
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ
СТАНДАРТ
РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р
55328 —
2012

Продукты пищевые

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МАССОВОЙ ДОЛИ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ
В МАРМЕЛАДЕ

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2014

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом пищевых ароматизаторов, кислот и красителей Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПАКК Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 154 «Пищевые добавки и ароматизаторы»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29.11.2012 г. № 1646-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (gost.ru)

Стандартинформ, 2014

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.

II

Продукты пищевые

**МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МАССОВОЙ ДОЛИ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ
В МАРМЕЛАДЕ**

Food products.
Methods for identification and determination of
artificial colours percentage in marmalade

Дата введения — 2014—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мармелад и устанавливает хроматографический (в тонком слое сорбента) метод качественного определения (идентификации) и денситометрический (с компьютерной обработкой хроматограмм) метод определения массовой доли синтетических красителей (далее красителей).

По денситометрическому методу предел обнаружения массовой доли красителей составляет не менее 0,0012 %.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р 52671—2006 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в карамели

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 427—75 Линейки измерительные металлические. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабора-торная стеклянная. Цилин-дры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3760—79 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 4517—87 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, при-меняемых при анализе

ГОСТ 5830—79 Реактивы. Спирт изоамиловый. Технические условия

ГОСТ 5904—82 Изделия кондитерские. Правила приемки, методы отбора и подготовки проб

ГОСТ 6006—78 Реактивы. Бутанол-1. Технические условия

ГОСТ 6016—77 Реактивы. Спирт изобутиловый. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9875—88 Диэтиламин технический. Технические условия

ГОСТ 13647—78 Реактивы. Пиридин. Технические условия

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электро-шкафы бытовые. Общие тех-нические условия

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 20015—88 Хлороформ. Технические условия

ГОСТ 21241—89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

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

ГОСТ 29169–91 (ИСО 1769–94) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227–91 (ИСО 4794–94) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть

1. Общие требования

П р и м е ч а н и е – При использовании 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 заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Условия проведения анализа

При подготовке и проведении анализа должны быть соблюдены следующие условия:

температура окружающего воздухаот 20 °С до 25 °С;

относительная влажность воздухаот 40 % до 90 %;

напряжение в электросети220 от +10 % до -15 % В;

частота тока в электросетиот 49 до 51 Гц.

Помещение, где проводят работы с реактивами, должно быть оснащено приточно-вытяжной вентиляцией.

Все операции с реактивами следует проводить в вытяжном шкафу.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы

Для проведения анализа используют следующие средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы:

4.1 Весы по ГОСТ Р 53228, обеспечивающие точность взвешивания с пределами абсолютной допускаемой погрешности $\pm 0,0001$ г и $\pm 0,01$ г.

4.2 Воронка лабораторная типа В-36–80 ХС по ГОСТ 25336.

4.3 Пластина для тонкослойной хроматографии с силикагелем на полимерной подложке размером 10 × 10 см.

4.4 Камера хроматографическая размером 12 × 12 × 5 см.

4.5 Патрон для твердофазной экстракции с сорбентом оксида алюминия.

4.6 Оксид алюминия активированный кислый рН = 4,5 ± 0,5, зернением от 0,05 до 0,15 мм, удельной поверхностью 155 м²/г для колоночной хроматографии.

4.7 Макропористый анионит Пьюролайт (Purolite A500P) в Cl-форме, зернением от 0,60 до 0,85 мм, плотностью в H-форме в набухшем состоянии 1,04 г/см³, полной статической обменной емкостью не менее 0,8 мг-экв/см³.

4.8 Полиамид (Polyamid MN-CC6), зернением 0,16 мм, для колоночной хроматографии.

4.9 Шприц медицинский инъекционный вместимостью от 10 до 20 см³.

4.10 Микрошприц типа МШ-1 или Газохром-101 вместимостью 1,0 мм³ (1 мкл) с ценой деления не более 0,02 мм³ (0,02 мкл).

4.11 Пипетки с одной меткой вместимостью 1, 5, 25 см³ 1-го класса точности по ГОСТ 29169.

4.12 Пипетки градуированные вместимостью 1, 5, 10 см³ 1-го класса точности по ГОСТ 29227.

4.13 Стаканы термостойкие вместимостью 50, 200 см³ по ГОСТ 25336.

4.14 Колбы мерные с шлифованной пробкой вместимостью 10, 25, 50, 100 см³ 1-го класса точности по ГОСТ 1770.

4.15 Пробки стеклянные с конусом 29/32 по ГОСТ 1770.

4.16 Чашка выпарная круглодонная вместимостью 100 см³ по ГОСТ 25336.

- 4.17 Палочка стеклянная с оплавленным концом по ГОСТ 1770.
 4.18 Термостат или водяная баня.
 4.19 Электроплитка бытовая по ГОСТ 14919.
 4.20 Линейка металлическая по ГОСТ 427.
 4.21 Пинцет медицинский по ГОСТ 21241.
 4.22 Мешалка магнитная с максимальной скоростью вращения магнитного ротора 1400 об/мин.
 4.23 Фильтры бумажные, обеззоленные, «Красная лента».
 4.24 Цилиндр мерный вместимостью 100 см³, с ценой наименьшего деления 1 см³, 1-го класса точности по ГОСТ 1770.
 4.25 Фильтры стеклянные по ГОСТ 1770.
 4.26 Стандартные синтетические красители с массовой долей красящих веществ не менее 80 % по 5.2.4.1.
 4.27 Пиридин по ГОСТ 13647, ч. д. а.
 4.28 Кислота уксусная по ГОСТ 61, х. ч., ледяная, раствор массовой концентрации 10 г/дм³; готовят по ГОСТ 4517.
 4.29 Спирт этиловый ректификованный технический высшего сорта по ГОСТ 18300.
 4.30 Спирт изоамиловый по ГОСТ 5830, ч. д. а.
 4.31 Спирт изобутиловый по ГОСТ 6016, ч. д. а.
 4.32 Аммиак водный по ГОСТ 3760, ч. д. а., раствор массовой концентрации 250 г/дм³.
 4.33 Бутанол-1 технический по ГОСТ 6006.
 4.34 Диэтиламин технический по ГОСТ 9875.
 4.35 Хлороформ по ГОСТ 20015.
 4.36 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
 4.37 Оптический денситометр, работающий в диапазоне длин волн от 400 до 800 нм с чувствительностью по каждому измеряемому синтетическому красителю не ниже 0,0012 %.
 4.38 Детектор – черно-белую малогабаритную видеокамеру или аналогичную цветную с чувствительностью не ниже 0,02 лк, с ручной фокусировкой и ручной регулировкой диафрагмы либо цветной сканер с разрешением от 200 d.p.i. и выше с интерфейсом, соответствующим TWAIN-стандарту.
 4.39 Компьютер с операционной системой Microsoft Windows 2000 или выше с программой расчета массовой доли красителей.
 4.40 Блок ввода изображения.
 4.41 Ацетон по ГОСТ 2603, ч. д. а.
 Допускается применение других средств измерений и вспомогательного оборудования и программного обеспечения, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивы по качеству не хуже вышеуказанных.

5 Метод качественного определения (идентификации) красителей в тонком слое сорбента

5.1 Сущность метода

Метод основан на сорбции красителей из раствора мармелада твердым сорбентом, десорбции и удалении элюента выпариванием с последующей идентификацией красителей хроматографированием в тонком слое сорбента (ТСХ).

Идентификацию красителей проводят методом сравнения значений R_f' (отношение расстояния от центра пятна обнаруженного красителя до линии старта к расстоянию линии миграции элюента до линии старта) каждого обнаруженного красителя со значениями R_f (отношение расстояния от центра пятна стандартного синтетического красителя до линии старта к расстоянию линии миграции элюента до линии старта) контрольных образцов красителей (КО).

В качестве КО используют водные растворы стандартных красителей из числа ожидаемых.

5.2 Подготовка к анализу

5.2.1 Приготовление элюентов

5.2.1.1 Приготовление элюента 1

В мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 3 см³ пиридина по 4.27, 3 см³ изоамилового спирта по 4.30, 3 см³ изобутилового спирта по 4.31,

4 см³ этилового ректифицированного технического спирта по 4.29 и 4 см³ водного аммиака по 4.32. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

5.2.1.2 Приготовление элюента 2

В мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 3 см³ пиридина, 3 см³ изоамилового спирта, 3 см³ изобутилового спирта, 4 см³ этилового ректифицированного технического спирта и 8 см³ водного аммиака. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

5.2.1.3 Приготовление элюента 3

В мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 6 см³ диэтиламина по 4.34, 5 см³ хлороформа по 4.33, 6 см³ этилового ректифицированного технического спирта, 3 см³ раствора водного аммиака и 3 см³ дистиллированной воды. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

5.2.1.4 Приготовление элюента 4 (для красителя Зеленый S)

В мерную колбу вместимостью 50 см³ вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 6 см³ бутанола-1 по 4.33, 3 см³ этилового ректифицированного технического спирта, 3 см³ пиридина и 6 см³ дистиллированной воды. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

5.2.1.5 Приготовление элюента 5

В мерную колбу вместимостью 100 см³ вносят пипеткой 1,4 см³ водного аммиака, 8,8 см³ дистиллированной воды и отмеряют цилиндром 40 см³ этилового спирта. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

Элюенты готовят непосредственно перед анализом. Не допускается повторное использование элюентов.

5.2.2 Приготовление водно-спиртового раствора

В мерную колбу вместимостью 250 см³ отмеряют цилиндром 50 см³ этилового спирта и 50 см³ дистиллированной воды. Закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед анализом.

5.2.3 Приготовление водно-ацетонового раствора

В мерную колбу (с пришлифованной пробкой) вместимостью 100 см³ отмеряют цилиндром 50 см³ ацетона и 25 см³ дистиллированной воды. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед анализом.

5.2.4 Приготовление растворов КО индивидуальных красителей

5.2.4.1 В стакан вместимостью 50 см³ взвешивают на лабораторных весах с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,1 мг пробу стандартного красителя в соответствии с таблицей 1. Результаты взвешивания записывают до четвертого десятичного знака.

Массу пробы стандартного красителя m , г, вычисляют с учетом массовой доли основного красящего вещества в навеске по формуле

$$m = \frac{0,25}{X} 100, \quad (1)$$

где 0,25 – масса пробы красителя, при условии содержания в нем 100 % основного красящего вещества, г;

100 – коэффициент пересчета, %;

X – массовая доля основного красящего вещества в пробе стандартного красителя по ГОСТ Р 52671, %.

Т а б л и ц а 1 – Значения R_f стандартных красителей

Наименование стандартного красителя	Номер красителя	Индекс пищевой добавки	Значения R_f			
			Элюент 1	Элюент 2	Элюент 3	Элюент 4
Синтетические красители, разрешенные в Российской Федерации для производства пищевых продуктов						
Тартразин	19140	E102	0,27	0,49	0,37	–
Желтый хинолиновый	47005	E104	0,74	0,65	0,47	–
			0,83	0,69	0,65	–
Желтый «солнечный» закат» FCF	15985	E110	0,39	0,68	0,64	–

Окончание таблицы 1

Наименование стандартного красителя	Номер красителя*	Индекс пищевой добавки	Значения R_f			
Азурбин	14720	E122	0,34	0,67	0,54	–
Пансо 4R	16255	E124	0,24	0,65	0,48	–
Красный очаровательный АС	16035	E129	0,50	0,67	0,66	–
Синий патентованный V	42051	E131	0,20	0,63	0,46	–
Синий блестящий FCF	42090	E133	0,43	0,69	0,59	–
Зеленый S	44090	E142	0,16	0,54	0,55	0,76
Зеленый прочный FCF	42053	E143	0,43	0,37	0,39	–
Синтетические красители, запрещенные в Российской Федерации для производства пищевых продуктов						
Желтый 2G	18965	E107	0,32	0,65	0,31	–
Амарант	16185	E123	0,29	0,64	0,43	–
Эритрозин	45430	E127	0,57	0,76	0,90	–
Красный 2G	18050	E128	0,49	0,51	0,48	–
* Номер красителя в соответствии с международной классификацией красителей Colour Index (C.I.).						
** Индекс красителя в соответствии с европейской кодификацией пищевых добавок.						

5.2.4.2 В каждый стакан с пробой стандартного красителя прибавляют 20 см³ дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Для интенсификации растворения допускается нагревание раствора в стакане на водяной бане до температуры не более 90 °С. Затем раствор охлаждают до 20 °С, количественно переносят в мерную колбу (с шлифованной пробкой) вместимостью 100 см³, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Массовая концентрация основного красящего вещества стандартного красителя в полученном растворе КО $C_{к,о} = 2,5 \text{ г/дм}^3$.

Полученный раствор КО хранят в склянке из темного стекла с завинчивающейся пробкой при комнатной температуре не более 6 мес.

5.2.5 Отбор проб

Отбор и подготовка проб мармелада – по ГОСТ 5904.

5.2.6 Приготовление раствора мармелада

В стакане вместимостью 100 см³ взвешивают на лабораторных весах с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания $\pm 100 \text{ мг}$ от 5 до 10 г мармелада с записью результата взвешивания до первого десятичного знака. Затем в стакан прибавляют дистиллированную воду из расчета 2 см³ на 1 г мармелада и перемешивают стеклянной палочкой по 4.17. Для полного растворения мармелада необходимо нагревание раствора в стакане на водяной бане по 4.18 до температуры не более 95 °С. Затем содержимое стакана перемешивают на магнитной мешалке по 4.22 до достижения температуры раствора от 25 °С до 27 °С.

5.2.7 Извлечение красителей из растворов мармелада

5.2.7.1 Осаждение желирующих веществ

В раствор, полученный по 5.2.6, прибавляют ацетон из расчета не менее 4 см^3 на 1 г мармелада и перемешивают стеклянной палочкой до выпадения желирующих веществ в осадок. Раствор отделяют от осадка фильтрованием на стеклянном фильтре по 4.25. Осадок промывают небольшими порциями водно-ацетонового раствора по 5.2.3 из расчета не менее $6\text{--}8 \text{ см}^3$ на 1 г мармелада.

Полученный фильтрат собирают в выпарную чашку по 4.16 и удаляют ацетон на водяной бане до достижения объема от 3 до 4 см^3 на 1 г мармелада. Концентрированный раствор красителя переносят в стакан вместимостью 100 см^3 . Выпарную чашку промывают дистиллированной водой в количестве от 1 до 2 см^3 на 1 г мармелада. Промывной раствор объединяют с концентрированным раствором красителя.

5.2.7.2 Подготовка патрона для твердофазной экстракции красителей

Медицинским шприцом по 4.9 набирают от 10 до 20 см^3 раствора ледяной уксусной кислоты массовой концентрации 10 г/дм^3 по 4.28, соединяют шприц с патроном для твердофазной экстракции, заполненным сорбентов в соответствии с таблицей 2. Затем патрон отсоединяют от шприца.

В случае использования оксида алюминия по 4.6 или анионита Пьюролайт по 4.7 патрон промывают раствором ледяной уксусной кислоты массовой концентрации 10 г/дм^3 со скоростью от 10 до 20 капель в минуту. Объем пропускаемого через патрон раствора ледяной уксусной кислоты должен быть не менее 25 см^3 .

В случае использования Полиамида по 4.8 сорбент промывают, используя вместо раствора ледяной уксусной кислоты дистиллированную воду.

Т а б л и ц а 2 – Сорбенты, используемые для твердофазной экстракции красителей из растворов мармелада

Наименование красителя	Индекс красителя	Вид желирующего вещества	
		Агар	Пектин
Сорбенты			
Азокрасители			
Тартразин	E102	Оксид алюминия, Полиамид	Полиамид
Желтый 2G	E107	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	Пьюролайт, Полиамид
Желтый «солнечный закат» FCF	E110		
Азорубин	E122		
Амарант	E123		
Понсо 4R	E124		
Красный 2G	E128		
Красный очаровательный AC	E129		
Триарилметановые красители			
Синий патентованный V	E131	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	Пьюролайт, Полиамид
Синий блестящий FCF	E133		
Зеленый S	E142		
Зеленый прочный FCF	E143		
Хинолиновый краситель			
Желтый хинолиновый	E104	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	Пьюролайт, Полиамид
Ксантоновый краситель			
Эритрозин	E127	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	Пьюролайт, Полиамид

5.2.7.3 Сорбция красителей

Измеряют значение pH раствора, полученного по 5.2.7.1. В случае отклонения измеренного значения от заданного интервала (от 2,5 до 3,5 ед. pH) pH доводят добавлением ледяной уксусной кислоты.

Медицинским шприцем набирают по 20 см³ раствора и соединяют шприц с патроном, подготовленным по 5.2.7.2. Пропускают анализируемый раствор через патрон по одной капле со скоростью от 10 до 20 капель в минуту до тех пор, пока уровень окрашенного слоя сорбента не достигнет основания патрона. Остаток раствора пропускают через второй патрон. Объем пропускаемого через патрон раствора должен быть не менее 40 см³. При необходимости используют от 1 до 3 патронов, подготовленных по 5.2.7.2. После этого промывают каждый патрон с сорбированным красителем 25 см³ раствора ледяной уксусной кислоты по одной капле со скоростью от 10 до 20 капель в минуту.

Патроны, заполненные Пьюролайтом или Полиамидом, промывают дистиллированной водой.

5.2.7.4 Десорбция красителей из патронов водным аммиаком

Медицинским шприцем набирают 10 см³ водного аммиака и соединяют шприц с патроном по 5.2.7.3. Пропускают водный аммиак через патрон по одной капле со скоростью от 10 до 20 капель в минуту. При необходимости промывание патрона водным аммиаком повторяют до полного обесцвечивания сорбента (оксида алюминия) в патроне.

Десорбцию красителей из патронов, заполненных Пьюролайтом или Полиамидом, проводят аналогично, используя элюент 5 по 5.2.1.5.

Элюат (раствор водного аммиака или элюента 5 с красителем, извлеченным из патрона) собирают в выпарную чашку по 4.16 и выпаривают досуха на водяной бане с температурой от 80 °С до 90 °С. Сразу после испарения раствора аммиака чашку с сухим остатком (красителем) охлаждают. Краситель растворяют в чашке, добавляя пипеткой от 0,5 до 1,0 см³ водно-спиртового раствора, по 5.2.2.

5.2.8 Подготовка хроматографической камеры

В хроматографическую камеру вносят элюент 1 по 5.2.2.1, в количестве, необходимом для погружения хроматографической пластины на глубину не более 0,5 см от нижнего края пластины. Камеру плотно закрывают и выдерживают в течение 1 ч.

5.2.9 Подготовка пластин для ТСХ анализа

На хроматографическую пластину по 4.3 карандашом наносят линию старта на расстоянии 1 см от края пластины и линию границы элюента на расстоянии 7 см от линии старта (параллельно рискам на обратной стороне пластины). На линию старта карандашом наносят точки с интервалом не менее 1 см.

5.3 Проведение анализа

5.3.1 Получение хроматографических карт КО

На пластину, подготовленную по 5.2.9, микрошприцем наносят на линию старта в несколько приемов с промежуточным подсушиванием на воздухе от 0,3 до 1,0 мм³ растворов КО, приготовленных по 5.2.4. После нанесения раствора пластину подсушивают в течение от 3 до 4 мин и затем пинцетом по 4.19 помещают в хроматографическую камеру, подготовленную по 5.2.8, под углом примерно 45°. Камеру плотно закрывают. Элюирование заканчивают при достижении элюентом линии границы элюента 7,0 см от линии старта. По окончании элюирования пластину вынимают пинцетом и подсушивают.

Аналогично получают хроматографические карты с использованием элюентов 2, 3 и 4.

5.3.2 Обработка хроматографических карт

Линейкой измеряют расстояние от центра каждого пятна стандартного красителя и линии границы элюента до линии старта.

Значение R_f стандартного красителя вычисляют по формуле

$$R_f = \frac{l_k}{l_s}, \quad (2)$$

где l_k – расстояние до линии старта от центра пятна красителя, см;

l_s – расстояние до линии старта от линии границы элюента, см.

5.3.3 Обнаружение и идентификация красителей

На хроматографическую пластину, подготовленную по 5.2.9, микрошприцем наносят на линию старта в несколько приемов с промежуточным подсушиванием на воздухе от 0,3 до 1,0 мм³ раствора КО (или нескольких КО отдельно), приготовленных по 5.2.4.2, и от 0,5 до 3,0 мм³ анализируемого

раствора по 5.2.7.4. После нанесения растворов пластину подсушивают в течение от 3 до 4 мин и затем пинцетом помещают в хроматографическую камеру, подготовленную по 5.2.8, под углом примерно 45°. Камеру плотно закрывают. Элюирование заканчивают при достижении элюентом линии границы элюента 7,0 см от линии старта. По окончании элюирования хроматографическую пластину вынимают пинцетом и подсушивают.

При отсутствии разделения пятен красителей на хроматограмме анализ повторяют, используя элюент 2, 3 или 4.

Если на полученных хроматограммах выше стартовой линии присутствует не менее одного окрашенного пятна, делают заключение о наличии водорастворимого синтетического красителя в анализируемом мармеладе.

Линейкой измеряют расстояние от центра каждого пятна красителя и линии границы элюента до линии старта.

Значение R_f' обнаруженного красителя вычисляют по формуле

$$R_f' = \frac{l_k'}{l_3}, \quad (3)$$

где l_k' – расстояние до линии старта от центра пятна красителя, см;

l_3 – расстояние до линии старта от линии границы элюента, см.

Визуально сравнивают цвет и положение пятен обнаруженных красителей с хроматографическими картами, полученными по 5.3.1.

При совпадении цвета и положения хотя бы одного из пятен обнаруженных красителей с одним из пятен КО идентифицируют обнаруженные красители, сравнивая значения R_f' , рассчитанные по формуле (2), со значениями R_f КО, рассчитанными по формуле 1 и приведенными в таблице 1.

6 Денситометрический метод определения массовой доли красителей в тонком слое сорбента

6.1 Сущность метода

Метод основан на хроматографировании красителей в тонком слое сорбента (ТСХ) с последующим определением их массовой доли методом количественной оптической денситометрии с компьютерной обработкой хроматограмм.

6.2 Подготовка к анализу

6.2.1 Приготовление растворов КО смесевых красителей

Растворы КО смесевых красителей готовят с учетом обнаруженных и идентифицированных в анализируемом образце красителей по 5.3.3.

6.2.1.1 Приготовление раствора А

В мерную колбу (с шлифованной пробкой) вместимостью 500 см³ пипеткой вносят по 50 см³ растворов КО по 5.2.4 из числа обнаруженных и идентифицированных в анализируемом образце по 5.3.3. Затем доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Массовую концентрацию красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе А C_k , г/дм³, вычисляют по формуле

$$C_k = \frac{C_{к.о} V_k}{V} \quad \text{или} \quad C_k = 0,25, \quad (4)$$

где $C_{к.о}$ – массовая концентрация основного красящего вещества раствора КО, г/дм³, приготовленного по 5.2.4;

V_k – объем раствора КО индивидуального красителя по 5.2.4, см³,

$V_k = 50$ см³;

V – объем раствора КО смесевых красителей, см³,

$V = 500$ см³.

6.2.1.2 Приготовление раствора Б

Пипеткой (см. 4.11) отбирают 25 см³ раствора А, приготовленного по 6.2.1.1, и переносят в мерную колбу с шлифованной пробкой вместимостью 50 см³. Доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Массовую концентрацию красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе В C_{k1} , г/дм³, вычисляют по формуле

$$C_{k1} = \frac{C_k}{2}, \quad (5)$$

где C_k – массовая концентрация красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе А по 6.2.1.1, г/дм³;

2 – коэффициент разведения.

6.2.1.3 Приготовление раствора В

Пипеткой отбирают 25 см³ раствора Б, приготовленного по 6.2.1.3, и переносят в мерную колбу с шлифованной пробкой вместимостью 50 см³. Доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, колбу закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

Массовую концентрацию красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе В C_{k1} , г/дм³, вычисляют по формуле

$$C_{k2} = \frac{C_{k1}}{2}, \quad (6)$$

где C_{k1} – массовая концентрация красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе В, г/дм³;

2 – коэффициент разведения.

Полученные растворы Б и В используют в качестве реперов (свидетелей).

6.2.2 Обнаружение красителей

На хроматографическую пластину, подготовленную по 5.2.9, микрошприцем наносят на линию старта в несколько приемов с промежуточным подсушиванием на воздухе от 0,3 до 1,0 мм³ растворов реперов (растворы Б и В), приготовленных по 6.2.1, и от 0,5 до 3,0 мм³ анализируемых растворов по 5.2.7.4. После нанесения растворов пластину подсушивают в течение от 3 до 4 мин и затем пинцетом помещают в хроматографическую камеру, подготовленную по 5.2.8, под углом примерно 45°. Камеру плотно закрывают. Элюирование заканчивают при достижении элюентом линии границы элюента 7,0 см от линии старта. По окончании элюирования хроматографическую пластину вынимают пинцетом и подсушивают.

При отсутствии разделения пятен красителей на хроматограмме анализ повторяют, используя элюент 2, 3 или 4.

6.3 Проведение анализа

6.3.1 Определение массовой доли анализируемых красителей

Определение массовой доли красителя проводят на денситометре по 4.37, анализируя хроматограмму, полученную по 6.2.2, с помощью детектора по 4.38 и компьютера по 4.39.

Массу каждого красителя в пятне репера (свидетеля) КО смесового красителя, полученного нанесением на пластину раствора Б, m_B , мкг, вычисляют по формуле

$$m_B = C_{k1} V_B, \quad (7)$$

где C_{k1} – массовая концентрация красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе Б по 6.2.1.2, мкг/мм³;

V_B – объем раствора Б, нанесенного на пластину ТСХ по 6.2.2, мм³.

Массу каждого синтетического красителя в пятне репера (свидетеля) КО смесового красителя, полученного нанесением на пластину раствора В, m_B , мкг, вычисляют по формуле

$$m_B = C_{k2} V_B, \quad (8)$$

где C_{k2} – массовая концентрация красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе В по 6.2.1.3, мкг/мм³;

V_B – объем раствора В, нанесенного на пластину ТСХ по 6.2.2, мм³.

Значения массы каждого красителя в пятне репера (свидетеля) КО смесового красителя вводят в программу компьютерной обработки хроматограмм, а массу анализируемого красителя обозначают X.

Получают результат измерения – массу анализируемого красителя, нанесенного на пластину, в микрограммах.

Если массовая доля красителя в анализируемом растворе выйдет за диапазон измерения от 0,0012 % до 0,0250 %, необходимо скорректировать ее в соответствии с указанным диапазоном.

6.3.2 Обработка результатов

Массовую долю красителя в анализируемых компотах C_1 , %, вычисляют по формулам:

$$C_1 = \frac{M_{\text{вых}} 10^{-6} V_1}{V_2 10^{-3} m_1 10^{-3} 10} \quad (9)$$

или

$$C_1 = \frac{M_{\text{вых}} V_1}{m_1 V_2 10}, \quad (10)$$

где $M_{\text{вых}}$ – масса анализируемого красителя в пятне на пластине ТСХ, мкг;

10^{-6} – коэффициент пересчета мкг в г;

V_1 – объем анализируемого раствора красителя, полученного при растворении сухого остатка красителя по 5.2.7.4, см³, при V_1 , равном от 0,5 до 1,0 см³;

V_2 – объем анализируемого раствора красителя, нанесенного на пластину ТСХ по 6.2.2, мм³;

10^{-3} – коэффициент пересчета мм³ в см³;

m_1 – масса пробы анализируемого мармелада, взятого для анализа, г;

10^{-3} – коэффициент пересчета г в кг;

10 – коэффициент пересчета в %.

Вычисления проводят с записью результата до пятого десятичного знака. Окончательный результат записывают с точностью до четвертого десятичного знака.

За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение $C_{\text{ср}}$, % двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{C_{11} - C_{12}}{C_{\text{ср}}} 100 \leq r, \quad (11)$$

где C_{11} , C_{12} – результаты анализов двух параллельных измерений массовой доли красителя, %;

$C_{\text{ср}}$ – среднее значение двух параллельных измерений массовой доли красителя, %;

r – значение предела повторяемости, приведенное в таблице 2.

Результат анализа представляют в виде:

$$C_{\text{ср}} \pm 0,01 \delta C_{\text{ср}}, \text{ при } P = 0,95, \quad (12)$$

где $C_{\text{ср}}$ – среднеарифметическое значение результатов двух определений, признанных приемлемыми, %;

δ – границы относительной погрешности измерений, %.

Предел повторяемости r и воспроизводимости R , а также показатель точности, δ , измерений массовой доли красителя в мармеладе приведены в таблице 3.

Т а б л и ц а 3 – Нормативы оперативного контроля стандартных синтетических красителей

Диапазон измерений массовой доли красителя в мармеладе, %	Предел повторяемости r , % отн. при $P = 0,95$, $n = 2$	Предел воспроизводимости R , % отн. при $P = 0,95$, $m = 2$	Показатель точности (границы относительной погрешности) $\pm \delta$, %, при $P = 0,95$
0,0012 – 0,025	10	15	10

УДК: 663/664:667.28:006.354

ОКС 67.180.10

Ключевые слова: мармелад, синтетические водорастворимые красители, идентификация, метод тонкослойной хроматографии, денситометрический метод

Подписано в печать 01.12.2014. Формат 60x84^{1/8}.

Усл. печ. л. 1,86. Тираж 37 экз. Зак. 3962.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

