

СОГЛАСОВАНО


Заместитель директора Бел ГИМ


  
Т.А. Колومیен  
2008 г.



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Министра  
Главный государственный  
санитарный врач Республики  
Беларусь

  
В.И. Качан  
11.2008 г.



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

МВИ.МН 2008 -2008

МВИ аттестована  
ГУП "Белорусский государственный  
институт метрологии"  
Свидетельство об аттестации  
№ 991/2008  
от 16.11.2008 г.

Минск 2008

## СОДЕРЖАНИЕ

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

### *1 Область применения*

Методика предназначена для определения массовой доли свободной и связанной пантотеновой кислоты (витамина В<sub>3</sub>)

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

- в несобогащенных продуктах питания;
- обогащенных витамином продуктах питания;
- биологически активных добавках (БАД).

Пантотеновая кислота (витамина В<sub>3</sub>) (D-(+)-3-(2,4-дигидроксипропан-3-ил)-2,4,6-триметил-5-пиридил-4-амино)пропионовая кислота или пантотил-β-аланин) в свободной форме светло-желтая маслянистая жидкость, хорошо растворима в воде, этиловом спирте, уксусной кислоте, диоксане и этилацетате, мало растворима в эфире и высших спиртах, практически нерастворима в хлороформе и бензоле, адсорбируется на активированном угле. Кальциевая соль пантотеновой кислоты — белое кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде, является основным витаминным препаратом. При нагревании пантотеновой кислоты или ее солей в кислой среде происходит расщепление амидной связи с образованием β-аланина  $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  и пантотевой кислоты  $\text{HOCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ . Последняя в кислой среде легко превращается в пантолактон (α-окси-β,β-диметил-γ-бутиролактон). Пантолактон – белое кристаллическое вещество, гигроскопичен, хорошо растворим в хлористом метиле, хлороформе, температура плавления – 74-78°C.

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

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

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

### *2 Показатели прецизионности методики*

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

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

Диапазон измерений (мг/100 г)	Показатель повто- ряемости, % $\sigma_r$	Показатель внутрилабо- раторной воспроизводи- мости, % $\sigma_L$	Расширенная относитель- ная стандартная неопреде- ленность U, %
0,10 – 1,00 вкл.	3	6	23
св. 1,00 – 10,00 вкл.	3	5	
св. 10,00 – 250,00 вкл.	2	3	

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

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

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

### 3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

#### 3.1 Средства измерений

Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором,

например «Цвет 500М»

Сушильный шкаф УТ-6 (50–110°C,  $\pm 2^\circ\text{C}$ )

Фирма Hetaeus

Весы лабораторные лабораторные ВЛР 200, (диапа-  
зон взвешивания 0,0100–220,0000 г, погрешность взвешивания  
0,75 мг)

Микрошприц типа МШ-10

ТУ 6-20005Е2.833.106

Колбы мерные

2-25-2

ГОСТ 1770-74

(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)

2-50-2

ГОСТ 1770-74

(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)

2-100-2

ГОСТ 1770-74

(ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)

Пипетки градуированные

1-1-2-1

ГОСТ 29227-91

1-1-2-5

ГОСТ 29227-91

1-2-2-10

ГОСТ 29227-91

Пипетки с одной отметкой

2-2-25

ГОСТ 29169-91

Цилиндры мерные на 100см<sup>3</sup>

ГОСТ 1770-74

Колбы круглодонные	30 см <sup>3</sup>	ГОСТ 23932-90
	50 см <sup>3</sup>	ГОСТ 23932-90
	100 см <sup>3</sup>	ГОСТ 23932-90

### 3.2 Вспомогательные устройства и оборудование

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

### 3.3 Реактивы и материалы

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

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

#### *4 Метод измерения*

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

#### *5 Требования безопасности*

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

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

#### *6 Требования к квалификации оператора*

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

#### *7 Условия выполнения измерений*

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

- температура воздуха при приготовлении растворов, в том числе градуировочных  $(20 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ ;
- температура воздуха при выполнении измерений  $(20 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ ;
- атмосферное давление  $(630 - 800)$  мм рт. ст.;
- влажность воздуха  $(65 \pm 15) \%$  при температуре  $25^{\circ}\text{C}$ ;
- напряжение питающей сети  $(220 \pm 10)\text{В}$ ;
- частота переменного тока  $(50 \pm 0,5)\text{Гц}$ .

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

#### *8 Подготовка к выполнению измерений*

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

### *8.1 Подготовка измерительной аппаратуры*

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

### *8.2 Приготовление растворов*

#### *8.2.1 Приготовление 13-% водного раствора соляной кислоты ( $\rho=1,06 \text{ г/см}^3$ )*

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

#### *8.2.2 Приготовление смеси эфир:гексан (1:9)*

В колбе с пришлифованной пробкой смешивают 10 см<sup>3</sup> диэтилового эфира и 90 см<sup>3</sup> гексана при 20±2°C. Годен 6 мес.

#### *8.2.3 Приготовление смеси эфир:гексан (7:3)*

В колбе с пришлифованной пробкой смешивают 70 см<sup>3</sup> диэтилового эфира и 30 см<sup>3</sup> гексана при 20±2°C. Годен 6 мес.

#### *8.2.4 Приготовление градуировочных растворов*

*8.2.4.1 Приготовление основного стандартного раствора пантотеновой кислоты концентрацией 0,2 мг/см<sup>3</sup>*

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

#### 8.2.4.2 Приготовление градуировочных растворов пантолактона

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

Таблица 3 – Схема приготовления градуировочных растворов пантолактона

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

\* - в пересчете на пантотеновую кислоту.

#### 8.3 Установление градуировочной характеристики

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

Условия хроматографирования:

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

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

#### 8.4 Построение градуировочного графика

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



Градуировочная зависимость должна иметь вид

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

где,  $Y$  - измеренная площадь пика пантолактона;

$b$  - коэффициент регрессии;

$C$  - концентрация пантолактона в градуировочном растворе,  $\text{мг/см}^3$ ;

### 8.5 Контроль градуировочного графика

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

- $K=18\%$  в диапазоне концентраций градуировочного графика от 0,01 до 0,04  $\text{мг/см}^3$ ;
- $K=5\%$  в диапазоне концентраций от 0,04 до 0,1  $\text{мг/см}^3$ .

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

### 8.6 Подготовка анализируемых образцов

Отбор проб осуществляется согласно СТБ 1036.

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

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

Ориентировочное содержание пантотеновой кислоты в продукте, $\text{мг/100 г}$	Навеска, г
0,10 – 1,00	5,0-10,0
1,00 – 10,00	1,0-2,0
10,00 – 250,00	0,100-0,500

Круглодонную колбу помещают на водяную баню при температурой  $(90 \pm 1)^\circ\text{C}$  на 70 минут для проведения гидролиза. По окончании гидролиза раствор охлаждают до комнатной температуры.

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

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

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

Таблица 5 – Объем добавляемого хлористого метилена

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

#### 9 Выполнение измерений

Проводят измерения растворов, полученных по п.8.6.

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

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

#### 10 Обработка результатов измерений

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

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

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

где  $C_{11}$ ,  $C_{12}$  - концентрация пантотолактона в первом и втором единичном измерениях параллельной пробы, рассчитанная по градуировочному графику, мг/см<sup>3</sup>;

$m_1$  и  $m_2$  - масса навески в параллельных пробах, г,

$V_j$  - объем хлористого метилена взятый для разбавления сухого остатка в параллельной пробе, см<sup>3</sup>.

100 - коэффициент пересчета на 100 г продукта;

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

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

$$\bar{X} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2}{2}. \quad (5)$$

Окончательный результат округляют до второго знака после запятой.

#### 11 Оформление результатов испытаний

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

Результаты должны включать следующую информацию:

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

Если величина  $X_j$  оказывается меньше предела измерения методики ( $C_{LoQ}$ ), то дается односторонняя оценка массовой концентрации пантотеновой кислоты в пробе мг/100 г, в виде

$\bar{X} < (C_{LoQ})$ , где ( $C_{LoQ}$ ) - нижний предел измерения методики ( $C_{LoQ}$ )= 0,1 мг/100 г.

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

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

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

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

$$U(X) = U \times 0,01 \times \bar{X} \quad (7)$$

$U = 23 \%$  (Таблица 1, Приложение Б)

#### 12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

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

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

$$r_{abs} = 0,01 \cdot r \cdot \bar{X} \quad (8)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\bar{X}$  – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений, мг/дм<sup>3</sup>;

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

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

$$|X_1 - X_2| < r_{abs} \quad (9)$$

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

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

Рассчитывают среднее арифметическое значение  $\bar{\bar{X}}$ , мг/дм<sup>3</sup>, результатов измерений  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  соответственно, полученные в условиях внутрилабораторной воспроизводимости при выполнении условий повторяемости по п.12.

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\bar{X}_1 + \bar{X}_2}{2} \quad (10)$$

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами измерений  $|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|$ , значение которого сравнивают с абсолютным значением предела внутрилабораторной воспроизводи-

сти  $R_{\text{абс}}$  Абсолютное значение предела внутрилабораторной воспроизводимости  $R_{\text{абс}}$ , мг/дм<sup>3</sup>, рассчитывают по формуле

$$R_{\text{абс}} = 0,01 \cdot R \cdot \bar{\bar{X}} \quad (11)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\bar{\bar{X}}$  – среднее арифметическое значение результатов измерений  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$ , мг/дм<sup>3</sup>;

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

Если для значения абсолютного расхождения между результатами выполняется условие

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| < R_{\text{абс}} \quad (12)$$

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

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

### 13 Проверка стабильности результатов испытаний

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

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

Рассчитывают:

- центральную линию:  $d_1 \times \sigma_r$ ,

где  $d_1 = 1,128$  (коэффициент для расчета центральной линии для  $n=2$ ;

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

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

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

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

$\sigma_r$  – стандартное отклонение повторяемости, мг/100 г.

Оценку стандартного отклонения повторяемости  $s_r$  получают по формуле:

$$s_r = \left( \frac{\sum w_i}{L} \right) = \bar{w} / d_1 \quad (13)$$

где  $w = |X_1 - X_2|$  – размах;

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

$L$  – количество проведенных измерений, равное 4.

Полученные значения заносят в лист данных контрольной карты:

Полученные значения заносят в лист данных контрольной карты:

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

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

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

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

Разработчики:

Зав. лабораторией ХПП, к.х.н.

Н.с. лаборатории ХПП

Ст.н.с. лаборатории ХПП, к.х.н.



О.В. Шуляковская



О.Н. Тимофеева



Е.В. Васькевич

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**  
**(обязательное)**

**Нормативные ссылки**

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

**ПРИЛОЖЕНИЕ В**  
(обязательное)

**Бюджет неопределенности измерений**

Источник неопределенности	Тип оценки	Относительная стандартная неопределенность, %
СКО измерения массовой концентрации пантотеновой кислоты в пробе	A	$u_c=2,1$
Построение и использование градуировочной характеристики	A	$u_{ca}=8,8$
Приготовление образцов для градуировки	B	$u_{co}=7,0$
Обработка пробы	B	$u_{cl}=0,43$
СКО, связанная со смещением	A	$u(Rec)=1,67$
Суммарная стандартная неопределенность <sup>*)</sup>		$u=11,6$
Расширенная неопределенность (k=2)		$U=23$
<sup>*)</sup> Суммарная стандартная неопределенность вычисляется по формуле: $u = \sqrt{\sum u_i^2}$		



ДЗЯРЖАНЫ КАВАЎЭТ ПА СТАНДАРТЫЗАЦЫЮ  
РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ  
(ДЗЯРЖСТАНДАРТ)

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства  
"БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАУНЫ  
ІНСТЫТУТ МЕТРАЛОГІІ"  
- БелДІМ -

Старавіленскі тракт 93, г. Мінск, 220063  
Тэлефон (017) 233 65 01 Факс (017) 288 09 39  
Эл. пошта: info@belgim.by  
Расчётны рахунак: 3012002840020  
у філіяла ААТ «БПС - Банк» па г. Мінску,  
ІФЭО 153001334, праспект Машэрава, 80



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
(ГОССТАНДАРТ)

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства  
"БЕЛАРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ"  
- БелДИМ -

Старавіленскі тракт 93, г. Мінск, 220063  
Телефон (017) 233 65 01 Факс (017) 288 09 39  
Эл. почта: info@belgim.by  
Расчётный счёт: 3012002840020  
в филиале ОАО «БПС - Банк» по г. Минску,  
ИФО 153001334, проспект Машерова, 80

№ 200 г. г. №  
На № 01

### СВИДЕТЕЛЬСТВО № 491/2008 об аттестации МВИ

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

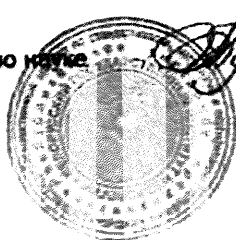
Методика выполнения измерений, разработанная ГУ "РНПЦ гигиены", и регламентированная в МВИ.МН 3008-2008 «Методика определения массовой доли пантотеновой кислоты в специализированных продуктах питания и БАД» аттестована в соответствии с ГОСТ 8.010-99.

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

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

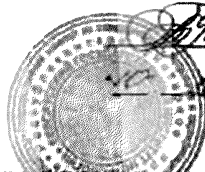
Диапазон измерений (мг/100 г)	Показатель повторяемости, α, %	Показатель внутрилабораторной воспроизводимости, α, %	Расширенная относительная стандартная не- определенность U, %	Предел повторности (для двух результатов параллельных определений) r, %	Предел внутрилабораторной воспроизводимости (для двух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

Заместитель директора по науке



Т.А. Коломиец

УТВЕРЖДАЮ  
Заместитель директора БелГИМ



2008

Т.А. Коломиец

**ЭКСПЕРТНОЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ**  
по результатам метрологической экспертизы  
методики выполнения измерений

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

**Разработчик:** ГУ "РНПЦ гигиены"

На метрологическую экспертизу представлены следующие документы:

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

По результатам метрологической экспертизы установлено:

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

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

- 2 Методика соответствует требованиям ГОСТ 8.010-99 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений. Основные положения»
- 3 Методика может быть использована при выполнении вышеперечисленных работ.

Начальник отдела испытаний  
пищевой и сельскохозяйственной  
продукции

Г.В. Артеменко