 4.2.7, переносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 500 см^3, объем содержимого в колбе доводят водой до метки.

Раствор готовят в день проведения определения.

4.2.9 Натрий фосфорнокислый трехзамещенный, раствор массовой концентрации $\rho(Na_3PO_4 \cdot 12H_2O) = 200$ г/дм^3

200 г фосфорнокислого натрия трехзамещенного (см. 4.2.2) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 дм^3, объем содержимого в колбе доводят водой до метки.

4.2.10 *L*-цистеин, раствор массовой концентрации $\rho(C_3H_7NO_2S) = 40$ г/дм^3

20 г *L*-цистеина (см. 4.2.4) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 500 см^3, объем содержимого в колбе доводят водой до метки.

Раствор готовят в день проведения определения.

4.2.11 Фаза подвижная для ВЭЖХ

13,6 г дигидрофосфата калия (см. 4.2.3) растворяют в стакане в 900 см^3 воды. Раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (раствор А).

1,82 г *N*-цетил-*N,N,N*-триметиламмонийбромида (см. 4.2.5) растворяют в стакане в 100 см^3 метанола (см. 4.2.6). Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм (раствор В).

Смешивают 900 см^3 раствора А и 100 см^3 раствора В. Полученную подвижную фазу для ВЭЖХ при необходимости перед употреблением дегазируют.

4.2.12 Крахмал (применяют по выбору пользователя), раствор массовой концентрации 1 г/100 см^3.

4.2.13 Йод (применяют по выбору пользователя), раствор молярной концентрации $c(I_2)$ = = 0,05 моль/дм^3.

4.2.14 Кислота серная, раствор молярной концентрации $c(H_2SO_4)$ = 0,1 моль/дм^3.

4.3 Стандартные вещества

4.3.1 Кислота аскорбиновая (или *L*(+)–аскорбиновая) с массовой долей $w(C_6H_8O_6)$ не менее 99,7 %

(*R*)-5-[(*S*)-1,2-дигидроксиэтил]-3,4-дигидрокси-5-Н-фуран-2-он.

4.3.2 Кислота эриторбовая (изоаскорбиновая), *D*(–)-аскорбиновая с массовой долей ?= $w(C_6H_8O_6)$ не менее 99,0 %

(*R*)-5-[(*R*)-1,2-дигидроксиэтил]-3,4-дигидрокси-5-Н-фуран-2-он.

4.4 Основные стандартные растворы

4.4.1 Основной стандартный раствор аскорбиновой кислоты массовой концентрации $\rho(C_6H_8O_6)$ = 1 мг/см^3

Растворяют около 100 мг аскорбиновой кислоты (см. 4.3.1), взятой с точностью до 0,1 мг, в 100 см^3 раствора метафосфорной кислоты, приготовленной по 4.2.8.

Раствор готовят в день проведения определения.

Для увеличения срока хранения основного раствора аскорбиновой кислоты добавляют *L*-цистеин.

4.4.2 Основной стандартный раствор эриторбовой (изоаскорбиновой) кислоты массовой концентрации $\rho(C_6H_8O_6)$ = 1 мг/см^3

Растворяют около 100 мг изоаскорбиновой кислоты (см. 4.3.2), взятой с точностью до 0,1 мг, в 100 см^3 раствора метафосфорной кислоты, приготовленной по 4.2.8.

Раствор готовят в день проведения определения.

4.4.3 Вычисление точной концентрации основного стандартного раствора (выполняют по выбору пользователя)

Взвешивают в конической колбе около 150 мг аскорбиновой кислоты, добавляют 10 см^3 раствора серной кислоты (см. 4.2.14) и 80 см^3 воды, не содержащей диоксида углерода. После добавления раствора крахмала (см. 4.2.12) титруют раствором йода (см. 4.2.13) до появления устойчивой синей окраски. Масса аскорбиновой кислоты, эквивалентная 1 см^3 раствора йода, пошедшего на титрование, составляет 8,81 мг.

Массовую долю основного компонента в стандартном веществе w_{st}, %, вычисляют по формуле

$$w_{st} = \frac{V_1 \cdot 8{,}81 \cdot 100}{m}, \quad (1)$$

где V_1 — объем раствора йода, пошедший на титрование, см^3;

8,81 — масса аскорбиновой кислоты, эквивалентная 1 см^3 раствора йода, пошедшего на титрование, мг;

100 — коэффициент пересчета результата в проценты;

m — масса навески стандартного вещества, мг.

4.5 Градуировочные растворы

4.5.1 Градуировочные растворы аскорбиновой кислоты с массовой концентрацией $\rho(C_6H_8O_6)$ от 5 до 50 мкг/см^3

От 0,5 до 5 см^3 основного раствора аскорбиновой кислоты, приготовленного по 4.4.1, переносят пипеткой в мерные колбы вместимостью 100 см^3, объем содержимого в колбах доводят до метки раствором метафосфорной кислоты, приготовленным по 4.2.8.

Растворы готовят в день проведения определения.

4.5.2 Градуировочный раствор эриторбовой (изоаскорбиновой) кислоты с массовой концентрацией $\rho(C_6H_8O_6)$ = 10 мкг/см^3 (готовят по выбору пользователя)

1 см^3 основного раствора изоаскорбиновой кислоты, приготовленного по 4.4.2, переносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 100 см^3, объем содержимого в колбе доводят до метки раствором метафосфорной кислоты, приготовленным по 4.2.8. Концентрация приготовленного раствора должна быть в пределах от 5 до 20 мкг/см^3.

Раствор готовят в день проведения определения.

Допускается применение других химических реактивов по качеству не ниже вышеуказанных.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование и посуда

5.1 Общие положения

Используют обычные приборы и оборудование.

5.2 Спектрофотометр с рабочим спектральным диапазоном в ультрафиолетовой области, пригодный для измерения оптической плотности при требуемых длинах волн, с комплектом кювет.

5.3 Хроматограф жидкостный

ВЭЖХ-система, состоящая из насоса, устройства ввода пробы, спектрофотометрического детектора, пригодного для измерения оптической плотности при длине волны 265 нм и компьютерной системы сбора и обработки данных.

5.4 Колонка для ВЭЖХ разделения

5.4.1 Общие положения

Допускается применение колонки с другим размером частиц сорбента или размерами колонки, по отношению к тем, что указаны в настоящем стандарте. Критерием пригодности колонки является разделение пиков *L*-аскорбиновой и изоаскорбиновой кислот на уровне базовой (горизонтальной) линии.

5.4.2 Параметры хроматографической колонки

Колонка с внутренним диаметром 4,0 мм, длиной 250 мм, заполненная сорбентом* на основе силикагеля с привитыми группами C_{18} размером частиц сорбента 5 мкм.

5.5 Устройство для фильтрации

Мембранный фильтр с размером пор, например, 0,2 или 0,45 мкм. Фильтрование подвижной фазы и раствора пробы перед использованием или вводом в хроматограф продлевает срок службы колонки.

5.6 Весы неавтоматического действия специального класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,001 г.

5.7 Иономер (pH-метр) любого типа, в комплекте с комбинированным стеклянным электродом и пределом абсолютной погрешности измерения ±0,1 ед. pH.

5.8 Пипетки градуированные различной вместимости по ГОСТ 29227.

5.9 Мерные колбы, пробирки и цилиндры различной вместимости по ГОСТ 1770.

5.10 Мешалка магнитная.

5.11 Стаканы исполнения 1 и колбы конические Кн различной вместимости по ГОСТ 25336.

5.12 Мельница лабораторная или гомогенизатор любого типа, для измельчения проб.

5.13 Шприцы однократного применения по ГОСТ ISO 7886-1.

5.14 Виалы стеклянные из темного стекла с крышкой и септой из полимерного материала подходящей вместимости.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками, вспомогательного оборудования и посуды с техническими характеристиками не ниже вышеуказанных.

6 Проведение определений

6.1 Общие положения

При проведении определений необходимо обеспечивать предельно короткий промежуток времени между приготовлением растворов проб и градуировочных растворов и их определением. Температура в помещении при проведении определений не должна превышать 25 °С.

Максимальный срок использования градуировочных растворов — 8 ч с момента их приготовления.

---

* Lichrospher 100 RP 18 является примером подходящего сорбента. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой этого продукта.

6.2 Подготовка пробы

Пробу гомогенизируют. Если проба представляет собой продукт твердой консистенции, ее измельчают на мельнице подходящей конструкции и снова тщательно перемешивают. Определение проводят сразу после гомогенизации. Подготовку проб свежих фруктов и овощей проводят одновременно с экстракцией (см. 6.3.1).

6.3 Приготовление раствора пробы

6.3.1 Экстракция

Навеску пробы подходящей массы, например, 3 г (при содержании витамина С в пробе около 50 мг/100 г), взвешенной с точностью до 1 мг, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Добавляют 80 см^3 раствора метафосфорной кислоты, приготовленной по 4.2.8, содержимое колбы тщательно перемешивают, после чего объем в колбе доводят до метки. Содержимое колбы снова перемешивают, после чего фильтруют. Полученный раствор представляет собой экстракт из пробы.

Для свежих фруктов и овощей навеску предварительно измельченной ножом пробы массой от 2 до 10 г, взвешенной с точностью до 1 мг, помещают в стакан вместимостью 100 см^3, затем вносят некоторое количество раствора метафосфорной кислоты, приготовленной по 4.2.8. Содержимое стакана гомогенизируют, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, перемешивают и фильтруют. Полученный раствор представляет собой экстракт из пробы.

Примечание — Стабильность аскорбиновой кислоты в растворе можно повысить, например, путем добавления к раствору метафосфорной кислоты 125 см^3 раствора *L*-цистеина, приготовленного по 4.2.10, дитиотреитола (DTTA) или диэтилентриаминфосфорной кислоты (DTPA). При этом следует иметь в виду, что эти стабилизаторы могут влиять на качество хроматографического разделения. Данная процедура не использовалась при проведении межлабораторных испытаний.

6.3.2 Проведение реакции восстановления

20 см^3 отфильтрованного экстракта (см. 6.3.1) переносят в стакан вместимостью 50 см^3, добавляют 10 см^3 раствора *L*(+)-цистеина. Устанавливают значение pH полученного раствора в пределах 7,0—7,2 ед. pH (по pH-метру) путем добавления по каплям раствора трехзамещенного натрия фосфата, приготовленного по 4.2.9, при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. По достижении указанного значения pH раствор выдерживают точно 5 мин при постоянном перемешивании. По истечении указанного времени устанавливают значение pH раствора в пределах 2,5—2,8 ед. pH (по pH-метру) путем добавления по каплям раствора метафосфорной кислоты, приготовленной по 4.2.7, при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3, при этом электроды pH-метра, рабочий элемент магнитной мешалки и стакан, в котором находился раствор, ополаскивают водой, перенося смывы в ту же колбу. Объем содержимого в мерной колбе доводят до метки водой, содержимое колбы перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр (см. 5.5), фильтрат используют для хроматографического определения.

Если в продукте имеется информация о наличии загустителей, рекомендуется провести их осаждение перед хроматографическим определением во избежание порчи хроматографической колонки. Для этого к порции восстановленного раствора пробы объемом 4 см^3 добавляют 1 см^3 метанола (см. 4.2.6). Полученный раствор перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр (см. 5.5). Фильтрат используют для хроматографического определения.

6.4 Идентификация

Идентифицируют пик *L*-аскорбиновой кислоты путем сравнения времени удерживания на хроматограмме раствора пробы и на хроматограмме градуировочного раствора. Идентификацию пика *L*-аскорбиновой кислоты можно также проводить путем добавления стандартного раствора в раствор пробы.

Ниже приведены условия хроматографического определения, обеспечивающие требуемую степень хроматографического разделения и пригодные для количественного определения (см. также рисунок А.1. Данные условия были использованы при проведении межлабораторных испытаний):

- неподвижная фаза . . . . . коонка заполненная сорбентом на основе силикагеля с привитыми группами C_{18} с размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,0 мм;
- подвижная фаза . . . . . раствор А + раствор В (см. 4.2.11);
- скорость потока подвижной фазы. . . . . 0,7 см^3/мин;
- объем петли инжектора . . . . . 30 мм^3;
- длина волны детектирования . . . . . 265 нм.

Данные параметры хроматографического определения позволяют также идентифицировать пик изоаскорбиновой кислоты, не являющейся витамином С.

Примечание — В качестве других приемлемых параметров хроматографического определения можно использовать подвижную фазу, состоящую из 10 % ацетонитрила и 90 % смешанного водного раствора однозамещенного фосфата калия массовой концентрации 13,6 г/дм^3 и цетримида массовой концентрации 2 г/дм^3 в сочетании с колонкой, заполненной обращенно-фазовым сорбентом с привитыми октильными группами (C_8) с размером частиц 10 мкм, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, при скорости потока (1,0 ± 0,1) см^3/мин.

6.5 Количественное определение

В зависимости от системы, последовательно инжектируют одинаковые объемы стандартного раствора и раствора пробы (не более 50 мм^3). Обработку результатов проводят по методу внешнего стандарта либо с использованием градуировочной характеристики. При вычислении по методу внешнего стандарта вычисляют площадь пика или его высоту, результаты сопоставляют с соответствующими значениями, полученными при определении стандартного раствора или используют градуировочный график. При использовании градуировочного графика проверяют его на линейность.

7 Обработка результатов

Вычисление результата определения проводят с использованием градуировочной характеристики с помощью программного обеспечения либо применяют следующий упрощенный способ.

Массовую долю аскорбиновой кислоты w, мг/100 г, вычисляют по формуле

$$w = \frac{A_s \cdot \rho \cdot V \cdot F \cdot 100}{A_{st} \cdot m \cdot 1000}, \quad (2)$$

где A_s — площадь или высота пика L-аскорбиновой кислоты на хроматограмме раствора пробы (см. 6.3.2), в единицах площади или высоты;

ρ — массовая концентрация L-аскорбиновой кислоты в градуировочном растворе, мкг/см^3;

V — общий объем приготовленного по 6.3.1 раствора пробы перед проведением реакции восстановления, см^3;

F — коэффициент разбавления при восстановлении раствора пробы (в данном случае $F = 2,5$);

100 — коэффициент пересчета результата в мг на 100 г;

A_{st} — площадь или высота пика L-аскорбиновой кислоты на хроматограмме градуировочного раствора (см. 4.5.1) в единицах площади или высоты;

m — масса навески пробы, г;

1000 — коэффициент пересчета из микрограммов в миллиграммы.

В случае, если процедура определения включала в себя осаждение (см. 6.3.2), результат, полученный по формуле (2), умножают на коэффициент 1,25.

8 Прецизионность измерений

8.1 Общие положения

Значения характеристик прецизионности при определении витамина С были получены в 1997 г. в результате межлабораторных сравнительных испытаний, проведенных в соответствии с ГОСТ ISO 5725-2 (приложение В). Для других диапазонов содержания витамина С и иных типов образцов значения характеристик прецизионности методики могут отличаться от значений, приведенных в приложении В.

8.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте испытаний в одной лаборатории одним оператором с использованием одного оборудования в течение короткого промежутка времени, не должно превышать предел повторяемости r более чем в 5 % случаев.

Значения предела повторяемости равны:

- для апельсинового сока: $\overline{X} = 54,6$ мг/100 г, $r = 6,4$ мг/100 г;
- овощного консервированного супа: $\overline{X} = 35,6$ мг/100 г, $r = 3,7$ мг/100 г;

- сухого молока (порошок): $\overline{X}$ = 100,3 мг/100 г, r = 17,9 мг/100 г;
- супа-концентрата сублимационной сушки: $\overline{X}$ = 169,3 мг/100 г, r = 42,0 мг/100 г;
- сухого завтрака (концентрат): $\overline{X}$ = 102,6 мг/100 г, r = 28,7 мг/100 г;
- фруктовых консервов для детского питания: $\overline{X}$ = 47,1 мг/100 г, r = 7,1 мг/100 г.

8.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте испытаний в разных лабораториях разными операторами с использованием разного оборудования, не должно превышать предел воспроизводимости R более чем в 5 % случаев.

Значения предела воспроизводимости равны:

- для апельсинового сока: $\overline{X}$ = 54,6 мг/100 г, R = 30,3 мг/100 г;
- овощного консервированного супа: $\overline{X}$ = 35,6 мг/100 г, R = 21,7 мг/100 г;
- сухого молока (порошок): $\overline{X}$ = 100,3 мг/100 г, R = 32,2 мг/100 г;
- супа-концентрата сублимационной сушки: $\overline{X}$ = 169,3 мг/100 г, R = 74,3 мг/100 г;
- сухого завтрака (концентрат): $\overline{X}$ = 102,6 мг/100 г, R = 56,2 мг/100 г;
- фруктовых консервов для детского питания: $\overline{X}$ = 47,1 мг/100 г, R = 23,9 мг/100 г.

9 Протокол испытаний

Протокол результатов испытаний должен содержать следующие сведения:

- всю информацию, необходимую для идентификации пробы;
- ссылку на настоящий стандарт или на использованный метод;
- дату и время отбора пробы (если известны);
- дату поступления пробы в лабораторию;
- дату проведения испытания;
- результаты испытания с указанием единиц измерения;
- все особенности, наблюдавшиеся при проведении испытания;
- все операции, не оговоренные в методике или считающиеся как необязательные, которые могли повлиять на результат испытания.

10 Требования безопасности

10.1 Условия безопасного проведения работ

При проведении измерений следует соблюдать требования:

- пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004;
- безопасности при работе с вредными веществами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;
- электробезопасности — по ГОСТ 12.1.019 и в соответствии с руководствами по эксплуатации используемого оборудования.

10.2 Требования к квалификации операторов

К выполнению испытаний и обработке результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное образование, опыт работы в химической лаборатории и изучившие инструкцию по эксплуатации жидкостного хроматографа. Первое применение метода в лаборатории должно проводиться под руководством специалиста, владеющего теорией высокоэффективной жидкостной хроматографии и имеющего практические навыки в этой области.

Приложение А
(справочное)

Пример хроматограммы

А.1 Пример хроматограммы при определении аскорбиновой кислоты в апельсиновом соке с помощью ВЭЖХ приведен на рисунке А.1.

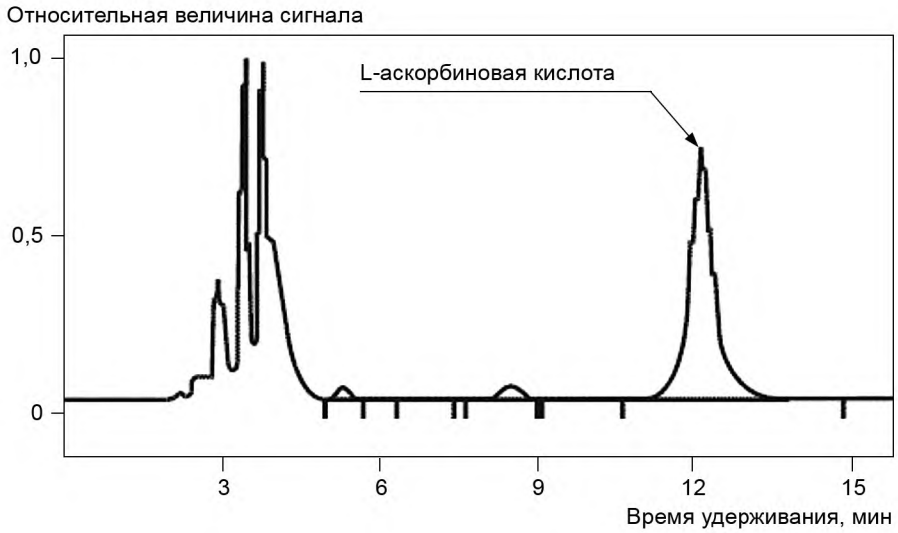


Рисунок А.1 — Пример хроматограммы при определении аскорбиновой кислоты в апельсиновом соке с помощью ВЭЖХ (время удерживания: t_{ret} = 11,953 мин)

Приложение Б
(справочное)

Данные по прецизионности методики

Б.1 Приведенные ниже данные получены в 1997 г. в результате межлабораторных испытаний по ГОСТ ISO 5725-2. Процедура проведения испытания не включала в себя операцию восстановления *L*-дегидроаскорбиновой кислоты.

Т а б л и ц а Б.1 — Данные по прецизионности определения общего содержания витамина С

Образец	1	2	3	4	5	6
Год проведения испытаний	1997	1997	1997	1997	1997	1997
Число лабораторий-участников	15	15	15	15	15	15
Число лабораторий за исключением выбросов	14	15	14	14	14	14
Число принятых результатов	28	30	28	28	28	28
Среднее значение $\overline{X}$, мг/100 г	54,6	35,6	100,3	169,3	102,6	47,1
Стандартное отклонение повторяемости S_r, мг/100 г	2,3	1,3	6,3	14,8	10,2	2,5
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	4,2	3,6	6,3	8,8	9,9	5,3
Предел повторяемости r $(2{,}83 \cdot S_r)$, мг/100 г	6,4	3,7	17,9	42,0	28,7	7,1
Стандартное отклонение воспроизводимости S_R, мг/100 г	10,7	7,7	11,4	26,2	19,8	8,5
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости, %	19,7	21,6	11,4	15,5	19,3	18,0
Предел воспроизводимости R, $(2{,}83 \cdot S_R)$, мг/100 г	30,3	21,7	32,2	74,3	56,2	23,9

1 — апельсиновый сок; 2 — овощной консервированный суп; 3 — сухое молоко; 4 — суп-концентрат сублимационной сушки; 5 — сухой завтрак (концентрат); 6 — фруктовые консервы для детского питания.

УДК 664.841:664.851:543.06:006.354 МКС 67.080.01

Ключевые слова: продукты пищевые, витамин С, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, определение

БЗ 8—2017/182

Редактор *Л.Л. Штендель*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 03.08.2017. Подписано в печать 10.08.2017. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68. Тираж 25 экз. Зак. 1412.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru