



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
EN 15652—
2015

НИФСИТР ЦСМ при МЭ КР
**РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

**Определение ниацина методом высокоэффективной
жидкостной хроматографии**

(EN 15652:2009, IDT)

Издание официальное

Зарегистрирован
№ 10965
29 мая 2015 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 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 по переписке (протокол 77-П от 29 мая 2015 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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Настоящий стандарт идентичен европейскому региональному стандарту EN 15652:2009 Foodstuffs – Determination of niacin by HPLC (Продукты пищевые. Определение ниацина высокоэффективной жидкостной хроматографией).

Европейский региональный стандарт разработан техническим комитетом CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы», секретариатом которого является DIN (Германия).

Перевод с немецкого языка (de).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международного стандарта, на который дана ссылка, имеются в национальном органе по стандартизации указанных выше государств.

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 ниацина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Foodstuffs. Determination of niacin by high performance liquid chromatography

Дата введения —

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания ниацина в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) после гидролиза пробы, который может быть проведен тремя способами: кислотный гидролиз (А), ферментативный гидролиз (В) и последовательный кислотный и щелочной гидролиз (С).

Метод был валидирован при межлабораторных сравнительных испытаниях на обогащенных и не обогащенных пищевых продуктах, а именно пробах концентратов типа сухого завтрака — мюсли с шоколадом, вареном окороке, зеленом горошке, лиофилизированном зеленом горошке с ветчиной, лиофилизированном супе, обогащенном апельсиновом соке, сухом молоке и пшеничной муке в диапазоне значений содержания ниацина от 0,5 до 24 мг/100 г. Дальнейшая информация приведена в Приложении В.

Способы А и В приводят к аналогичным результатам для ниацина. В этих случаях ниацин определяется как суммарное содержание никотиномаида и никотиновой кислоты в пересчете на никотиновую кислоту [1]. Способ С приводит к более высоким значениям содержания ниацина в необогащенных злаках по сравнению со способами А и В, но в остальных пищевых продуктах дает сходные результаты. В способе С никотиномид превращается в никотиновую кислоту, и ниацин определяется в форме никотиновой кислоты [2].

Способ А является более производительным и экономичным, нежели способы В и С.

Способ В применяется, если требуется раздельное количественное определение никотиномаида и никотиновой кислоты. Способ А для этих целей непригоден, поскольку при кислотном гидролизе никотиномид в небольшой степени превращается в никотиновую кислоту.

В способе С определяют общее содержание ниацина. Щелочной гидролиз может вызвать высвобождение никотиновой кислоты из других производных, как правило, не являющихся биологически активными, что приводит к завышенным значениям содержания ниацина в таких пищевых продуктах, как кукуруза или злаки ([3], [4], [5]).

Сравнение трех способов проведения гидролиза приведено в Приложении С.

2 Нормативные ссылки

Приведенные ниже ссылочные нормативные документы являются обязательными для применения настоящего стандарта. Для датированных ссылок применимо только цитируемое издание. В случае недатированных ссылок используют последнее издание документа, включая все изменения.

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

3 Сущность метода

Витамеры ниацина извлекают из пищевых продуктов путем кислотного гидролиза (способ А), ферментативного гидролиза (способ В) или последовательного кислотного и щелочного гидролиза (способ С) и определяют методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием в режиме послеклоночной дериватизации под действием ультрафиолетового излучения ([1], [2]). В способах А и В ниацин определяется как сумма содержаний никотиномаида и никотиновой кислоты в пересчете на никотиновую кислоту после введения поправки на молекулярную массу. При щелочном гидролизе никотиномид полностью переходит в никотиновую кислоту.

4 Реактивы

4.1 Общие положения

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

4.2 Требования к химическим реактивам и приготовление растворов

4.2.1 Ацетат натрия, массовая доля основного вещества $w(\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2)$ не менее 99 %.

4.2.2 Гидрофосфат калия, массовая доля основного вещества $w(\text{K}_2\text{HPO}_4)$ не менее 99,5 %.

4.2.3 Дигидрофосфат калия, массовая доля основного вещества $w(\text{KH}_2\text{PO}_4)$ не менее 99,5 %.

4.2.4 Раствор пероксида водорода, нестабилизированный, массовая доля пероксида водорода $w(\text{H}_2\text{O}_2) = 30$ %.

4.2.5 Сульфат меди, массовая доля основного вещества $w(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$ не менее 99 %.

4.2.6 Уксусная кислота, массовая доля основного вещества $w(\text{CH}_3\text{COOH})$ не менее 99,8 %.

4.2.7 Концентрированная соляная кислота (для способов А и С), $w(\text{HCl}) = 37,0$ %.

4.2.8 НАД+-гликогидролаза из *Neurospora crassa* (для способа В), активность 0,55 МЕ/мг белка.

Хранят при температуре ниже 0°C.

Примечание — При межлабораторных сравнительных испытаниях была использована лиофилизированная НАД+-гликогидролаза (NADase), выделенная из *Neurospora crassa*, производства компании «Сигма», номер по каталогу N9629, активностью от 0,5 до 3,0 МЕ/мг белка (биурет)¹⁾.

4.2.9 Раствор уксусной кислоты, молярная концентрация $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 5$ моль/дм³.

4.2.10 Раствор ацетата натрия, молярная концентрация $c(\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2) = 2,5$ моль/дм³.

4.2.11 Раствор сульфата меди, молярная концентрация $c(\text{Cu(II)SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 0,005$ моль/дм³.

4.2.12 Приготовление раствора ацетата натрия молярной концентрации $c(\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2) = 0,05$ моль/дм³ с рН 4,5

4,10 г ацетата натрия (4.2.1) растворяют в 900 см³ воды. Доводят значение рН раствора до 4,5 при помощи уксусной кислоты (4.2.6) и затем разбавляют водой до 1000 см³.

4.2.13 Приготовление фосфатного буферного раствора (для способа В) с рН 6,8

Одну объемную часть раствора гидрофосфата калия молярной концентрации 0,05 моль/дм³ смешивают с 1 объемной частью раствора дигидрофосфата калия молярной концентрации 0,05 моль/дм³. При необходимости доводят значение рН раствора до значения 6,8 при помощи раствора ацетата натрия (4.2.10).

4.2.14 Приготовление раствора НАД+-гликогидролазы (для способа В)

2,9 мг НАД+-гликогидролазы (4.2.8) растворяют в 5 см³ фосфатного буферного раствора (4.2.13). Срок хранения раствора — 7 дней при минус 18 °С.

4.2.15 Раствор соляной кислоты (для способов А и С) молярной концентрации $c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм³.

4.2.16 Подвижная фаза для ВЭЖХ

4,77 г дигидрофосфата калия (4.2.3) растворяют в 400 см³ воды, добавляют 3,8 см³ раствора пероксида водорода (4.2.4) и 0,5 см³ раствора сульфата меди (4.2.11) и разбавляют водой до 500 см³. Значение рН раствора составляет приблизительно 4,5. Раствор фильтруют через мембранный фильтр (5.7). Срок хранения — 1 день.

4.2.17 Гидроксид натрия (для способа С), массовая доля основного вещества $w(\text{NaOH})$ не менее 99 %.

4.2.18 Раствор гидроксида натрия (для способа С), молярная концентрация $c(\text{NaOH}) = 5$ моль/дм³

20 г гидроксида натрия (4.2.17) растворяют в 80 см³ воды. После охлаждения доводят объем раствора до 100 см³.

4.2.19 Приготовление раствора соляной кислоты (для способа С), $w(\text{HCl}) = 3,7$ %

5 см³ концентрированной соляной кислоты (4.2.7) разбавляют водой до 50 см³.

4.3 Образцы сравнения

4.3.1 Общие положения

Никотиновая кислота и никотинамид разной степени чистоты могут быть приобретены у различных поставщиков. По этой причине необходимо устанавливать значение массовой концентрации градуировочного раствора спектрофотометрическим методом (см. 4.4.3).

¹⁾ Эта информация приведена только для удобства пользователя настоящего стандарта и не означает поддержки данного продукта со стороны СЕН. Допускается использование аналогичных продуктов, если доказано, что их использование приводит к аналогичному результату.