

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
EN 14122—  
2013

---

**ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ**

**Определение витамина В<sub>1</sub>  
с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии  
(EN 14122:2003, IDT)**

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2014

## Предисловие

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 Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИКОП Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 093)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 5 ноября 2013 г. № 61-П)

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 Беларусь Казахстан Киргизия Молдова Россия Узбекистан	AM BY KZ KG MD RU UZ	Минэкономики Республики Армения Госстандарт Республики Беларусь Госстандарт Республики Казахстан Кыргызстандарт Молдова-Стандарт Росстандарт Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 04 марта 2014 г. № 77-ст межгосударственный стандарт ГОСТ EN 14122–2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

5 Настоящий стандарт идентичен европейскому региональному стандарту EN 14122:2003 Foodstuffs. Determination of vitamin B1 by HPLC (Продукты пищевые. Определение витамина B1 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии).

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

Перевод с немецкого языка (de).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, имеются в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации.

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

Степень соответствия — идентичная (IDT)

6 ВЗАМЕН ГОСТ 25999-83 в части разделов 3 и 4

*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*

© Стандартиформ, 2014

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 .....	1
4 Реактивы .....	1
5 Аппаратура .....	4
6 Проведение анализа .....	5
7 Обработка результатов .....	7
8 Прецизионность .....	8
9 Протокол результатов испытаний .....	8
Приложение А (справочное) Альтернативные условия хроматографического анализа .....	9
Приложение В (справочное) Типичные хроматограммы .....	11
Приложение С (справочное) Данные по прецизионности методики .....	14
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам .....	17
Библиография .....	18

## ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение витамина В<sub>1</sub>  
с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии

Foodstuffs.  
Determination of vitamin В<sub>1</sub> by HPLC

Дата введения — 2015—07—01

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** — Применение настоящего стандарта предусматривает использование опасных веществ, процедур и оборудования. В задачи настоящего стандарта не входит решение всех проблем связанных с безопасностью его применения. Ответственность за принятие мер предосторожности и соблюдение правил техники безопасности лежит на пользователе стандарта.

## 1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения витамина В<sub>1</sub> в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Содержание витамина В<sub>1</sub> определяется как общее содержание тиамин, включая его фосфорилированные производные.

## 2 Нормативные ссылки

Настоящий стандарт содержит отдельные положения из другого нормативного документа, обозначенного приведенной в данном разделе датированной нормативной ссылкой. Все последующие изменения ссылочного нормативного документа допустимо использовать только после внесения соответствующих изменений в настоящий стандарт.

EN ISO 3696:1995 Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (ISO 3696:1987) (Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний)

## 3 Сущность метода

Метод основан на экстракции тиамин из пробы путем кислотного гидролиза, последующем ферментативном дефосфорилировании тиамин и его количественном определении с помощью ВЭЖХ с применением предварительной, либо послеколоночной конверсии в тиохром [1] — [6].

## 4 Реактивы

### 4.1 Общие положения

Для проведения анализа при отсутствии особо оговоренных условий используют только реактивы гарантированной аналитической чистоты и воду не ниже первой степени чистоты по EN ISO 3696 или бидистиллированную воду.

## 4.2 Реактивы и растворы

4.2.1 Метанол для ВЭЖХ чистотой не менее 99,8 %.

4.2.2 Кислота уксусная, раствор молярной концентрации  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,02$  моль/дм<sup>3</sup>.

4.2.3 Спирт изобутиловый (изобутанол) чистотой не менее 98 %.

4.2.4 Натрий фосфорнокислый однозамещенный чистотой не менее 99,8 %.

4.2.5 Кислота соляная массовой долей 36 %.

4.2.6 Кислота соляная, раствор молярной концентрации  $c(\text{HCl}) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup>.

4.2.7 Кислота серная, раствор молярной концентрации  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05$  моль/дм<sup>3</sup>.

4.2.8 Натрия гидроокись чистотой не менее 99 %.

4.2.9 Натрия гидроокись, раствор массовой концентрации  $\rho(\text{NaOH}) = 150$  г/дм<sup>3</sup>.

4.2.10 Натрия гидроокись, раствор массовой концентрации  $\rho(\text{NaOH}) = 200$  г/дм<sup>3</sup>.

4.2.11 Калия гексацианоферрат (III) чистотой не менее 99 %.

4.2.12 Калия гексацианоферрат (III), раствор массовой концентрации  $\rho(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 10$  г/дм<sup>3</sup>.

**4.2.13 Калия гексацианоферрат (III), щелочной раствор массовой концентрации  $\rho(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,4$  г/дм<sup>3</sup> для предколоночной дериватизации**

Раствор гексацианоферрата (III) калия (см. 4.2.12) объемом 2 см<sup>3</sup> разбавляют раствором гидроокиси натрия (см. 4.2.9) до объема 50 см<sup>3</sup>.

Раствор готовят в день проведения испытания.

**4.2.14 Калия гексацианоферрат (III), щелочной раствор массовой концентрации  $\rho(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,5$  г/дм<sup>3</sup> для послекколоночной дериватизации**

Раствор гексацианоферрата (III) калия (см. 4.2.12) объемом 2,5 см<sup>3</sup> разбавляют раствором гидроокиси натрия (см. 4.2.10) до объема 50 см<sup>3</sup>.

4.2.15 Дефосфорилирующий фермент, пригодный для гидролиза связанного тиамина в пробе.

**Примечание** — При установлении характеристик прецизионности методики использована така-диастаза.

4.2.16 Натрий уксуснокислый, раствор молярной концентрации  $c(\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 2,5$  моль/дм<sup>3</sup>.

4.2.17 Натрий уксуснокислый, раствор молярной концентрации  $c(\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 0,5$  моль/дм<sup>3</sup>.

### 4.2.18 Подвижные фазы для ВЭЖХ

Варианты подвижных фаз подходящего состава приведены в приложении А. В частности, в качестве подвижных фаз используют смеси метанола с водой, фосфатным или ацетатным буферным раствором при объемной доле метанола от 10 % до 50 %, а также подвижные фазы с добавлением ион-парных реагентов.

4.2.19 Раствор буферный фосфатный (рН = 3,5) молярной концентрации однозамещенного фосфата калия  $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 9,0$  ммоль/дм<sup>3</sup>.

4.2.20 Тетраэтиламмония хлорид чистотой не менее 98 %.

4.2.21 Натрия гептансульфонат чистотой не менее 98 %.

4.2.22 Раствор буферный ацетатный (рН = 4) молярной концентрации уксусной кислоты  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 50$  ммоль/дм<sup>3</sup>.

## 4.3 Образцы сравнения

### 4.3.1 Общие положения

Гидрохлорид тиаминхлорида выпускается многими производителями, при этом его чистота может различаться. Это обуславливает необходимость определения концентрации градуировочного раствора тиамина спектрофотометрическим методом по 4.4.4.

4.3.2 Тиаминхлорида гидрохлорид ( $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}$ ) чистотой не менее 99 %.

4.3.3 Тиаминмонофосфатхлорид ( $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_4\text{PS}$ ) чистотой не менее 98 %.

4.3.4 Тиаминпирофосфатхлорид (кокарбоксилаза) ( $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_7\text{P}_2\text{S}$ ) чистотой не менее 98 %.

\* Така-диастаза № T00040 — торговое наименование изделия, выпускаемого Platz and Bauer, Waterbury, ST 06708, США. Данная информация приведена для удобства пользования настоящего стандарта и не является рекламной поддержкой МГС данного изделия. Допускается использовать аналогичные изделия при условии обеспечения идентичных результатов.

#### 4.4 Основные стандартные растворы

##### 4.4.1 Тиаминхлорида гидрохлорид, раствор массовой концентрации $\rho(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS HCl}) = 0,1 \text{ мг/см}^3$

Образец сравнения гидрохлорида тиаминхлорида (см. 4.3.2) массой, например, около 10 мг, измеренной с высокой точностью, растворяют в заданном объеме, например,  $100 \text{ см}^3$  подходящего растворителя, например, раствора соляной кислоты (см. 4.2.6).

Срок хранения раствора при температуре  $4^\circ\text{C}$  — четыре недели.

##### 4.4.2 Тиаминмонофосфата хлорид, раствор массовой концентрации $\rho(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_4\text{PS}) = 0,1 \text{ мг/см}^3$

Около 10 мг образца сравнения тиаминмонофосфатхлорида (см. 4.3.3), измеренной с высокой точностью, растворяют в  $100 \text{ см}^3$  подходящего растворителя, например, раствора соляной кислоты (см. 4.2.6).

Срок хранения раствора при температуре минус  $20^\circ\text{C}$  — четыре недели.

##### 4.4.3 Тиаминпирофосфата хлорид, раствор массовой концентрации $\rho(\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_7\text{P}_2\text{S}) = 0,1 \text{ мг/см}^3$

Около 10 мг образца сравнения тиаминпирофосфатхлорида (см. 4.3.4), измеренной с высокой точностью, растворяют в  $100 \text{ см}^3$  подходящего растворителя, например, раствора соляной кислоты (см. 4.2.6).

##### 4.4.4 Определение точной концентрации основного раствора гидрохлорида тиаминхлорида

В мерную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$  помещают  $10 \text{ см}^3$  основного раствора гидрохлорида тиаминхлорида (см. 4.4.1), объем содержащего в колбе доводят до метки раствором соляной кислоты (см. 4.2.6). Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре (см. 5.2) в кварцевой кювете длиной оптического пути 1 см при длине волны 247 нм, соответствующей максимуму поглощения. В качестве раствора сравнения используют раствор соляной кислоты (см. 4.2.6). Массовую концентрацию гидрохлорида тиаминхлорида в основном стандартном растворе  $\rho$ ,  $\text{мкг/см}^3$ , рассчитывают по формуле

$$\rho = \frac{\varepsilon_{247} 10^4 10}{421}, \quad (1)$$

где  $\varepsilon_{247}$  — значение оптической плотности при длине волны 247 нм, соответствующей максимуму поглощения;

$10^4$  — коэффициент пересчета концентрации измеряемого раствора в микрограммы на кубический сантиметр;

10 — коэффициент, учитывающий кратность разбавления основного стандартного раствора;

421 — коэффициент экстинкции  $A_{1\text{см}}^{1\%}$  раствора гидрохлорида тиаминхлорида в растворе соляной кислоты молярной концентрации  $0,1 \text{ моль/дм}^3$  [7], соответствующий условной оптической плотности раствора гидрохлорида тиаминхлорида массовой концентрации  $10 \text{ г/дм}^3$ .

#### 4.5 Градуировочные растворы

##### 4.5.1 Градуировочные растворы гидрохлорида тиаминхлорида массовой концентрации от 1 до $10 \text{ мкг/см}^3$

Пипеткой отмеряют от 1 до  $10 \text{ см}^3$  основного стандартного раствора тиаминхлорида гидрохлорида (см. 4.4.1) и помещают в мерную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$ . Объем содержащего в колбе доводят до метки раствором соляной кислоты (см. 4.2.6).

Срок хранения полученного раствора в темном месте при температуре  $4^\circ\text{C}$  — 1 мес.

##### 4.5.2 Градуировочные растворы хлорида тиаминмонофосфата массовой концентрации от 1 до $10 \text{ мкг/см}^3$

Пипеткой отмеряют от 1 до  $10 \text{ см}^3$  основного стандартного раствора хлорида тиаминмонофосфата (см. 4.4.2) и помещают в мерную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$ . Объем содержащего в колбе доводят до метки раствором соляной кислоты (см. 4.2.6).

Срок хранения полученного раствора в темном месте при температуре  $4^\circ\text{C}$  — 1 мес.

**4.5.2 Градуировочные растворы хлорида тиаминпирофосфата массовой концентрации от 1 до 10 мкг/см<sup>3</sup>**

Пипеткой отмеряют от 1 до 10 см<sup>3</sup> основного стандартного раствора хлорида тиаминпирофосфата (см. 4.4.3) и помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>. Объем содержимого в колбе доводят до метки раствором соляной кислоты (см. 4.2.6).

Срок хранения полученного раствора в темном месте при температуре 4 °С — 1 мес.

**5 Аппаратура****5.1 Общие положения**

При проведении анализа используют лабораторные приборы, оборудование и стеклянную посуду, в частности, перечисленные ниже.

5.2 Спектрофотометр, пригодный для измерений оптической плотности в ультрафиолетовой области спектра при заданной длине волны.

**5.3 Автоклав или нагревательный прибор**

Автоклав с контролем температуры и давления или плитка электрическая, или баня водяная с контролем температуры.

**5.4 Хроматограф жидкостный**

Система для ВЭЖХ, состоящая из насоса, инжектора, флуориметрического детектора, позволяющего проводить измерения при длинах волн возбуждения и эмиссии, указанных в приложении А, например, 366 нм и 420 нм соответственно, и устройства регистрации и обработки аналитического сигнала, например, интегратора.

**5.5 Колонка аналитическая для ВЭЖХ****5.5.1 Общие положения**

Допускается использовать колонку другого внутреннего диаметра и длины, и заполненную сорбентом другого размера частиц, чем те, что указаны в настоящем стандарте. Условия хроматографического разделения подбирают применительно к используемой колонке для обеспечения сопоставимости результатов анализов. Критерием пригодности аналитической колонки является отделение пика аналита от пиков других компонентов матрицы пробы на уровне базовой линии.

**5.5.2 Колонка для ВЭЖХ при анализе с использованием предколоночного окисления тиамин**

Колонка длиной от 100 до 250 мм, внутренним диаметром от 4,0 до 4,6 мм, заполненная сорбентом\* размером частиц 5 мкм.

**5.5.3 Колонка для ВЭЖХ при анализе с использованием послеколоночного окисления тиамин**

\* Колонка длиной от 100 до 250 мм, внутренним диаметром от 4,0 до 4,6 мм, заполненная сорбентом размером частиц 5 мкм.

**5.6 Установка для фильтрации**

Фильтрация подвижной фазы перед ее использованием и раствора пробы для хроматографического анализа перед инъекцией через мембранный фильтр размером пор, например, 0,45 мкм, продлевает срок службы аналитических колонок.

---

\* Пригодность для проведения анализа установлена в отношении следующих марок сорбентов на основе силикагеля, доступных для приобретения: Lichrosorb® Si-60, Spherosorb® Si, Hypersil® Si и Lichrospher® 100 Diol. Пригодность для проведения анализа установлена в отношении следующих марок обращенно-фазовых сорбентов: Lichrospher Si 60 RP Select, Spherisorb® ODS,  $\mu$ -Bondapak® radial C18, Supelco® LC-18-DB и Hypersil® ODS. Данная информация приведена исключительно для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой МГС данных изделий и не исключает возможность использования других изделий с аналогичными свойствами.



### 5.7 Система для послекOLONОЧНОЙ дериватизации

Система, состоящая из насоса для подачи реактива для дериватизации, соединительного элемента для трех капилляров и реактора в виде капилляра длиной 10 м и внутренним диаметром 0,33 мм.

## 6 Проведение анализа

### 6.1 Подготовка пробы

Пробу гомогенизируют, продукты твердой консистенции измельчают с помощью подходящей мельницы, после чего перемешивают. Перед измельчением пробу рекомендуется предварительно охладить, чтобы не подвергать ее длительному воздействию высоких температур.

### 6.2 Приготовление раствора пробы для анализа

#### 6.2.1 Экстракция

От 2 до 10 г анализируемой пробы, измеренной с точностью до 0,001 г, помещают в коническую колбу. Добавляют раствор соляной кислоты (см. 4.2.6) или серной кислоты (см. 4.2.7) объемом от 60 до 200 см<sup>3</sup>. Значение pH полученной смеси должно быть не более 3,0. Колбу закрывают часовым стеклом и выдерживают в автоклаве при температуре 121 °C в течение 30 мин, либо на водяной бане при температуре 100 °C в течение 60 мин.

**Примечание** — Согласно результатам исследований, кислотный гидролиз допустимо проводить при различных условиях, в частности, при температуре от 95 °C до 130 °C и продолжительности гидролиза от 15 до 60 мин. При этом, чем выше температура, тем меньше времени требуется для проведения гидролиза.

#### 6.2.2 Ферментативная обработка

После охлаждения до комнатной температуры к экстракту добавляют раствор ацетата натрия (см. 4.2.16 или 4.2.17) до достижения значения pH, оптимального для действия предполагаемого к использованию фермента. В экстракт вносят необходимое количество дефосфорилирующего фермента (см. 4.2.15). Полученную смесь выдерживают в течение промежутка времени и при температуре, оптимальных для используемого фермента. После охлаждения до комнатной температуры полученный раствор переносят в защищенную от света мерную колбу с помощью дистиллированной воды или другого подходящего растворителя и доводят объем содержимого в колбе до метки (V<sub>0</sub>).

Для каждого ферментного препарата устанавливают оптимальное значение pH и оптимальные температуру и продолжительность инкубации.

Для установления оптимальных условий дефосфорилирования проводят процедуру ферментативной обработки проб с добавлением хлорида тиаминмонофосфата (см. 4.3.3) или хлорида тиаминпирофосфата (см. 4.3.4), а также проб, аналогичных исследуемой пробе по составу матрицы и являющихся аттестованными образцами сравнения.

При использовании для дефосфорилирования така-диастазы возможно привнесение в пробу с ферментным препаратом некоторого количества тиамина, что необходимо учитывать при расчете результата испытания.

#### Примечания

1 При установлении характеристик прецизионности, приведенных в настоящем стандарте, для проведения дефосфорилирования использована така-диастаза при следующих условиях. Значение pH экстракта доводилось до 4,0 добавлением раствора ацетата натрия (см. 4.2.16 или 4.2.17), после чего в экстракт вносили така-диастазу из расчета 100 мг препарата на грамм пробы. Полученную смесь инкубировали при температуре от 37 °C до 46 °C, продолжительность инкубирования составляла от 16 до 24 ч.

2 Скорость дефосфорилирования зависит от используемого ферментного препарата и матрицы пробы. По имеющимся данным полное дефосфорилирование может быть достигнуто за более короткое время [8].

#### 6.2.3 Окисление тиамина с образованием тиохрома

##### 6.2.3.1 Предколлонное окисление тиамина

В стеклянный флакон или колбу подходящей вместимости помещают 1 см<sup>3</sup> раствора пробы после ферментативной обработки по 6.2.2, либо градуировочного раствора (см. 4.5.1), либо холостого раствора. Добавляют 1 см<sup>3</sup> щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия (см. 4.2.13), содержащее флакона встряхивают в течение 10 с, после чего оставляют в покое на 1 мин. Подготовленный таким образом к хроматографическому анализу раствор пробы, градуировочный раствор или холо-

стой раствор анализируют с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ при условиях, указанных в таблице А.1 приложения А.

В качестве альтернативы после окисления тиамин проводят экстракцию тиохрома из раствора порцией изобутанола (см. 4.2.3) объемом 1,5 см<sup>3</sup>, экстракт анализируют с помощью ВЭЖХ.

С целью удаления из раствора пробы веществ, мешающих анализу, и предотвращения порчи аналитической колонки перед проведением анализа с помощью ВЭЖХ рекомендуется нейтрализовать раствор пробы для анализа добавлением фосфорной кислоты или провести его очистку с помощью твердофазной экстракции по [5].

**П р и м е ч а н и е** — Некоторые компоненты пищевых продуктов, например, полифенольные вещества, могут препятствовать окислению тиамин с образованием тиохрома. Это явление характерно для продуктов, содержащих какао, а также для некоторых других продуктов. Если такая проблема предположительно имеет место, рекомендуется проверить полноту обнаружения аналита путем внесения в экстракт градуировочного раствора тиамин перед проведением процедуры окисления. При низкой полноте обнаружения рекомендуется проводить очистку экстракта с помощью катионообменной смолы или выполнять ВЭЖХ-анализ с применением послеколоночного окисления тиамин.

#### 6.2.3.2 Идентификация аналита при анализе с применением предколоночного окисления тиамин

Проводят хроматографический анализ градуировочных растворов и раствора пробы, подготовленных по 6.2.3.1, при одинаковых объемах инъекции. Пик тиохрома на хроматограмме раствора пробы идентифицируют по совпадению его времени удерживания со временем удерживания пика тиохрома на хроматограмме градуировочного раствора. В качестве альтернативы пик тиохрома на хроматограмме раствора пробы идентифицируют путем ее сопоставления с хроматограммой раствора пробы с добавлением аналитического стандарта.

Ниже приведены условия хроматографического анализа, гарантированно обеспечивающие удовлетворительное качество хроматографического разделения и количественного определения (см. рисунок В.1 приложения В). Альтернативные условия приведены в приложении А.

Аналитическая колонка длиной 250 мм, внутренним диаметром 4 мм, заполненная сорбентом диаметром частиц 5 мкм.

Состав подвижной фазы: смесь метанола (см. 4.2.1) с ацетатным буферным раствором (см. 4.2.22).

Скорость потока подвижной фазы — 0,7 см<sup>3</sup>/мин.

Объем инъекции — 20 мм<sup>3</sup>.

Условия флуориметрического детектирования: длина волны возбуждения 366 нм, длина волны эмиссии 435 нм.

#### 6.2.3.3 Послеколоночное окисление тиамин

При послеколоночном окислении тиамин с образованием тиохрома в качестве дериватизирующего реагента используют раствор гексацианоферрата (III) калия (см. 4.2.14), который добавляют в элюат посредством соединительного элемента для трех капилляров при скорости подачи около 0,3 см<sup>3</sup>/мин.

**П р и м е ч а н и е** — Одним из факторов, влияющих на послеколоночную реакцию, является концентрация гидроксида натрия в реакционной смеси. Чрезмерно высокую или чрезмерно низкую концентрацию гидроксида натрия в дериватизирующем реагенте компенсируют соответственно уменьшением или увеличением скорости его подачи.

#### 6.2.3.4 Идентификация аналита при анализе с применением послеколоночного окисления тиамин

Проводят хроматографический анализ градуировочных растворов (см. 4.5.1) и раствора пробы (см. 6.2.2) при одинаковых объемах инъекции. Пик тиохрома на хроматограмме раствора пробы идентифицируют по совпадению его времени удерживания со временем удерживания пика тиохрома на хроматограмме градуировочного раствора. В качестве альтернативы пик тиохрома на хроматограмме раствора пробы идентифицируют путем ее сопоставления с хроматограммой раствора пробы с добавлением аналитического стандарта.

\* Например, Lichrospher® RP Select B, пригодный для целей применения настоящего стандарта. Данная информация приведена для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой МГС данного изделия и не исключает возможность использования других изделий с аналогичными свойствами.

Ниже приведены условия хроматографического анализа, гарантированно обеспечивающие удовлетворительное качество хроматографического разделения и количественного определения. Альтернативные условия приведены на рисунке В.2 и в приложении А.

Аналитическая колонка длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом диаметром частиц 5 мкм.

Состав подвижной фазы: смесь метанола (см. 4.2.1) с фосфатным буферным раствором (см. 4.2.19), содержащим 1 г/дм<sup>3</sup> хлорида тетраэтиламмония (см. 4.2.20) и 5 ммоль/дм<sup>3</sup> гептансульфоната натрия (см. 4.2.21) в объемном соотношении 35:65.

Скорость потока подвижной фазы — 1 см<sup>3</sup>/мин.

Объем инъекции — 20 мм<sup>3</sup>.

Реагент для послеклоночной дериватизации — щелочной раствор гексацианоферрата (III) калия (см. 4.2.14).

Скорость подачи дериватирующего реагента — 0,3 см<sup>3</sup>/мин.

Условия флуориметрического детектирования: длина волны возбуждения 368 нм, длина волны эмиссии 440 нм.

**Примечание** — При анализе проб некоторых видов продуктов, например, сырой свинины, на хроматограмме может присутствовать дополнительный пик 1-окситиамина или 2(1-оксиэтил)тиамина [9], [10].

### 6.3 Количественное определение

Количественное определение проводят по методу внешнего стандарта. При этом либо градуировку осуществляют по градуировочному раствору, на хроматограмме которого площадь или высота пика аналита наиболее близки к таковым на хроматограмме раствора пробы, либо используют градуировочный график. В последнем случае проверяют линейность градуировочной зависимости.

## 7 Обработка результатов

Результат определения рассчитывают с использованием градуировочного графика, либо с применением соответствующей программы расчета системы обработки данных, либо используют приведенный ниже упрощенный способ расчета.

Содержание витамина В<sub>1</sub> в пробе в расчете на гидрохлорид тиаминхлорида  $w$ , мг/100 г, рассчитывают по формуле

$$w = \frac{A_{ts} \rho V_e}{A_{st} m_s} \frac{100}{1000}, \quad (2)$$

Где  $A_{ts}$  — площадь или высота пика тиохрома на хроматограмме раствора пробы, выраженная в единицах площади или высоты;

$A_{st}$  — площадь или высота пика тиохрома на хроматограмме градуировочного раствора, выраженная в единицах площади или высоты;

$V_e$  — объем приготовленного экстракта из пробы по 6.2.2, см<sup>3</sup>;

$\rho$  — массовая концентрация гидрохлорида тиаминхлорида в градуировочном растворе (см. 4.5.1), мкг/см<sup>3</sup>;

$m_s$  — масса пробы для анализа, г;

100 — коэффициент пересчета результата как содержания аналита в 100 г пробы;

1000 — коэффициент пересчета результата из мкг/100 г в мг/100 г;

При необходимости представления результата определения в виде содержания в пробе витамина В<sub>1</sub> в расчете на тиаминхлорид (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>OS) значение, полученное по формуле (2), умножают на коэффициент 0,892.

\* Например, Supelco® LC-18-DB, пригодный для целей применения настоящего стандарта. Данная информация приведена для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой МГС данного изделия и не исключает возможность использования других изделий с аналогичными свойствами.

## 8 Прецизионность

### 8.1 Общие положения

Значения характеристик прецизионности установлены в 1996 г. для пшеничной непросеянной муки (CRM 121), сухого молока (CRM 421), овощной смеси (CRM 485) и свиной печени сублимационной сушки (CRM 487) в результате межлабораторных испытаний, организованных Европейской Комиссией в рамках «Программы стандартных измерений и испытаний». Статистические данные, полученные в результате межлабораторных испытаний, приведены в приложении С.

### 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 в расчете на гидрохлорид тиаминхлорида равны:

- для пшеничной непросеянной муки  $\bar{x} = 0,452$  мг/100 г,  $r = 0,043$  мг/100 г;
- для сухого молока  $\bar{x} = 0,645$  мг/100 г,  $r = 0,071$  мг/100 г;
- для овощной смеси  $\bar{x} = 0,295$  мг/100 г,  $r = 0,039$  мг/100 г;
- для свиной печени  $\bar{x} = 0,807$  мг/100 г,  $r = 0,088$  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 повторяемости в расчете на гидрохлорид тиаминхлорида равны:

- для пшеничной непросеянной муки  $\bar{x} = 0,452$  мг/100 г,  $R = 0,190$  мг/100 г;
- для сухого молока  $\bar{x} = 0,645$  мг/100 г,  $R = 0,243$  мг/100 г;
- для овощной смеси  $\bar{x} = 0,295$  мг/100 г,  $R = 0,178$  мг/100 г;
- для свиной печени  $\bar{x} = 0,807$  мг/100 г,  $R = 0,623$  мг/100 г.

## 9 Протокол результатов испытаний

Протокол результатов испытаний должен содержать как минимум следующие сведения:

- a) всю информацию, необходимую для идентификации пробы;
- b) указание использованного метода анализа со ссылкой на настоящий стандарт;
- c) дату и способ отбора пробы (если известен);
- d) фамилию и подпись лица, ответственного за проведение анализа;
- e) дату поступления пробы в лабораторию;
- f) результаты испытаний с указанием единиц измерения;
- g) все нюансы, наблюдавшиеся при проведении анализа;
- h) все операции, не оговоренные в методике или рассматриваемые как необязательные, которые могли повлиять на результат испытания.

**Приложение А**  
**(справочное)**

**Альтернативные условия хроматографического анализа**

В таблице А.1 приведены условия хроматографического анализа, гарантированно обеспечивающие удовлетворительное качество хроматографического разделения и количественного анализа.

Т а б л и ц а А.1 — Альтернативные условия хроматографического анализа\*

Марка и размер частиц сорбента колонки для ВЭЖХ	Размеры колонки, мм (длина x внутренний диаметр)	Состав подвижной фазы (объемное соотношение компонентов)	Скорость подачи подвижной фазы, см <sup>3</sup> /мин	Параметры флюориметрического детектирования (длины волн возбуждения/эмиссии)	Способ дериватизации
Radial silica®, 10 мкм	250 x 4,6	Смесь этанола с фосфатным буферным раствором (pH = 7,4, c(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) = 0,1 моль/дм <sup>3</sup> ) (50:50)	3,0	365/435	1 <sup>а)</sup>
Supelco® LC-18 DB, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь метанола с фосфатным буферным раствором (pH = 3,5, c(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) = 5 ммоль/дм <sup>3</sup> ), содержащим 1 г/дм <sup>3</sup> хлорида тетраэтиламмония и 5 ммоль/дм <sup>3</sup> гептасульфоната натрия, (35:65)	1,0	368/420	1
Lichro-spher® RP 18, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь метанола с раствором гексансульфоната натрия [c(C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NaO <sub>3</sub> S·H <sub>2</sub> O) = 1 ммоль/дм <sup>3</sup> , pH = 3,0] (70:30)	1,5	375/435	1
Eurospher® 100 C18, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь раствора однозамещенного фосфата натрия [c(NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) = 10 ммоль/дм <sup>3</sup> ] с раствором перхлората натрия [c(NaClO <sub>4</sub> ) = 0,15 моль/дм <sup>3</sup> ] (50:50)	1,0	375/435	1
Lichro-spher® RP Select B, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь метанола с ацетатным буферным раствором (pH = 4,0, c(CH <sub>3</sub> COONa) = 50 ммоль/дм <sup>3</sup> ) (40:60)	0,7	366/435	2
μ-Bonda-pak® radial C18, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь метанола с ацетатным буферным раствором (pH = 4,5, c(CH <sub>3</sub> COONa) = 0,5 моль/дм <sup>3</sup> ) (40:60)	0,8	366/435	2 <sup>б)</sup>
Spherisorb® ODS2, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь метанола с фосфатным буферным раствором (pH = 4,0, c(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) = 0,1 моль/дм <sup>3</sup> ) (70:30)	1,0	375/435	2

\* Приведенные в таблице марки сорбентов — примеры изделий, пригодных для целей применения настоящего стандарта. Данная информация приведена для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой МГС данных изделий и не исключает возможность использования других изделий с аналогичными свойствами

## ГОСТ EN 14122—2013

Окончание таблицы А.1

Марка и размер частиц сорбента колонки для ВЭЖХ	Размеры колонки, мм (длина x внутренний диаметр)	Состав подвижной фазы (объемное соотношение компонентов)	Скорость подачи подвижной фазы, см <sup>3</sup> /мин	Параметры флюориметрического детектирования (длины волн возбуждения/эмиссии)	Способ дериватизации тиамина
Supelco® LC-18 DB, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь метанола с фосфатным буферным раствором (pH = 3,5, $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 5 \text{ ммоль/дм}^3$ ), содержащим 1 г/дм <sup>3</sup> хлорида тетраэтил-аммония и 5 ммоль/дм <sup>3</sup> гептан-сульфоната натрия, (35:65)	1,0	368/420	1
Lichrospher® RP 18, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь раствора однозамещенного фосфата калия [ $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 10 \text{ ммоль/дм}^3$ ] с диметилформамидом (80:20)	1,5	368/440	2
Hamilton® PRP-1, 5 мкм	150 x 4,6	Смесь метанола с водой (40:60) с добавлением уксусной кислоты до pH = 4,5	1,0	366/435	2
Hamilton® PRP-1, 5 мкм	150 x 4,1	Смесь метанола с водой (35:65) с добавлением раствора аммиака массовой долей $w(\text{NH}_3) = 25 \%$ до pH = 9	1,0	366/435	2
Hypersil NH <sub>2</sub> APS2, 5 мкм	250 x 4,6	Смесь дихлорметана с метанолом (95:5)	1,0	365/440	2
а) 1 — послекOLONочная дериватизация. б) 2 — предколONочная дериватизация					

Приложение В  
(справочное)

## Типичные хроматограммы

В.1 Пример хроматограммы градуировочного раствора тиамина с использованием предколоночной дериватизации с получением тioxрома приведена на рисунке В.1.

Аналитический сигнал, мВ

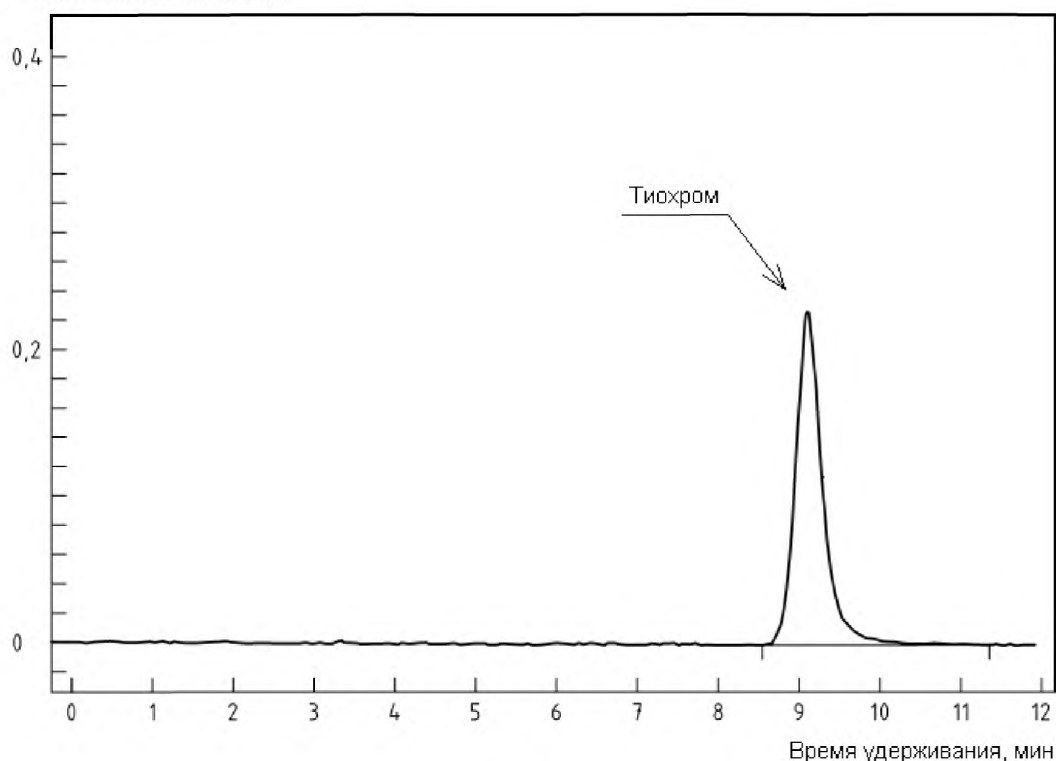


Рисунок В.1 — Пример хроматограммы градуировочного раствора тиамина с использованием предколоночной дериватизации с получением тioxрома

Условия хроматографического анализа:

Колонка длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,0 мм, заполненная сорбентом Lichrospher® RP Select B\* диаметром частиц 5 мкм.

\* Lichrospher® RP Select B — пример изделия, пригодного для целей применения настоящего стандарта. Данная информация приведена для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой МГС данного изделия и не исключает возможность использования других изделий с аналогичными свойствами.

Состав подвижной фазы — смесь метанола (см. 4.2.1) с ацетатным буферным раствором (pH = 4,0) по 4.2.22 в объемном соотношении 40 : 60.

Скорость потока подвижной фазы — 0,7 см<sup>3</sup>/мин.

Объем инъекции — 20 мм<sup>3</sup>.

Условия детектирования — измерение флуоресценции при длине волны возбуждения 366 нм, длине волны эмиссии 435 нм.

В.2 Примеры хроматограмм экстрактов проб салата (а), вареного риса (b) и вареной свинины (с) с добавлением градуировочного раствора тиамина с применением послеколоночной дериватизации приведены на рисунке В.2.

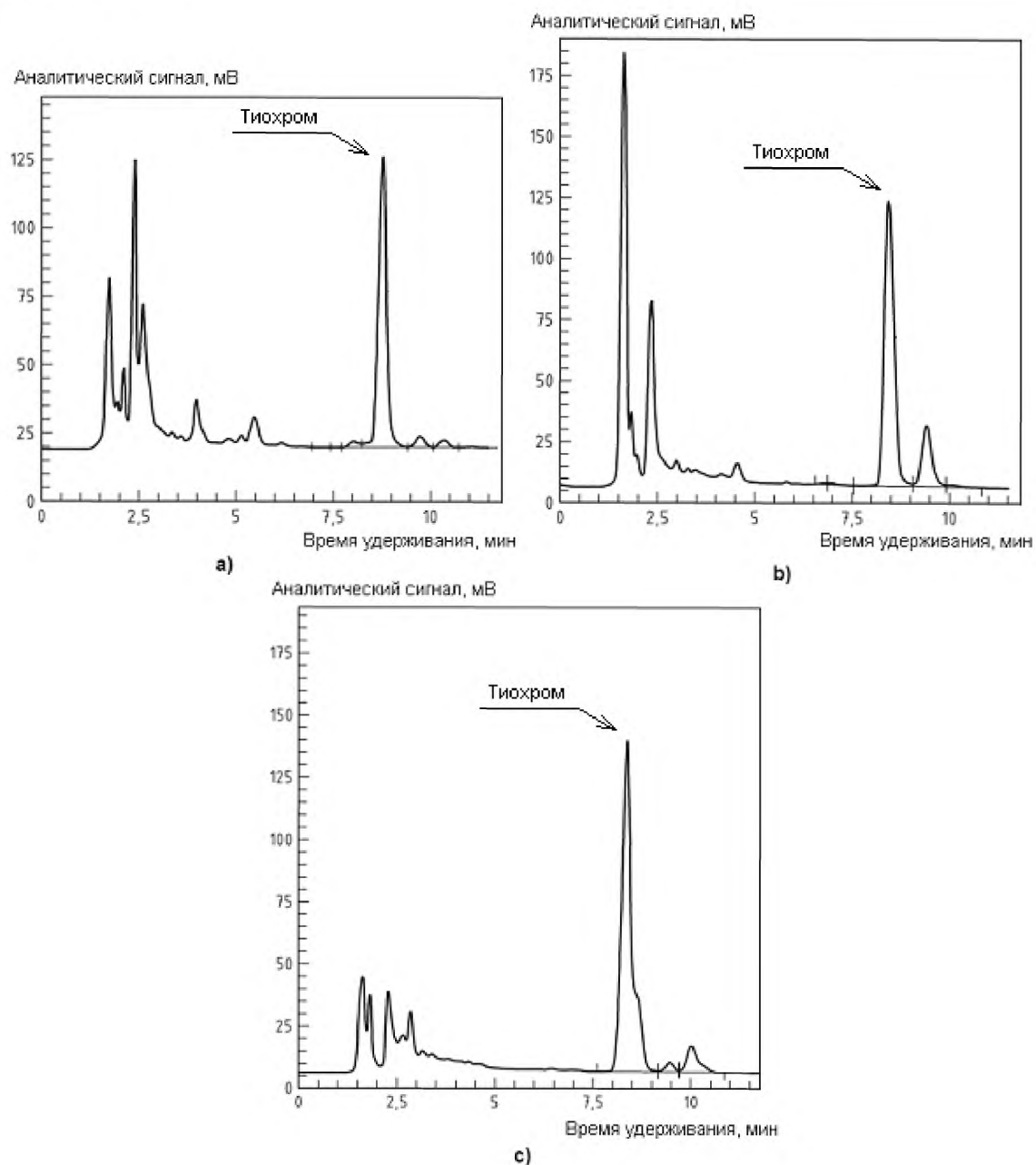


Рисунок В.2 — Примеры хроматограмм экстрактов проб салата (а), вареного риса (б) и вареной свинины (с) с добавлением градуировочного раствора тиамин с применением послеколонной дериватизации

Условия хроматографического анализа:

Колонка длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом Purospher® RP C18\* диаметром частиц 5 мкм.

\* Purospher® RP C18 — пример изделия, пригодного для целей применения настоящего стандарта. Данная информация приведена для удобства применения настоящего стандарта, не является рекламной поддержкой МГС данного изделия и не исключает возможность использования других изделий с аналогичными свойствами.



Состав подвижной фазы — смесь метанола (см. 4.2.1) с фосфатным буферным раствором ( $\text{pH} = 4,5$ ,  $c(\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4) = 10 \text{ ммоль/дм}^3$ , массовая концентрация хлорида тетраэтиламмония (см. 4.2.20)  $1 \text{ г/дм}^3$ , концентрация гептансульфоната натрия (см. 4.2.21)  $5 \text{ ммоль/дм}^3$ ) в объемном соотношении 35 : 70.

Скорость потока подвижной фазы —  $1,5 \text{ см}^3/\text{мин}$ .

Объем инъекции —  $3 \text{ мм}^3$ .

Реагент для послеколоночной дериватизации — щелочной раствор гексацианоферрата (III) калия (см. 4.2.14).

Скорость подачи дериватизирующего реагента —  $0,3 \text{ см}^3/\text{мин}$ .

Условия детектирования — измерение флюоресценции при длине волны возбуждения 365 нм, длине волны эмиссии 435 нм.

Приложение С  
(справочное)

## Данные по прецизионности методики

Данные, приведенные в таблице С.1, получены в результате межлабораторных испытаний, проведенных в соответствии с директивой Евросоюза по аттестации образцов сравнения (EU SMT Certification Study) [11]. Межлабораторные испытания были организованы Институтом исследований пищевых продуктов в Норвиче, Соединенное Королевство, по заданию Бюро эталонов Европейского сообщества. Данные, приведенные в таблицах С.2 и С.3 получены в результате межлабораторных испытаний, проведенных во Франции [5].

Т а б л и ц а С.1 — Данные по прецизионности методики для непросеянной муки, сухого молока, овощной смеси и свиной печени

Проба	CRM 121 Мука пшеничная непросеянная	CRM 421 Сухое молоко	CRM 485 Овощная смесь	CRM 487 Печень свиная лиофилизиро- ванная
Год проведения испытаний	1996	1996	1996	1996
Количество лабораторий-участников	13	14	12	15
Количество проб	2	2	2	2
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	13	14	12	15
Количество выбросов (лабораторий)	0	0	0	0
Количество принятых результатов	65	70	58	72
Среднее значение $\bar{X}$ , мг/кг	0,452	0,645	0,295	0,807
Стандартное отклонение, мг/100 г	0,054	0,086	0,039	0,182
Стандартное отклонение повторяемо- сти $s_r$ , мг/100 г	0,015	0,025	0,012	0,031
Относительное стандартное отклоне- ние повторяемости, %	3,2	3,8	4,2	3,9
Предел повторяемости $r$ ( $r = 2,83s_r$ ), мг/100 г	0,043	0,071	0,039	0,088
Стандартное отклонение воспроизво- димости $s_R$ , мг/100 г	0,053	0,085	0,063	0,182
Относительное стандартное отклоне- ние воспроизводимости $RSD_r$ , %	11,8	13,2	13,3	22,6
Предел воспроизводимости $R$ ( $R =$ $2,83s_R$ ), мг/100 г	0,190	0,243	0,178	0,623

Т а б л и ц а С.2 — Данные по прецизионности методики для: продукта для питания больных в стационарах, продукта для детского питания, сухого молока, продукта быстрого приготовления, содержащего фрукты и дрожжи

Проба	Продукт для питания больных в стационарах	Продукт для детского питания	Сухое молоко	Продукт быстрого приготовления, содержащий фрукты	Дрожжи
Год проведения испытаний	1995	1995	1995	1995	1995
Количество лабораторий-участников	10	10	10	10	10
Количество проб	1	1	1	1	1
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	8	10	10	10	10
Количество выбросов (лабораторий)	2	0	0	0	0
Количество принятых результатов	16	20	20	20	20
Среднее значение $\bar{X}$ , мг/кг	0,11	0,2	0,56	1,04	1,31
Стандартное отклонение повторяемости $s_r$ , мг/100 г	0,01	0,02	0,04	0,07	0,12
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	7	8	7	7	9
Предел повторяемости $r$ ( $r = 2,83s_r$ ), мг/100 г	0,02	0,05	0,1	0,2	0,34
Стандартное отклонение воспроизводимости $s_R$ , мг/100 г	0,04	0,04	0,08	0,19	0,17
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости $RSD_r$ , %	32	21	16	19	13
Предел воспроизводимости $R$ ( $R = 2,83s_R$ ), мг/100 г	0,1	0,12	0,25	0,55	0,48

Т а б л и ц а С.3 — Данные по прецизионности методики для зерна, шоколадного порошка и смеси пищевых добавок

Проба	Зерно	Зерно	Шоколадный порошок	Смесь пищевых добавок
Год проведения испытаний	1995	1995	1995	1995
Количество лабораторий-участников	10	10	10	10
Количество проб	1	1	1	1
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	9	9	9

Окончание таблицы С 2.

Проба	Зерно	Зерно	Шоколадный порошок	Смесь пищевых добавок
Количество выбросов (лабораторий)	1	1	1	1
Количество принятых результатов	18	18	18	18
Среднее значение $\bar{X}$ , мг/кг	1,42	2,95	1,55	486
Стандартное отклонение повторяемости $s_r$ , мг/100 г	0,06	0,18	0,13	39
Относительное стандартное отклонение повторяемости, %	4	6	8	8
Предел повторяемости $r$ ( $r = 2,83s_r$ ), мг/100 г	0,16	0,49	0,36	111
Стандартное отклонение воспроизводимости $s_R$ , мг/100 г	0,27	0,41	0,28	75
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости $RSD_r$ , %	19	14	19	15
Предел воспроизводимости $R$ ( $R = 2,83s_R$ ), мг/100 г	0,75	1,16	0,8	212

Приложение ДА  
(справочное)

**Сведения о соответствии межгосударственных стандартов  
ссылочным международным стандартам**

Т а б л и ц а ДА.1

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 3696:1987 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний	—	*
* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта. Перевод данного международного стандарта находится в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.		

## Библиография

- [1] Bognár, A.: Bestimmung von Riboflavin und Thiamin in Lebensmitteln mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC). Deutsche Lebensm. Rundschau 77, 1981, 431. 436
- [2] Hasselmann, C., Franck, D., Grimm, P., Diop, P.A. und Soules, C.: High-performance liquid chromatographic analysis of thiamin and riboflavin in dietetic foods. J. Micronutr. Anal. 5, 1989, 269. 279
- [3] Bognár, A.: Determination of vitamin B1 in food by High-Performance-Liquid-Chromatography and postcolumn derivatization. Fresenius J. Anal. Chem. 343, 1992, 155. 56
- [4] Hägg, M. und Kumpulainen, J.: Thiamin and riboflavin contents in domestic and imported cereal products in Finland. J. Food Comp. Anal. 6, 1993, 299. 306
- [5] Arella, F., Lahély, S., Bourguignon, J. B. und Hasselmann, C.: Liquid chromatographic determination of vitamin B1 and B2 in foods. A collaborative study. Food Chem. 56, 1996, 81. '86
- [6] Eitenmiller, R. R. und Landen, W. O.: Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C, 1991, 271. 297
- [7] Dawson, R. M. C., Elliott, D. C., Elliot, W. H. und Jones, K.: Data for Biochemical Research. Oxford Science Publication 3rd. ISBN 0 19 855299 8, 1998
- [8] Hägg, M.: Effect of various commercially available enzymes in the liquid chromatographic determination with external standardization of thiamin and riboflavin in foods. J. AOAC Int. 77, 1994, 681. 686
- [9] Takashi, U., Yukiko, T., Kohei, M., Mari, T. und Kaname, K.: Simultaneous determination of 2(1-hydroxyethyl)thiamin and thiamin in foods by high performance liquid chromatography with post-column derivatisation. Vitamins (Japan), 64, 1990, 379. 385
- [10] Takashi, U., Yukiko, T., Kohei, M., Masako, M. und Kaname, K.: Distribution and stability of 2(1-hydroxyethyl)thiamin and thiamin in foods. Vitamins (Japan), 65, 1991, 249 . 256
- [11] Finglas, P. M., Scott, K. J., Witthoft, C. M., van den Berg, H. und de Froidmont-Gortz, I.: The certification of the mass fractions of vitamins in four reference materials: Wholemeal flour (CRM 121), milk powder (CRM 421), lyophilised mixed vegetables (CRM 485) and lyophilised pig.s liver (CRM 487). EUR-report 18320, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 1999

---

УДК 618.857.06.001.4:006.354

МКС 67.050

IDT

Ключевые слова: продукты пищевые, определение витамина В1, ферментативное дефосфорилирование, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, флюориметрическое детектирование, предколоночное окисление тиамин, послеколоночное окисление тиамин, тиохром

---

Подписано в печать 02.10.2014. Формат 60х84 $\frac{1}{8}$ .

Усл. печ. л. 2,79. Тираж 45 экз. Зак. 4200

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»,  
123995 Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)