Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение непищевых красителей Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV и Para Red в пищевых продуктах и биологически активных добавках к пище

Методические указания
МУК 4.1.2483—09

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.21
О60

О60 **Определение** непищевых красителей Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV и Para Red в пищевых продуктах и биологически активных добавках к пище: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—10 с.

1. Методические указания разработаны ГУ НИИ питания РАМН (академик РАМН В. А. Тутельян, к. т. н. В. Г. Байков к. х. н. В. В. Бессонов, Ю. В. Ведищева, к. ф. н. О. И. Передерцев., Е. П. Хромченкова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25 декабря 2008 г. № 3).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 5 февраля 2009 г.

4. Введены в действие с момента утверждения.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
5 февраля 2009 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение непищевых красителей Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV и Para Red в пищевых продуктах и биологически активных добавках к пище

Методические указания
МУК 4.1.2483—09

Введение

Красители Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV и Para Red (Пара Ред) (далее – Судан I—IV и Para Red) в сферах экономики используются при производстве дизельного топлива, в легкой промышленности для окрашивания тканей, а также при проведении биохимических исследований для окрашивания препаратов, и относятся к непищевым красителям.

Необходимость определения непищевых красителей Судан I—IV и Para Red (Пара Ред) обусловлено их использованием при фальсификации специй и пряностей, а также продуктов их переработки, БАД к пище, изготовленных с использованием специй и пряностей, и других пищевых продуктов, в состав которых входят специи и пряности, с целью придания им более интенсивной окраски.

1. Общие положения и область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают методику определения возможного присутствия непищевых красителей Судан I—IV и Para Red в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в специях, пряностях и продуктах их переработки, а также в биологически активных давках к пище (БАД) и других пищевых продуктов (в состав которых входят специи и пряности).

1.2. Методические указания предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, находящиеся в обращении на территории Российской Федерации, в т.ч. импортируемых в Российскую Федерацию, а также могут быть использованы другими лабораторными центрами, осуществляющими контроль качества и безопасности пищевых продуктов и аккредитованными в установленном порядке.

1.3. Присутствие непищевых красителей Судан I—IV и Para Red в пищевых продуктах в пределах обнаружения данным методом является основанием для запрещения продукции к реализации.

2. Краткая характеристика красителей Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV и Para Red (Пара Ред)

Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV и Para Red (Пара Ред) являются синтетическими непищевыми красителями, практически нерастворимыми в воде, хорошо растворимыми в органических растворителях (хлороформе, ацетоне, эфире), и имеющих интенсивную окраску от оранжевого до ярко-красного цвета. Структура непищевых красителей Судан I—IV и Para Red приведена на рис. 1.

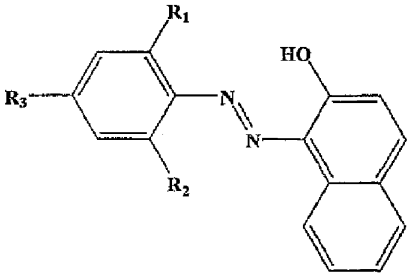

Рис. 1. Структура непищевых красителей Судан I-IV и Para Red (Пара Ред)

	R_1	R_2	R_3
Судан I	H	H	H
Судан II	H	CH_3	H
Судан III	H	H	Ph-N=N-
Судан IV	CH_3	H	o-CH3-Ph-N=N-
Para Red (Пара Ред)	H	H	NO_2

3. Принцип метода определения красителей Судан I-IV и Para Red

Обнаружение и определение содержания непищевых красителей Судан I—IV и Para Red (Пара Ред) проводится методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с диодно-матричным детектированием (при длине волны 504 нм). В качестве арбитражного метода используют метод ВЭЖХ с масс-детектированием (по молекулярным и дочерним ионам, см. табл. 1).

Таблица 1

Параметры масс-детектирования представлены

Наименование	Молекулярные ионы, m/z	Энергия разрушения	Основные дочерние ионы, m/z		
Para Red	294 ($M + H^+$)	0,9	277	156	-
Судан-I	249 ($M + H^+$)	1,0	232	156	-
Судан-II	277 ($M + H^+$)	1,2	260	156	120
Судан-III	352 ($M + H^+$)	1,2	197	336	156
Судан-IV	382 ($M + H^+$)	1,2	224	364	156

4. Средства измерения, материалы и реактивы

Высокоэффективный жидкостной хроматограф
Хроматографическая колонка С18, 5μ, 4,6 × 250 мм
Ультразвуковая баня
Весы лабораторные общего назначения с пределом взвешивания 100 г и погрешностью + 0,0001 г
Дистиллятор
Установка для фильтрования и дегазирования подвижной фазы
pH-метр лабораторный
Центрифуга лабораторная ОПН-8 8000 об/мин
Мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм
Пипетки 2-1-2-1 или 1-1-2-1, 2-1-2-10 или 2-2-2-10 или 3-2-2-10 ГОСТ 29227
Колбы мерные К 1-50-1, К 1-50-2 ГОСТ 1770—74

Вода дистиллированная
Ацетонитрил для жидкостной хроматографии
Тетрагидрофуран для жидкостной хроматографии
Трифторуксусная кислота квалификации осч
Ацетон квалификации хч

5. Определение содержания Суданов I—IV и Para Red методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

5.1. Подготовка стандартных растворов

Навеску стандартного вещества около 0,02 г (с точностью 0,0001 г) помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 30 мл 95 % этанола, интенсивно встряхивают, при необходимости озвучивают на ультразвуковой бане до полного растворения вещества. После этого объем доводят до метки 95 %-м этанолом (основной раствор). В мерную колбу на 50 мл помещают 1 мл основного раствора и доводят объем до метки 95 %-м этанолом (рабочий раствор). Полученный рабочий раствор фильтруют через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Приготовленные стандартные растворы хранят в прохладном месте в течение 1 месяца.

5.2. Подготовка проб для анализа

Около 1,0 г (точная навеска) образца помещают во флакон, объемом 20 мл с завинчивающейся крышкой, добавляют 10 мл ацетона, интенсивно встряхивают в течение 2 мин и озвучивают на ультразвуковой бане в течение 5 мин. После озвучивания образец снова встряхивают и центрифугируют на 6 000 об/мин. После центрифугирования супернатант отбирают и исследуют. При необходимости отобранный супернатант фильтруют через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

При подготовке контрольных образцов указанным способом извлекается более 95 % добавленного количества каждого из исследуемых красителей.

5.3. Приготовление подвижной фазы

При постоянном перемешивании к бидистиллированной воде добавляют по каплям трифторуксусную кислоту до pH = 2,4 и фильтруют через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Подвижная фаза хранится в холодильнике при температуре 2—8 °С не более 3 месяцев.

5.4. Проведение анализа ВЭЖХ

Идентификацию компонентов на хроматограмме осуществляют путем сравнения со временем удерживания стандарта красителя, УФ и видимого спектра. Для подтверждения рекомендуется сравнивать также молекулярные массы каждого компонента и его дочерних ионов.

Идентификация красителей Судан I—IV и Para Red только по времени удерживания не будет являться достоверной, ввиду сложного матрикса исследуемых объектов, и наличия природных компонентов, обладающих сходными спектральными характеристиками и хроматографическим поведением.

5.5. Условия хроматографического анализа

Колонка 5u C18(2), 5μ, 4,6 × 250 мм.

Приготовление подвижной фазы: бидистиллированную воду доводят трифторуксусной кислотой до pH 2,4 (мл на 1 л бидистиллированной воды).

Подвижная фаза: смесь ацетонитрила (А) и бидистиллированной воды, подкисленной трифторуксусной кислотой до pH = 2,4 (Б). Оптимальным является градиентное элюирование смесью ацетонитрила (А) и бидистиллированной воды, подкисленной трифторуксусной кислотой до pH = 2,4 (Б): 0 мин. – 80 % (А), 10 мин.– 98 %(А) (градиент линейный), 20 мин – 98 %(А), 21 мин – 80 %(А). Регенерация колонки занимает не менее 9 мин. Общее время анализа составляет 30 мин.

В случае использования только диодно-матричного детектора вместо бидистиллированной воды, подкисленной трифторуксусной кислотой до pH = 2,4 допускается использование бидистиллированной воды. Также возможно использование изократического элюирования смесью

ацетонитрила - бидистиллированной воды с содержанием ацетонитрила 90—95 % (в зависимости от параметров колонки).

Для полной регенерации колонки следует использовать подвижную фазу на основе тетрагидрофурана, обладающего такой же элюирующей силой, как и ацетон.

Скорость подачи подвижной фазы: 1,0 $см^3$/мин.

Детектирование: λ=504 нм.

Объем вводимой пробы 5 мкл.

Порядок выхода и параметры количественного определения непищевых красителей Судан I—IV и Para Red приведены в табл. 2. Пример хроматограммы смеси стандартов Судан I—IV и Para Red представлен на рис. 2.

Проведение количественного определения красителей Судан I—IV и Para Red не является обязательным, т.к. их применение в пищевых продуктов не допускается, поскольку они являются не пищевыми веществами, и их присутствие в пределах обнаружения данного метода является основанием для запрещения продукции к реализации. Пределы обнаружения красителей Судан I—IV и Para Red приведены в табл. 2.

Таблица 2

Пределы обнаружения непищевых красителей Судан I—IV и Para Red в специях, пряностях, продуктах их переработки и БАД к пище

№	Наименование красителя	Предел обнаружения на диодной матрице, мг/кг	Предел обнаружения на масс-детекторе, мг/кг
1	Para Red	0,5	0,5
3	Судан-I	0,5	0,5
2	Судан-II	0,5	0,5
4	Судан-III	0,5	0,5

Количественное определение*

Количественное определение проводят абсолютной градуировкой.

Содержание красителей Судан I—IV и Para Red проводят по следующей формуле:

$$C = \frac{S_2 \times C_1 \times V}{S_1 \times m}$$, где

C – содержание красителя, мг/кг.

C_1 – концентрация красителя в стандартном растворе, мкг/мл.

S_1 – площадь пика красителя в стандартном растворе.

S_2 – площадь пика красителя в определяемом образце.

V – объем раствора образца, мл.

m – масса навески, г.

* проведение количественного определения красителей Судан I—IV и Para Red не является обязательным, т.к. их применение в пищевых продуктов не допускается.

Таблица 3

Основные метрологические показатели

№	Наименование	Граница относительной погрешности (±δ) в % при $P = 0,95$	Стандартное отклонение повторяемости (σ_r) %
1	Para Red	2,1	3,2
3	Судан-I	3,6	3,5
2	Судан-II	2,8	3,8
4	Судан-III	3,3	4,9

Таблица 4

Параметры определения непищевых красителей Судан I—IV и Para Red

№	Наименование	Время удерживания, мин.
1	Para Red	6,2
3	Судан-I	7,5
2	Судан-II	10,9
4	Судан-III	12,9
5	Судан-IV	15,5

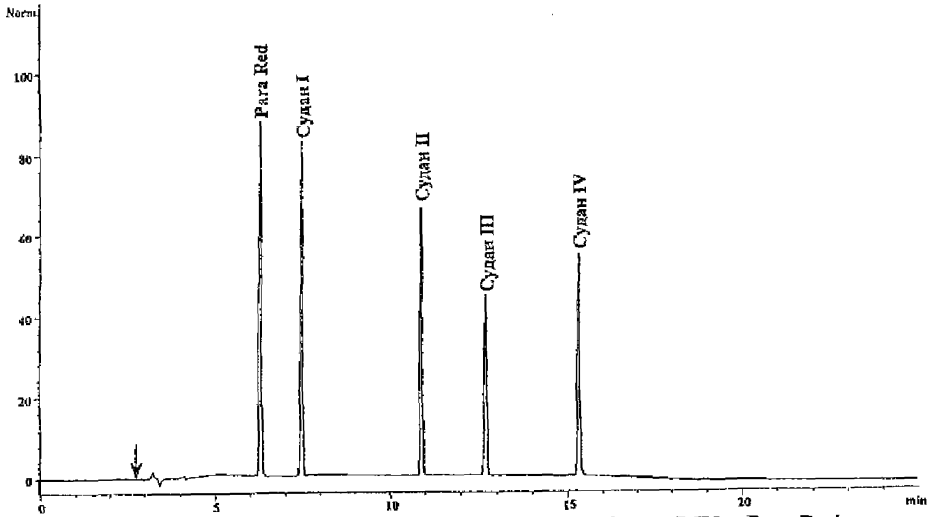

Рис. 2. Пример хроматограммы смеси стандартов Судан I-IV и Para Red

Определение непищевых красителей Судан I, Судан II, Судан III, Судан IV и Para Red в пищевых продуктах и биологически активных добавках к пище

Методические указания
МУК 4.1.2483—09

Технический редактор А. В. Терентьева

Подписано в печать 31.07.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 0,75

Тираж 200 экз.

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru