



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
EN 12821—
2014

НИФСИТР ЦСМ при МЭ КР
**РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания холекальциферола (витамин D₃)
и эргокальциферола (витамин D₂) методом
высокоэффективной жидкостной хроматографии

(EN 12821:2009, IDT)

Издание официальное

Зарегистрирован
№ 9562
30.06.2014 г.



Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» на основе собственного аутентичного перевода на русский язык европейского регионального стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 45-2014 от 25 июня 2014 г.)

За принятие стандарта 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
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен европейскому региональному стандарту EN 12821:2009 Foodstuffs – Determination of vitamin D by high performance liquid chromatography – Measurement of cholecalciferol (D₃) or ergocalciferol (D₂) [Продукты пищевые. Определение витамина D высокоэффективной жидкостной хроматографией. Измерение холекальциферола (D₃) или эргокальциферола (D₂)]

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры европейского стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и региональных европейских стандартов, на которые даны ссылки, имеются в национальных органах по стандартизации.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным европейским региональным стандартам приведены в дополнительном приложении ДА.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных (государственных) органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация также будет опубликована в сети Интернет на сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания холекальциферола (витамина D₃) и эргокальциферола (витамина D₂) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Foodstuffs. Determination of cholecalciferol (vitamin D₃) and ergocalciferol (vitamin D₂) content by high performance liquid chromatography

Дата введения —

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения витамина D₃ (холекальциферол) или D₂ (эргокальциферол) в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Витамин D₃ присутствует, главным образом, в продуктах питания животного происхождения, в то время как витамин D₂ – в дикорастущих грибах. Как витамин D₃, так и витамин D₂ могут присутствовать в витаминизированных пищевых продуктах. Настоящий стандарт не применим к пробам, содержащим одновременно как витамин D₃, так и витамин D₂.

Кроме исходных форм – витамина D₃ и витамина D₂, соответствующие метаболиты – 25-гидроксивитамин D и 1,25-дигидроксивитамин D, также обладают D-витаминной активностью. Настоящий стандарт распространяется на определение витамина D₂ или витамина D₃ по отдельности.

Настоящий стандарт составляет основу аналитических методов, на базе которой аналитик может разработать собственную методику в соответствии со стандартной процедурой.

Метод прошел валидацию при межлабораторных испытаниях с использованием как витаминизированных, так и невитаминизированных проб, таких как маргарин, молоко, жидкое детское питание, детское питание, растительное масло для жарения, рыбий жир в диапазоне от 0,4 до 14 мкг/100 г продукта. Подробная информация о валидации приведена в приложении D.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий стандарт:

EN ISO 3696 Water for analytical laboratory use – Specification and test methods (ISO 3696:1987) (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

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 «Национальные стандарты» 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 выделении витаминов D₃ и D₂ из пробы путем ее омыления и экстракции витаминов подходящим растворителем с последующей очисткой экстракта с помощью полупрепаративной нормально-фазовой высокоэффективной хроматографии (далее – ВЭЖХ) и количественным определением витаминов методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.

При определении витамина D₃ в качестве внутреннего стандарта используют витамин D₂. Если определению подлежит витамин D₂, то в качестве внутреннего стандарта используют витамин D₃.

Витамин D детектируют спектрофотометрическим методом в ультрафиолетовой области и

идентифицируют пики по значениям времени удерживания и дополнительно по спектру поглощения в ультрафиолетовой области, если используется диодноматричный детектор. Количественный анализ проводят с применением внутреннего стандарта по результатам измерений значений высот или площадей пиков, см. [1] – [8].

4 Реактивы

4.1 Общие положения

Если не указано иное, то при анализе используют только реактивы гарантированной чистоты и воду, по крайней мере, степени чистоты 1 по EN ISO 3696.

4.2 Метанол.

4.3 Этанол абсолютный, объемная доля $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 100 \%$.

4.4 Этанол, $\varphi(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 96 \%$.

4.5 Сульфат натрия, безводный.

4.6 Растворы гидроксида калия для омыления – водный раствор массовой концентрации $\rho(\text{KOH}) = 50 \text{ г/100 см}^3$ или 60 г/100 см^3 или водно-этанольный раствор $\rho(\text{KOH}) = 28 \text{ г/100 см}^3$ при объемном соотношении этанола и воды 9:1.

4.7 Антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота (АК), аскорбат натрия, пиригаллол, сульфид натрия (Na_2S) или бутилокситолуол (ВНТ).

4.8 Растворители и экстрагенты, например диэтиловый эфир (не содержащий перекисей), ди-хлорметан, петролейный эфир, н-гексан, этилацетат или подходящая их смесь.

4.9 Подвижные фазы для ВЭЖХ

4.9.1 Варианты подвижных фаз, пригодных для нормально-фазовой полупрепаративной ВЭЖХ

Примерами подходящих подвижных фаз (состав в объемных долях) для полупрепаративной ВЭЖХ являются смеси:

- н-гексана и пропанола-2 (98+2), (99+1) или (95+5);
- н-гексана и изоамилового спирта (99+1);
- н-гексана, пропанола-2 и тетрагидрофурана (98+1+1);
- изооктана и изобутанола (99+1);
- н-гептана и пропанола-2 (97+3).

4.9.2 Варианты подвижных фаз, пригодных для обращенно-фазовой аналитической ВЭЖХ

Примерами подходящих подвижных фаз (состав в объемных долях) для обращенно-фазовой аналитической ВЭЖХ являются:

- метанол;
- смеси метанола и воды (95+5) или (93+7);
- смеси ацетонитрила и метанола (80+20), (90+10) или (70+30);
- смесь ацетонитрила, хлороформа и метанола (93+4+3).

4.10 Образцы сравнения

4.10.1 Образец сравнения эргокальциферола (витамин D_2), $\text{M}(\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}) = 396,7 \text{ г/моль}$

В качестве образца сравнения витамина D_2 следует использовать препарат максимально доступной степени чистоты с массовой долей основного вещества более 98 %. Образец сравнения хранят в соответствии с инструкциями поставщика (при отсутствии света, обычно при температуре ниже 4°C).

4.10.2 Образец сравнения холикальциферола (витамин D_3), $\text{M}(\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}) = 384,6 \text{ г/моль}$

В качестве образца сравнения витамина D_3 следует использовать препарат максимально доступной степени чистоты с массовой долей основного вещества более 98 %. Образец сравнения хранят в соответствии с инструкциями поставщика (при отсутствии света, обычно при температуре ниже 4°C).