МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34229— 2017

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение синтетических красителей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС) при участии Акционерного общества «Мултон» (АО «Мултон»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 ноября 2017 г. № 52—2017)

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	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 12 декабря 2017 г. № 1922-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34229—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 33406—2015 в части соковой продукции

*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 (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2018

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 2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, посуда и материалы 3
5 Отбор проб 4
6 Подготовка к проведению измерений 4
7 Проведение измерений 7
8 Обработка и оформление результатов измерений 8
9 Контроль качества результатов измерений 9
10 Требования безопасности 10
Приложение А (справочное) Мониторинг хроматографических характеристик колонки 11
Приложение Б (справочное) Примеры хроматограмм 13

МКС 67.080.01

Поправка к ГОСТ 34229—2017 Продукция соковая. Определение синтетических красителей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 4 2020 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение синтетических красителей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Juice products.
Determination of synthetic dyes by HPLC method

Дата введения — 2019—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на соковую продукцию из фруктов и овощей и устанавливает метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения (измерения) массовой концентрации (массовой доли) синтетических пищевых красителей (далее — СПК):

- тартразина (Е102);
- индигокармина (Е132);
- желтого «солнечный закат» FCF (Е110);
- азорубина (Е122);
- красного очаровательного АС (Е129);
- понсо 4R (Е124);
- бриллиантового голубого FCF (Е133);
- синего патентованного V (Е131);
- желтого хинолинового (Е104).

Диапазон измерений массовой концентрации синтетических пищевых красителей составляет в готовой соковой продукции от 5,0 до 200,0 мг/дм^3, диапазон измерений массовой доли синтетических пищевых красителей в концентрированной соковой продукции от 25 до 1000 млн$^{-1}$.

Примечание — 1 млн$^{-1}$ соответствует 1 мг/кг.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

Издание официальное

ГОСТ 3117—78 Реактивы. Аммоний уксуснокислый. Технические условия

ГОСТ ISO 3696—2013* Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля

ГОСТ ИСО 5725-6—2003** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ ISO 7886-1—2011 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ ИСО/МЭК 17025—2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 22967—90 Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний

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

ГОСТ 26313—2014 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

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 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 разделении СПК на аналитических хроматографических колонках, заполненных обращенно-фазовым сорбентом С18.

Идентификацию и количественное определение содержания разделенных СПК проводят при помощи диодно-матричного детектора в диапазоне длин волн 190—800 нм.

Значения длин волн, используемые в данном методе, приведены в таблице 1.

Таблица 1

Наименование красителя	Длина волны детектирования, нм
Тартразин (Е102)	420
Желтый «солнечный закат» FCF (Е110)	500
Желтый хинолиновый (Е104)	420
Азорубин (Е122)	510
Понсо 4R (Е124)	510
Красный очаровательный АС (Е129)	510
Синий патентованный V (Е131)	620
Индигокармин (Е132)	620
Бриллиантовый голубой FCF (Е133)	620

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

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

4.1 Хроматограф жидкостный с диодно-матричным детектором, имеющий следующие метрологические характеристики:

- диапазон длин волн 190—800 нм;
- относительное среднеквадратическое отклонение выходного сигнала не более:
  - по площади пика — 3 %;
  - по высоте пика — 3 %;
  - по времени удерживания — 0,6 %;
  - по площади пика за 8 ч непрерывной работы — 4 %.

4.2 Колонка хроматографическая размером 250 × 4,6 мм, заполненная силикагелем с привитыми группами С18* с размером частиц 5 мкм.

4.3 Колонка защитная (предколонка), размеры защитной колонки — 12,5 × 4,6 мм.

4.4 Спектрофотометр для регистрации спектров поглощения жидких сред в диапазоне длин волн 200—800 нм с погрешностью измерений коэффициента пропускания не более ±1,0 % — в диапазоне от 200 до 400 нм и не более ±0,5 % — в диапазоне свыше 400 до 800 нм.

4.5 Шкаф сушильный с принудительной конвекцией и диапазоном температур от 15 до 300 °С. Стабильность поддержания температуры при установившемся тепловом режиме ±0,2 °С.

4.6 Центрифуга, обеспечивающая фактор разделения (*g*-фактор) не менее 800.

4.7 Установка для фильтрации и дегазации жидкостей.

4.8 Мининасос лабораторный.

4.9 Весы неавтоматического действия специального класса точности по ГОСТ OIML R 76-1, пределом допускаемой абсолютной погрешности измерения ±0,001 г.

4.10 Весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1, пределом допускаемой абсолютной погрешности измерения ±0,01 г.

4.11 Пипетки градуированные 2-1-2-1, 2-1-2-2, 2-1-2-5 и 2-1-2-10 по ГОСТ 29227.

4.12 Колбы мерные 2-25-2, 2-50-2, 2-100-2, 2-250-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

4.13 Фильтры мембранные с насадкой на шприц, размером диаметра пор 0,45 и 0,20 мкм.

4.14 Фильтры мембранные диаметром 47 мм с размером диаметра пор мембраны 0,45 и 0,20 мкм.

4.15 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

4.16 Шприц медицинский вместимостью 5 $см^3$ многократного применения по ГОСТ 22967 или однократного применения по ГОСТ ISO 7886-1.

4.17 Пробирки полимерные центрифужные конические с завинчивающейся крышкой вместимостью 15 $см^3$.

4.18 Пробирки вместимостью 10 и 20 $см^3$ любого исполнения по ГОСТ 25336.

4.19 Стаканы любого типа исполнения 1 вместимостью 50, 100 $см^3$ по ГОСТ 25336.

4.20 Виалы вместимостью 2 $см^3$ для автосэмплера хроматографа в соответствии с рекомендациями его изготовителя.

4.21 Ацетонитрил ос. ч.**

4.22 Аммоний уксуснокислый по ГОСТ 3117, х. ч.

4.23 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода по ГОСТ ISO 3696 1-й степени чистоты.

4.24 Красители синтетические пищевые (образцы сравнения):

- тартразин (Е102), массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- желтый «солнечный закат» FCF (Е110), массовая доля основного вещества не менее 95,0 %;
- желтый хинолиновый (Е104), массовая доля основного вещества не менее 95,0 %;

---

* Примером является хроматографическая колонка Zorbax SB C18 компании Agilent. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является поддержкой указанного продукта. Допускается использование других хроматографических колонок, в том числе с иными типоразмерами при соблюдении требований, приведенных в приложении А.

** Ацетонитрил является токсичным веществом, поэтому все операции по приготовлению растворов, содержащих ацетонитрил, следует проводить (в соответствии с требованиями раздела 10) в вытяжном шкафу с использованием взрывобезопасного перемешивающего устройства. Фильтрование растворов, содержащих ацетонитрил, следует проводить также в вытяжном шкафу.

- синий патентованный V (Е131), массовая доля основного вещества не менее 97,0 %;
- понсо 4R (Е124), массовая доля основного вещества не менее 99,0 %;
- красный очаровательный АС (Е129), массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- индигокармин (Е132), массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- азорубин (Е122), массовая доля основного вещества не менее 98,0 %;
- бриллиантовый голубой FCF (Е133), массовая доля основного вещества не менее 97,0 %.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками, вспомогательного оборудования, посуды, материалов с техническими характеристиками не ниже вышеуказанных и химических реактивов аналогичной или более высокой квалификации.

5 Отбор проб

Отбор проб соковой продукции проводят по ГОСТ 26313.

6 Подготовка к проведению измерений

6.1 Общие положения

Разделение группы СПК (Е102, Е104, Е110, Е122, Е124, Е129, Е131, Е132, Е133) проводят при комнатной температуре в градиентном режиме с использованием в качестве подвижной фазы раствора уксуснокислого аммония (CH_3COONH_4) молярной концентрации 100 ммоль/дм^3 (далее — фаза А) и ацетонитрила (далее — фаза Б).

Операции заполнения системы растворителями и промывка отдельных частей и системы в целом выполняют в соответствии с руководствами по эксплуатации оборудования.

Примечание — Для продления срока службы и более эффективной работы колонки используют систему защиты (in-line фильтры на выходе из насоса и предколонку), проводят периодическую промывку (не реже одного-двух раз в неделю) колонки ацетонитрилом (в зависимости от числа проведенных измерений и концентрации органических веществ, прошедших через колонку) в течение 1—3 ч со скоростью 1,0 см^3/мин с предварительной промывкой всей системы водой. После проведения измерений и промывки колонки во избежание образования кристаллов соли всю систему также промывают водой.

6.2 Приготовление раствора уксуснокислого аммония молярной концентрации 100 ммоль/дм^3

(7,70 ± 0,01) г уксуснокислого аммония взвешивают в стакане вместимостью 100 см^3, растворяют в приблизительно 80 см^3 воды (см. 4.23), количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят водой до метки и перемешивают. Полученный раствор дегазируют на установке для фильтрации и дегазации жидкостей (см. 4.6) под вакуумом в течение 15 мин с одновременной фильтрацией через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Срок хранения раствора — не более трех дней при условии визуального отсутствия нерастворимых веществ. Перед использованием раствора на следующий день его предварительно дегазируют на установке для фильтрации и дегазации жидкостей (см. 4.6) под вакуумом в течение 15 мин с одновременной фильтрацией через фильтр с диаметром пор 0,20 мкм.

Примечание — Допускается изменять объем приготавливаемого раствора в зависимости от потребности.

6.3 Приготовление градуировочных и контрольных растворов

6.3.1 Приготовление исходного раствора СПК номинального значения массовой концентрации 100 мг/дм^3

Взвешивают (0,025 ± 0,001) г СПК в стакане вместимостью 50 см^3, растворяют примерно в 30 см^3 воды, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3 и доводят до метки водой.

Срок хранения исходного раствора СПК при температуре от 2 до 8 °С — не более двух-трех недель.

Примечания

1 Под номинальным значением массовой концентрации понимают значение, вычисленное по процедуре приготовления раствора, т. е. с учетом массы красителя и объема мерной колбы, но без учета массовой доли основного вещества красителя.

2 В зависимости от цели определения (измерения) в исходный раствор могут входить либо все СПК, приведенные в разделе 1, либо их часть.

6.3.2 Приготовление градуировочных растворов выполняют в соответствии с таблицей 2. В мерную колбу соответствующей вместимости отбирают аликвоту исходного раствора (см. 6.3.1), доводят до метки водой и перемешивают.

Таблица 2

№ раство-ра	Исходный раствор	Объем аликвоты исходного раствора, $см^3$	Вместимость мерной колбы, $см^3$	Массовая концентрация СПК (номинальное значение), $мг/дм^3$
5	По 6.3.1	5,0	50	10,0
4	По 6.3.1	2,5	50	5,0
3	По 6.3.1	2,5	100	2,5
2	По 6.3.1	1,0	100	1,0
1	№ 4	5,0	50	0,5

Градуировочные растворы используют свежеприготовленными.

6.3.3 Фактическое значение массовой концентрации каждого СПК устанавливают по приготавливаемым рабочим растворам. Для каждого СПК готовят из соответствующего реактива (см. таблицу 3) индивидуальные растворы с массовой концентрацией 100 $мг/дм^3$ (см. 6.3.1), которые затем разбавляют аналогично 6.3.2. Для красителей тартразин (Е102), желтый «солнечный закат» FCF (Е110), желтый хинолиновый (Е104), азорубин (Е122) и индигокармин (Е132) используют рабочие растворы массовой концентрации 10 $мг/дм^3$, для красителей понсо 4R (Е124), красный очаровательный АС (Е129), синий патентованный V (Е131) и бриллиантовый голубой FCF (Е133) — растворы массовой концентрации 1 $мг/дм^3$.

Таблица 3 — Молярная масса и молярный коэффициент поглощения СПК

Наименование красителя (СПК)	Формула красителя	Молярная масса, г/моль	Максимум светопоглощения, нм	Молярный коэффициент поглощения, ε $моль^{-1} \cdot см^{-1} \cdot дм^3$
Тартразин (Е102)	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$	534,36	426	$2,43 \cdot 10^4$
Желтый «солнечный закат» FCF (Е110)	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	452,37	485	$2,22 \cdot 10^4$
Желтый хинолиновый (Е104)	$C_{18}H_9O_8NS_2Na_2$	477,0	411	$2,25 \cdot 10^4$
Азорубин (Е122)	$C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$	502,43	516	$1,45 \cdot 10^4$
Понсо 4R (Е124)	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	604,47	505	$12,02 \cdot 10^4$
Красный очаровательный АС (Е129)	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$	496,42	504	$2,41 \cdot 10^5$
Синий патентованный V (Е131)	$C_{27}H_{31}N_2O_7S_2 \cdot 0,5Ca$	579,71	638	$22,9 \cdot 10^4$
Индигокармин (Е132)	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$	466,35	610	$8,1 \cdot 10^3$
Бриллиантовый голубой FCF (Е133)	$C_{37}H_{34}Na_2N_2O_9S_3$	792,85	620	$1,12 \cdot 10^5$

6.3.4 С использованием спектрофотометра регистрируют спектр поглощения соответствующего рабочего раствора красителя относительно воды в диапазоне длин волн 200—800 нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. Находят значение оптической плотности в максимуме поглощения

(см. таблицу 3) и вычисляют фактическое значение массовой концентрации рабочего раствора $C_{раб}$, мг/дм^3, по формуле

$$C_{раб} = \frac{1000 \cdot A \cdot M}{\varepsilon \cdot L}, \quad (1)$$

где 1000 — коэффициент перевода граммов в миллиграммы;
A — оптическая плотность раствора красителя в максимуме поглощения;
M — молярная масса красителя (см. таблицу 3), г/моль;
ε — молярный коэффициент поглощения красителя (см. таблицу 3), моль$^{-1}$ · см$^{-1}$ · дм^3;
L — толщина слоя раствора в кювете, см.

6.3.5 Фактическое значение массовой концентрации СПК в исходном растворе $C_{исх}$, мг/дм^3, по 6.3.1 вычисляют по формуле

$$C_{исх} = C_{раб} \cdot K_{разб}, \quad (2)$$

где $C_{раб}$ — фактическое значение массовой концентрации рабочего раствора красителя, вычисленное по формуле (1), мг/дм^3;
$K_{разб}$ — коэффициент разбавления индивидуального раствора красителя при приготовлении рабочего раствора по 6.3.3.

6.4 Подготовка хроматографа к работе

Включение и подготовку хроматографа к работе, а также выключение хроматографа по окончании работы осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации.

6.5 Условия хроматографического анализа

При проведении хроматографического анализа создают и поддерживают следующие условия:
- температура колонки .....комнатная температура;
- диапазон длин волн детектирования .....190—800 нм;
- объем вводимой пробы .....от 5 до 20 мм^3;
- режим элюирования .....градиентный.

Параметры градиентного режима приведены в таблице 4.

Таблица 4 — Состав подвижной фазы и условия элюирования СПК

Этап	Время, мин	Скорость потока, см^3/мин	Фаза А (см. 6.1), %	Фаза Б (см. 6.1), %
1	0,00	1,00	100,0	0,0
2	1,00	1,00	100,0	0,0
3	35,00	1,00	65,0	35,0
4	40,00	1,00	96,0	4,0
5	41,00	1,00	100,0	0,0
Примечание — Параметры градиентного режима, в том числе скорость потока подвижной фазы, могут варьироваться в зависимости от типоразмеров колонки. При выборе условий следует руководствоваться рекомендациями изготовителя колонки.				

6.6 Установление градуировочной характеристики

Для установления градуировочной характеристики регистрируют по две хроматограммы градуировочных растворов № 1—5 по таблице 2 и, используя программное обеспечение к хроматографу, находят площади пиков соответствующих СПК.

Затем устанавливают градуировочную характеристику для каждого красителя в виде функциональной зависимости

$$c = k \cdot S, \quad (3)$$

где c — массовая концентрация соответствующего красителя, мг/дм^3;
k — угловой коэффициент градуировочной зависимости, мг · дм$^{-3}$ · (е. о. п. · с)$^{-1}$*;
S — площадь пика соответствующего красителя, е. о. п. · с.

* е. о. п. — единицы оптической плотности.

Угловой коэффициент вычисляют по результатам измерений градуировочных растворов с помощью программно-аппаратного комплекса сбора и обработки данных или при его отсутствии в составе хроматографа по методу наименьших квадратов, принимая свободный член в уравнении регрессии равным нулю

$$k = \frac{\sum(s_i \cdot c_i)}{\sum s_i^2}, \quad (4)$$

где S_i — площадь пика соответствующего СПК при анализе i-го градуировочного раствора, е. о. п. · с;

c_i — массовая концентрация СПК в i-м градуировочном растворе, мг/дм^3.

Градуировку проводят при смене оборудования, колонок, условий хроматографического анализа или при выявлении несоответствий при оперативном контроле качества измерений или при внутреннем аудите.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят, используя свежеприготовленные градуировочные растворы № 4 и 5, с периодичностью, которая устанавливается в зависимости от числа проводимых измерений. Внеочередной контроль проводят при значительном изменении хроматографических параметров (см. приложение А).

Результаты контроля стабильности градуировочной характеристики признаются удовлетворительными при выполнении условия

$$| X_{изм} - C_{ст} | \le 0{,}01 \cdot G \cdot C_{ст}, \quad (5)$$

где $X_{изм}$ — результат измерения массовой концентрации данного СПК в контрольных растворах, мг/дм^3;

$C_{ст}$ — фактическое значение массовой концентрации данного СПК в контрольных растворах, мг/дм^3;

G — норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, %.

Во всем диапазоне градуировочной характеристики G = 10 %. При невыполнении условия (5) градуировочную характеристику устанавливают заново во всем диапазоне измерений.

6.7 Мониторинг хроматографических колонок — см. приложение А.

7 Проведение измерений

При анализе каждой пробы проводят два параллельных измерения.

7.1 Подготовка проб для измерений

7.1.1 Осветленные соки, нектары и сокосодержащие напитки, не содержащие нерастворимые в воде вещества, разбавляют в десять раз объемным методом. Для этого 10 см^3 пробы помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки водой, 1—1,5 см^3 подготовленной пробы помещают в виалу для автосэмплера и используют для анализа.

7.1.2 Соки, нектары и сокосодержащие напитки с мякотью или содержащие нерастворимые в воде вещества предварительно центрифугируют со скоростью не менее 9000 об/мин (фактор разделения не менее 990 g) в течение 10 мин или не менее 3000 об/мин в течение 15 мин. После этого повторяют все операции по 7.1.1.

7.1.3 Концентрированные соки и пюре различных фруктов, ягод и овощей разбавляют в 50 раз весовым методом. Для этого в стакане вместимостью 50 см^3 взвешивают приблизительно 0,5 г пробы концентрированного сока (пюре) с погрешностью ±0,001 г и добавляют приблизительно 24,5 г воды также с погрешностью ±0,001 г. Если концентрированный сок (пюре) содержит мякоть или нерастворимые в воде вещества, то пробу после добавления воды центрифугируют согласно 7.1.2.

После этого аккуратно отбирают в медицинский шприц через иглу ориентировочно 2 см^3 полученного раствора, помещают в виалу 1—1,5 см^3 и используют для анализа.

7.2 Порядок выполнения измерений

7.2.1 Включение и вывод хроматографической системы на рабочий режим, включая кондиционирование колонки, проводят в соответствии с руководствами по эксплуатации оборудования и колонки, а также 6.1 и 6.5.

7.2.2 Выключение хроматографической системы после выполнения измерений проводят в соответствии с руководством по эксплуатации оборудования и руководством пользователя программно-аппаратным комплексом сбора и обработки данных.

Примеры хроматограмм СПК приведены в приложении Б.

7.2.3 Подготовленную по 7.1 пробу дозируют в хроматограф и регистрируют хроматограмму в тех же условиях, в которых были зарегистрированы хроматограммы градуировочных растворов (см. 6.5). На полученных хроматограммах идентифицируют пики определяемых компонентов и, используя значения площадей пиков, вычисляют значения массовой концентрации (массовой доли) идентифицированных красителей, используя градуировочные характеристики, установленные по 6.6.

8 Обработка и оформление результатов измерений

8.1 Если подготовку пробы проводили по 7.1.1 или 7.1.2, то массовую концентрацию СПК в пробе C, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C = \frac{c_{изм} \cdot V_2}{V_1}, \quad (6)$$

где $c_{изм}$ — измеренное по 7.2.3 значение массовой концентрации соответствующего СПК в подготовленной пробе, мг/дм^3;

V_2 — вместимость мерной колбы, взятой для разбавления пробы, см^3;

V_1 — объем пробы, отобранный для измерений, см^3.

За результат измерений массовой концентрации СПК в пробе принимают среднеарифметическое значение $\bar{C}$, мг/дм^3, результатов двух параллельных измерений C_1 и C_2, мг/дм^3, при выполнении условия

$$100 \cdot \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \le r_{отн}, \quad (7)$$

где $r_{отн}$ — предел повторяемости (см. таблицу 5), %.

Результат измерения округляют до первого десятичного знака.

8.2 Если подготовку пробы проводили по 7.1.3, то массовую долю СПК в пробе X, млн$^{-1}$, вычисляют по формуле

$$X = \frac{c_{изм} \cdot m_{общ}}{m_X}, \quad (8)$$

где $c_{изм}$ — массовая доля красителя в растворе пробы, подготовленной по 7.1.3 (принимают численно равной измеренному по 7.2.3 значению массовой концентрации соответствующего СПК в этой пробе), млн$^{-1}$;

$m_{общ}$ — масса анализируемой пробы с добавкой воды (см. 7.1.3), г;

m_X — масса анализируемой пробы, г.

За результат измерений массовой доли СПК в пробе принимают среднеарифметическое значение $\bar{X}$, млн$^{-1}$, результатов двух параллельных измерений X_1 и X_2, млн$^{-1}$, при выполнении условия

$$100 \cdot \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \le r_{отн}, \quad (9)$$

где $r_{отн}$ — предел повторяемости (см. таблицу 5), %.

Результат измерения округляют до первого десятичного знака.

При невыполнении условий (7) и (9) получают еще два результата измерений в соответствии с разделом 7 и затем используют методы проверки приемлемости четырех результатов параллельных измерений и установления результата измерений согласно ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Таблица 5 — Метрологические характеристики метода при $P = 0,95$

Диапазон измерения массовой концентрации, мг/дм^3	Диапазон измерения массовой доли, млн$^{-1}$	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных измерений) $r_{отн}$, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами единичных измерений, полученных в двух лабораториях) $R_{отн}$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности $P = 0,95$) $\pm\delta$, %*
От 5 до 200 включ.	От 25 до 1000 включ.	9	16	14
* Соответствует расширенной относительной неопределенности с коэффициентом охвата $k = 2$.				

8.3 Результаты измерений регистрируют в протоколе испытаний согласно ГОСТ ИСО/МЭК 17025 с указанием настоящего стандарта. В протоколе испытаний результат измерений представляют в следующем виде (с указанием СПК)

$$(\bar{C} \pm \Delta_C),\ \text{мг/дм}^3\ (P = 0{,}95) \tag{10}$$

или

$$(\bar{X} \pm \Delta_X),\ \text{млн}^{-1}\ (P = 0{,}95), \tag{11}$$

где $\bar{C}(\bar{X})$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

Δ_C — значение границ абсолютной погрешности измерений массовой концентрации для доверительной вероятности $P = 0{,}95$, мг/дм^3, вычисленное по формуле

$$\Delta_C = \frac{\delta \cdot \bar{C}}{100}, \tag{12}$$

где δ — значение границ относительной погрешности измерений массовой концентрации (массовой доли) для доверительной вероятности $P = 0{,}95$ (см. таблицу 5), %;

Δ_X — значение границ абсолютной погрешности измерений массовой доли для доверительной вероятности $P = 0{,}95$, млн$^{-1}$, вычисленное по формуле

$$\Delta_X = \frac{\delta \cdot \bar{X}}{100}. \tag{13}$$

8.4 Результаты измерений, полученные в двух лабораториях, признают совместимыми при выполнении условий

$$2 \cdot \frac{|\bar{C}_1 - \bar{C}_2|}{\bar{C}_1 + \bar{C}_2} \le 0{,}01 \cdot CD_{0,95}, \tag{14}$$

где $\bar{C}_1$ и $\bar{C}_2$ — результаты измерений массовой концентрации СПК в первой и второй лабораториях соответственно, полученные по 8.1, мг/дм^3;

$CD_{0,95}$ — критическая разность, %;

или

$$2 \cdot \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\bar{X}_1 + \bar{X}_2} \le 0{,}01 \cdot CD_{0,95}, \tag{15}$$

где $\bar{X}_1$ и $\bar{X}_2$ — результаты измерений массовой доли СПК в первой и второй лабораториях соответственно, полученные по 8.2, млн$^{-1}$;

$CD_{0,95}$ — критическая разность, %.

Значение критической разности вычисляют по формуле

$$CD_{0,95} = \sqrt{R_{\text{отн}}^2 - r_{\text{отн}}^2 \cdot \left(1 - \frac{1}{n_1} - \frac{1}{n_2}\right)}, \tag{16}$$

где $R_{\text{отн}}$ — предел воспроизводимости (см. таблицу 5), %;

$r_{\text{отн}}$ — предел повторяемости (см. таблицу 5), %;

n_1 и n_2 — число параллельных измерений в первой и второй лабораториях соответственно.

Если условия (14) и (15) не выполняются, то лабораториям рекомендуется провести процедуры, предусмотренные ГОСТ 5725-6 (пункты 5.3.3 и 5.3.4).

9 Контроль качества результатов измерений

Контроль качества результатов измерений осуществляют, используя методы контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости и контроля стабильности среднеквадратического отклонения промежуточной прецизионности с применением контрольных карт Шухарта по ГОСТ ИСО 5725-6 (пункты 6.2.2, 6.2.3).

Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025 (пункт 4.2).

10 Требования безопасности

10.1 Условия безопасного проведения работ

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.004.

Требования электробезопасности при работе с приборами — по ГОСТ 12.1.019 и в соответствии с руководством по эксплуатации используемого оборудования.

10.2 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке результатов допускаются специалисты, имеющие высшее или специальное образование, опыт работы в химической лаборатории и изучившие инструкцию по эксплуатации жидкостного хроматографа. Первое применение метода в лаборатории должно проводиться под руководством специалиста, владеющего теорией высокоэффективной жидкостной хроматографии и имеющего практические навыки в этой области.

Приложение А
(справочное)

Мониторинг хроматографических характеристик колонки

А.1 Проверку оптимальности хроматографических условий и состояния хроматографической колонки проводят по хроматограмме градуировочного раствора № 3 (см. 6.3.2) с помощью программного обеспечения или вручную по показателям в соответствии с таблицей А.1.

Таблица А.1 — Основные хроматографические характеристики синтетических пищевых красителей

Наименование красителей	Коэффициент емкости* k'	Ориентировочное время удерживания, мин	Число теоретических тарелок N	Коэффициент асимметрии A_s
Тартразин (Е102)	4,06	12,69	85 900	1,09
Желтый «солнечный закат» FCF (Е110)	6,96	19,98	197 000	1,34
Желтый хинолиновый (Е104)**	6,31 7,51	18,36 21,35	17 500	1,34
Азорубин (Е122)	9,99	27,55	356 500	1,11
Понсо 4R (Е124)	6,58	19,05	174 800	1,24
Красный очаровательный АС (Е129)	8,02	22,59	260 000	1,19
Синий патентованный V (Е131)	13,51	36,32	506 600	1,29
Индигокармин (Е132)	5,08	15,28	128 500	1,02
Бриллиантовый голубой FCF (Е133)	11,07	30,22	383 500	1,16

* Коэффициент емкости (k') — коэффициент емкости колонки по веществу со временем удерживания t_R, показывающий во сколько раз исправленное время удерживания вещества больше, чем время удерживания несорбируемого вещества.

** На хроматограмме желтого хинолинового (Е104) обычно наблюдаются два пика, соответствующие основному (дисульфопроизводному) и сопутствующему (моно-) соединениям.

А.2 Время удерживания соответствующего компонента определяют непосредственно из хроматограмм двух параллельных измерений одной пробы. В случае обнаружения отклонения времени удерживания более чем на ±5 % от ранее установленного для любого из СПК проводят контроль стабильности градуировочной характеристики согласно 6.6. В случае невыполнения условия (5) заново устанавливают градуировочную характеристику во всем диапазоне измерений. В случае выполнения условия (7) допускается программное изменение времени удерживания консервантов.

А.3 Число теоретических N тарелок вычисляют по формуле

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{W_b}\right)^2 = 5{,}545 \cdot \left(\frac{t_R}{W_h}\right)^2, \quad (А.1)$$

где 16 и 5,545 — множители, вытекающие из свойств нормального распределения;

t_R — время удерживания пика, мин;

W_b — ширина пика у основания, мин;

W_h — ширина пика на его полувысоте, мин.

Колонка считается удовлетворительной, если найденное число теоретических тарелок составляет не менее 90 % от значения, полученного при градуировке хроматографа (см. 6.6).

А.4 Разрешение R_s вычисляют по формуле

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{(W_{b1} + W_{b2})}, \quad (А.2)$$

где t_{R2}, t_{R1} — времена удерживания разделяемых полностью или критически (не полностью) компонентов, мин;

W_{b1}, W_{b2} — ширина пиков у основания, мин.

По результатам двух параллельных измерений вычисляют средние значения R_s для пары разделяемых полностью или критически (не полностью) компонентов (n, n + 1). Колонка считается удовлетворительной при значениях R_s n, n + 1 ≥ 4,0.

А.5 Коэффициент A_s асимметрии вычисляют по формуле

$$A_s = \frac{A}{B}, \quad (А.3)$$

где A — «левый» отрезок, образованный на горизонтальной линии, проведенной на высоте 10 % от основания пика и разделенной вертикалью, опущенной из вершины пика, мин;

B — «правый» отрезок, образованный на горизонтальной линии, проведенной на высоте 10 % от основания пика и разделенной вертикалью, опущенной из вершины пика, мин.

Колонку считают удовлетворительной при значении коэффициента асимметрии, не превышающем 2,5.

Контроль стабильности хроматографической колонки в процессе эксплуатации проводят не реже одного раза в две недели.

Приложение Б
(справочное)

Примеры хроматограмм

Б.1 Примеры хроматограмм приведены на рисунках Б.1—Б.3.

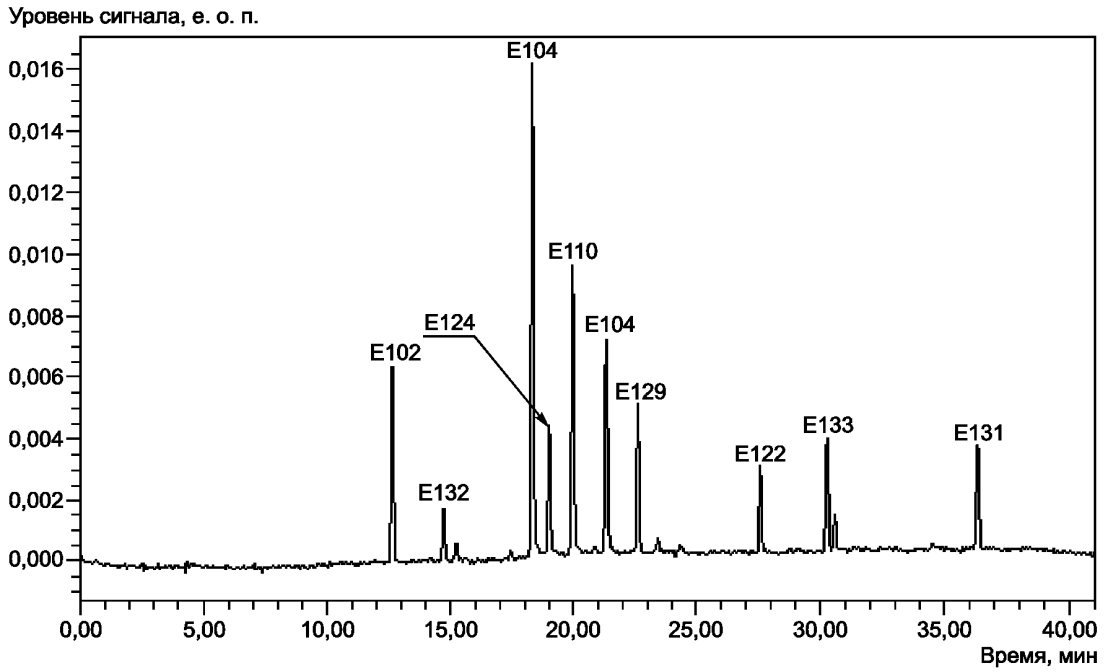

Рисунок Б.1 — Хроматограмма смеси пищевых красителей
(E102, E104, E110, E122, E124, E129, E131, E132, E133) при 420 нм, градуировочный раствор № 4

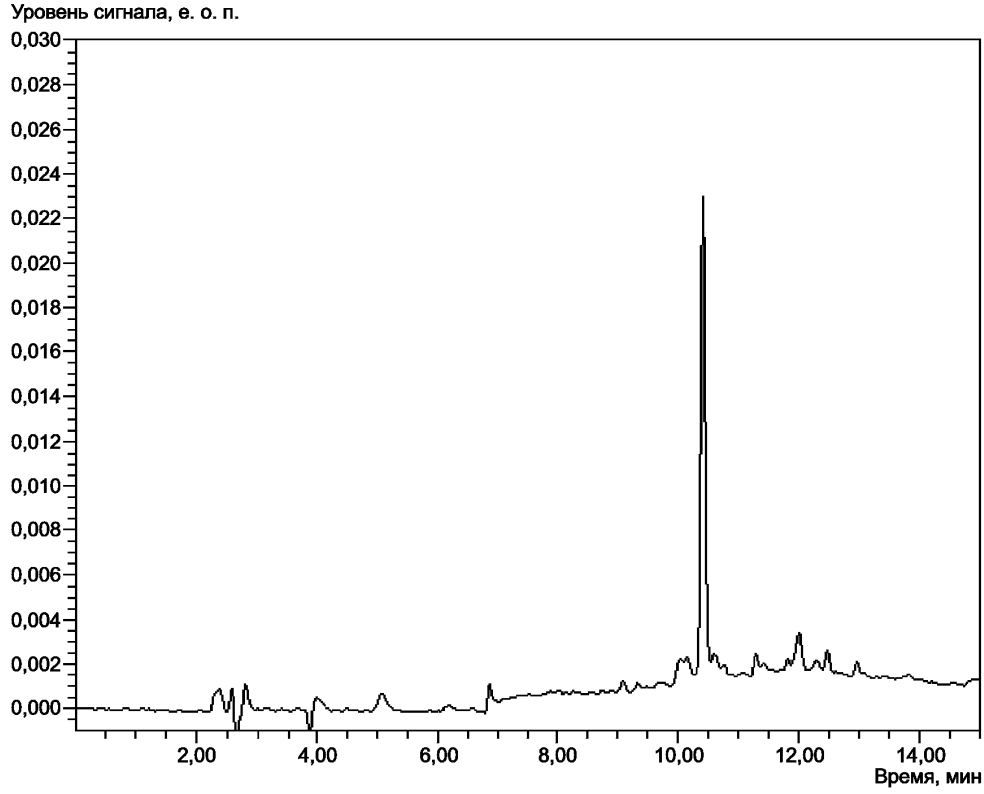

Рисунок Б.2 — Хроматограмма апельсинового сока без СПК

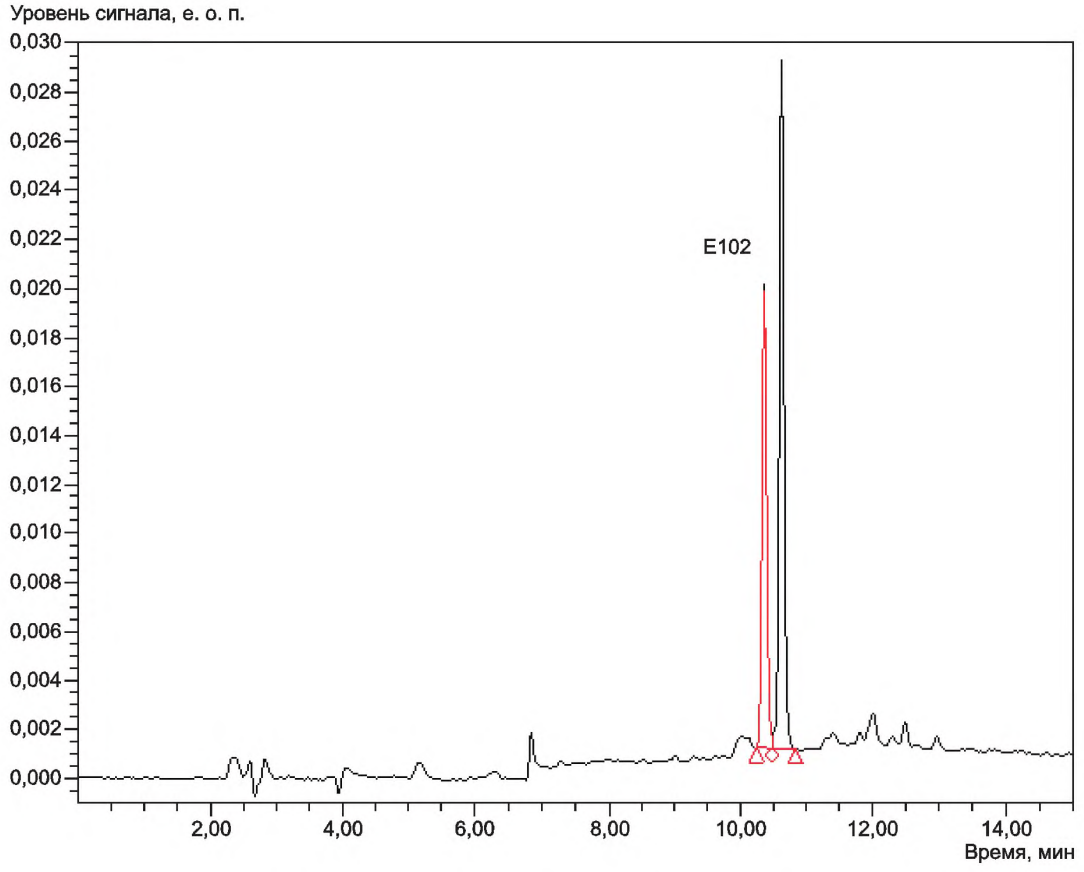

Рисунок Б.3 — Хроматограмма апельсинового сока с добавкой СПК Тартразин (Е102), 10 мг/дм^3

УДК 543.544.52:664.863:006.35 МКС 67.080.01 Н69

Ключевые слова: продукция соковая из фруктов и овощей, синтетические красители, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, массовая концентрация, массовая доля

БЗ 9—2017/188

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 14.12.2017. Подписано в печать 15.01.2018. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,33. Уч.-изд. л. 2,11. Тираж 30 экз. Зак. 2702.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123001, Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru