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

gost.e-ecolog.ru

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.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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. Цилиндры, 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, применяемых 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 технические 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

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 «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 воздуха .....от 20 °С до 25 °С;

относительная влажность воздуха .....от 40 % до 90 %;

напряжение в электросети .....220 от +10 % до -15 % В;

частота тока в электросети .....от 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 ± 0,0001 г и ± 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 pH = 4,5 ± 0,5, зернением от 0,05 до 0,15 мм, удельной поверхностью 155 $м^2/г$ для колоночной хроматографии.

4.7 Макропористый анионит Пьюролайт (Purolite A500P) в Cl-форме, зернением от 0,60 до 0,85 мм, плотностью в Н-форме в набухшем состоянии 1,04 $г/см^3$, полной статической обменной емкостью не менее 0,8 $мг-экв/см^3$.

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

4.9 Шприц медицинский инъекционный вместимостью от 10 до 20 $см^3$.

4.10 Микрошприц типа МШ-1 или Газохром-101 вместимостью 1,0 $мм^3$ (1 мкл) с ценой деления не более 0,02 $мм^3$ (0,02 мкл).

4.11 Пипетки с одной меткой вместимостью 1, 5, 25 $см^3$ 1-го класса точности по ГОСТ 29169.

4.12 Пипетки градуированные вместимостью 1, 5, 10 $см^3$ 1-го класса точности по ГОСТ 29227.

4.13 Стаканы термостойкие вместимостью 50, 200 $см^3$ по ГОСТ 25336.

4.14 Колбы мерные с пришлифованной пробкой вместимостью 10, 25, 50, 100 $см^3$ 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 $см^3$ 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 $см^3$, с ценой наименьшего деления 1 $см^3$, 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 $г/дм^3$; 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 $г/дм^3$.

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 $см^3$ вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 3 $см^3$ пиридина по 4.27, 3 $см^3$ изоамилового спирта по 4.30, 3 $см^3$ изобутилового спирта по 4.31,

4 см^3 этилового ректификованного технического спирта по 4.29 и 4 см^3 водного аммиака по 4.32. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

5.2.1.2 Приготовление элюента 2

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

5.2.1.3 Приготовление элюента 3

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 6 см^3 диэтиламина по 4.34, 5 см^3 хлороформа по 4.33, 6 см^3 этилового ректификованного технического спирта, 3 см^3 раствора водного аммиака и 3 см^3 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 см^3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 6 см^3 бутанола-1 по 4.33, 3 см^3 этилового ректификованного технического спирта, 3 см^3 пиридина и 6 см^3 дистиллированной воды. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

5.2.1.5 Приготовление элюента 5

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят пипеткой 1,4 см^3 водного аммиака, 8,8 см^3 дистиллированной воды и отмеряют цилиндром 40 см^3 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 см^3 отмеряют цилиндром 50 см^3 этилового спирта и 50 см^3 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 см^3 отмеряют цилиндром 50 см^3 ацетона и 25 см^3 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 см^3 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	Е102	0,27	0,49	0,37	–
Желтый хинолиновый	47005	Е104	0,74 0,83	0,65 0,69	0,47 0,65	–
Желтый «солнечный» закат» FCF	15985	Е110	0,39	0,68	0,64	–

Окончание таблицы 1

Наименование стандартного красителя	Номер красителя*	Индекс пищевой добавки**	Значения R_f			
Азорубин	14720	Е122	0,34	0,67	0,54	–
Понсо 4R	16255	Е124	0,24	0,65	0,48	–
Красный очаровательный АС	16035	Е129	0,50	0,67	0,66	–
Синий патентованный V	42051	Е131	0,20	0,63	0,46	–
Синий блестящий FCF	42090	Е133	0,43	0,69	0,59	–
Зеленый S	44090	Е142	0,16	0,54 0,63	0,55	0,76
Зеленый прочный FCF	42053	Е143	0,43	0,37	0,39	–
Синтетические красители, запрещенные в Российской Федерации для производства пищевых продуктов						
Желтый 2G	18965	Е107	0,32	0,65	0,31	–
Амарант	16185	Е123	0,29	0,64	0,43	–
Эритрозин	45430	Е127	0,57	0,76	0,90	–
Красный 2G	18050	Е128	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 см^3 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 пришлифованной пробкой) вместимостью 100 см^3, 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 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 см^3 взвешивают на лабораторных весах с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 100 мг от 5 до 10 г мармелада с записью результата взвешивания до первого десятичного знака. Затем в стакан прибавляют дистиллированную воду из расчета 2 см^3 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 6–8 $см^3$ 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.

Таблица 2 – Сорбенты, используемые для твердофазной экстракции красителей из растворов мармелада

Наименование красителя	Индекс красителя	Вид желирующего вещества	
		Агар	Пектин
		Сорбенты	
Азокрасители			
Тартразин	Е102	Оксид алюминия, Полиамид	Полиамид
Желтый 2G	Е107	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	Пьюролайт, Полиамид
Желтый «солнечный закат» FCF	Е110		
Азорубин	Е122		
Амарант	Е123		
Понсо 4R	Е124		
Красный 2G	Е128		
Красный очаровательный АС	Е129		
Триарилметановые красители			
Синий патентованный V	Е131	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	Пьюролайт, Полиамид
Синий блестящий FCF	Е133		
Зеленый S	Е142	Пьюролайт, Полиамид	
Зеленый прочный FCF	Е143	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	
Хинолиновый краситель			
Желтый хинолиновый	Е104	Пьюролайт, оксид алюминия, Полиамид	Пьюролайт, Полиамид
Ксантеновый краситель			
Эритрозин	Е127	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 $см^3$ 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 $см^3$. При необходимости используют от 1 до 3 патронов, подготовленных по 5.2.7.2. После этого промывают каждый патрон с сорбированным красителем 25 $см^3$ 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 $см^3$ 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 $см^3$ 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 $мм^3$ 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

$$R_f = \frac{l_k}{l_э}, \qquad (2)$$

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

$l_э$ – 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 $мм^3$ раствора КО (или нескольких КО отдельно), приготовленных по 5.2.4.2, и от 0,5 до 3,0 $мм^3$ 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

$$R_f' = \frac{l'_k}{l_э}, \qquad (3)$$

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

$l_э$ – 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 пришлифованной пробкой) вместимостью 500 см^3 пипеткой вносят по 50 см^3 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/дм^3, вычисляют по формуле

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

где $C_{к.о}$ – массовая концентрация основного красящего вещества раствора КО, г/дм^3, приготовленного по 5.2.4;

$V_к$ – объем раствора КО индивидуального красителя по 5.2.4, см^3,

$V_к$ = 50 см^3;

V – объем раствора КО смесевых красителей, см^3,

V = 500 см^3.

6.2.1.2 Приготовление раствора Б

Пипеткой (см. 4.11) отбирают 25 см^3 раствора А, приготовленного по 6.2.1.1, и переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см^3. 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 Б C_{k1}, г/дм^3, 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/дм^3;

2 – коэффициент разведения.

6.2.1.3 Приготовление раствора В

Пипеткой отбирают 25 см^3 раствора Б, приготовленного по 6.2.1.3, и переносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см^3. 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_{k2}, г/дм^3, 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/дм^3;

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 мм^3 растворов реперов (растворы Б и В), приготовленных по 6.2.1, и от 0,5 до 3,0 мм^3 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 смесевого красителя, полученного нанесением на пластину раствора Б, $m_{Б,}$, мкг, вычисляют по формуле

$$m_Б = C_{k1} V_Б, \quad (7)$$

где C_{k1} – массовая концентрация красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе Б по 6.2.1.2, мкг/мм^3;

$V_Б$ – объем раствора Б, нанесенного на пластину ТСХ по 6.2.2, мм^3.

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

$$m_В = C_{k2} V_В, \quad (8)$$

где C_{k2} – массовая концентрация красящего вещества каждого индивидуального красителя в полученном растворе В по 6.2.1.3, мкг/мм^3;

$V_В$ – объем раствора В, нанесенного на пластину ТСХ по 6.2.2, мм^3.

Значения массы каждого красителя в пятне репера (свидетеля) КО смесевого 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:

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

или

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

где $M_{вых}$ – 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, см^3, при V_1, равном от 0,5 до 1,0 см^3;

V_2 – объем анализируемого раствора красителя, нанесенного на пластину ТСХ по 6.2.2, мм^3;

10^{-3} – коэффициент пересчета мм^3 в см^3;

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 $C_{ср}$, %, двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости

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

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

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

r – значение предела повторяемости, приведенное в таблице 2.

Результат анализа представляют в виде:

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

где $C_{ср}$ – 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.

Таблица 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) ± δ, %, 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.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru