МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
31701—
2012**

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Метод определения наличия синтетических красителей в пряностях

Издание официальное

**Москва
Стандартинформ
2014**

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 15 ноября 2012 г. № 42)

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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1690-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31701—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 52825—2007

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

© Стандартинформ, 2014

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Поправка к ГОСТ 31701—2012 Продукты пищевые. Метод определения наличия синтетических красителей в пряностях

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Предисловие. Пункт 3. Таблица согласования	—	Узбекистан | UZ | Узстандарт

(ИУС № 7 2015 г.)

Поправка к ГОСТ 31701—2012 Продукты пищевые. Метод определения наличия синтетических красителей в пряностях

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	Минэкономразвития Республики Армения

(ИУС № 6 2019 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

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Метод определения наличия синтетических красителей в пряностях

Food products.
Method for determination of artificial colours in spices presence

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на сухие пряности и устанавливает хроматографический метод определения наличия и идентификации водо- и жирорастворимых синтетических красителей.

По данному методу предел обнаружения массовой доли водо- и жирорастворимых синтетических красителей в пряностях составляет не менее 0,005 %.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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 лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. 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 5955—75 Реактивы. Бензол. 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 электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 20015—88 Хлороформ. Технические условия

ГОСТ 20288—74 Реактивы. Углерод четыреххлористый. Технические условия

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

ГОСТ 22300—76 Реактивы. Эфиры этиловый и бутиловый уксусной кислоты. Технические условия

ГОСТ 24104—2001* Весы лабораторные. Общие технические требования

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

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008 «Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания».

Издание официальное

ГОСТ 28876—90 (ИСО 948—80) Пряности и приправы. Отбор проб

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

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 «Национальные стандарты» 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 Метод анализа

3.1 Сущность метода

Метод анализа водорастворимых синтетических красителей основан на экстракции дистиллированной водой красителей из анализируемой пряности, предварительной очистке экстракта и сорбции синтетических красителей из очищенного экстракта твердыми сорбентами, десорбции аммиаком, удалении последнего выпариванием и последующей идентификации синтетических красителей хроматографированием в тонком слое сорбента (ТСХ).

Метод анализа жирорастворимых синтетических красителей основан на экстракции этиловым спиртом красителей из анализируемой пряности, предварительно очищенной от водорастворимых веществ, очистке экстракта твердыми сорбентами, удалении растворителя выпариванием и последующей идентификации синтетических красителей хроматографированием в тонком слое сорбента.

Идентификацию водо- и жирорастворимых синтетических красителей проводят методом сравнения значений R_f' (отношение расстояния от центра пятна обнаруженного синтетического красителя до линии старта к расстоянию линии миграции элюента до линии старта) каждого обнаруженного синтетического 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 синтетических красителей (КО).

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

3.2 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 . . . . . $220^{+10\%}_{-15\%}$ 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.

3.3 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

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

3.3.1 Весы лабораторные с пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ±0,1 мг и ±100 мг по ГОСТ 24104.

3.3.2 Патрон для твердофазной экстракции.

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

3.3.4 Камера хроматографическая размером 12 × 12 × 5 см.

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

3.3.6 Микрошприц вместимостью 1,0 $мм^3$ (1 мкл) с ценой деления не более 0,02 $мм^3$ (0,02 мкл).

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

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

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

3.3.10 Колбы мерные с пришлифованной пробкой вместимостью 10, 25, 50 см^3 1-го класса точности по ГОСТ 1770.

3.3.11 Колбы конические термостойкие вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 25336.

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

3.3.13 Стаканчик СВ — 14/8 по ГОСТ 25336.

3.3.14 Чашка выпарная круглодонная вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 25336.

3.3.15 Палочка стеклянная с оплавленным концом.

3.3.16 Термостат или водяная баня.

3.3.17 Электроплитка бытовая по ГОСТ 14919.

3.3.18 Линейка металлическая по ГОСТ 427.

3.3.19 Пинцет медицинский по ГОСТ 21241.

3.3.20 Стандартные синтетические красители с массовой долей красящих веществ не менее 70 % по 3.4.4.1.

3.3.21 Пиридин по ГОСТ 13647, ч. д. а.

3.3.22 Кислота уксусная по ГОСТ 61, х. ч., ледяная, раствор массовой концентрации 10 г/дм^3 готовят по ГОСТ 4517.

3.3.23 Спирт этиловый ректификованный технический высшего сорта по ГОСТ 18300.

3.3.24 Спирт изоамиловый по ГОСТ 5830, ч. д. а.

3.3.25 Спирт изобутиловый по ГОСТ 6016, ч. д. а.

3.3.26 Аммиак водный по ГОСТ 3760, ч. д. а., раствор массовой концентрации 250 г/дм^3.

3.3.27 Алюминия оксид основной pH = 9,2 зернением от 0,10 до 0,15 мм для хроматографии, ч.

3.3.28 Алюминия оксид активированный кислый pH = 4,5, зернением от 0,05 до 0,15 мм, удельной поверхностью 155 м^2/г для колоночной хроматографии.

3.3.29 Диэтиламин технический по ГОСТ 9875.

3.3.30 Хлороформ по ГОСТ 20015.

3.3.31 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

3.3.32 Мешалка магнитная с максимальной скоростью вращения магнитного ротора 1400 об/мин.

3.3.33 Центрифуга лабораторная со скоростью вращения не менее 15000 об/мин.

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

3.3.35 Фильтры бумажные, обеззоленные, «Красная лента».

3.3.36 Центрифужные пробирки с пробками вместимостью 10 см^3.

3.3.37 Цилиндр мерный вместимостью 100 см^3, с ценой наименьшего деления 1 см^3, 1-го класса точности по ГОСТ 1770.

3.3.38 Ацетон по ГОСТ 2603, ч. д. а.

3.3.39 Кислота соляная по ГОСТ 3118, ч. д. а.

3.3.40 Эфир этиловый уксусной кислоты по ГОСТ 22300, ч. д. а.

3.3.41 Углерод четыреххлористый, по ГОСТ 20288, ч. д. а.

3.3.42 Бензол по ГОСТ 5955, ч. д. а.

3.3.43 Петролейный эфир, с температурой кипения от 40 °С до 70 °С, по документу, в соответствии с которым он изготовлен и может быть идентифицирован.

Допускается применение других средств измерений и вспомогательного оборудования, неуступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивы по качеству не хуже вышеуказанных.

3.4 Подготовка к анализу

3.4.1 Приготовление раствора аммиака массовой концентрации 125 г/дм^3

В мерную колбу (с пришлифованной пробкой) вместимостью 10 см^3 по 3.3.10 вносят по 3.3.7 пипеткой 5 см^3 водного аммиака по 3.3.26. Доводят объем раствора аммиака в колбе до метки дистиллированной водой по 3.3.31, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают. Раствор аммиака хранят в плотно закрытой таре при температуре от 15 °С до 25 °С не более 1 мес.

3.4.2 Приготовление соляной кислоты, раствор с массовой долей 2 % в ацетоне

В мерную колбу (с пришлифованной пробкой) вместимостью 50 см^3 вносят от 30 до 35 см^3 ацетона по 3.3.38 и 1 см^3 соляной кислоты по 3.3.39. Доводят объем раствора в колбе до метки ацетоном, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают. Приготовленный раствор хранят в плотно закрытой таре по ГОСТ 2603 (пункт 5.3) при температуре от 15 °С до 25 °С не более 1 мес.

3.4.3 Приготовление элюентов

3.4.3.1 Приготовление элюента 1

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 по 3.3.10 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 3 см^3 пиридина по 3.3.21, 3 см^3 изоамилового спирта по 3.3.24, 3 см^3 изобутилового спирта по 3.3.25, 4 см^3 этилового ректификованного технического спирта по 3.3.23 и 4 см^3 водного аммиака. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

3.4.3.2 Приготовление элюента 2

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 3 см^3 пиридина по 3.3.21, 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.

3.4.3.3 Приготовление элюента 3

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 6 см^3 диэтиламина по 3.3.29, 5 см^3 хлороформа по 3.3.30, 6 см^3 этилового ректификованного технического спирта и 3 см^3 раствора аммиака массовой концентрации 125 г/дм^3, приготовленного по 3.4.1. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

3.4.3.4 Приготовление элюента 4

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 6 см^3 четыреххлористого углерода по 3.3.41, 2, м^3 бензола по 3.3.42, 1 см^3 хлороформа и 0,2 см^3 этилового эфира уксусной кислоты по 3.3.40. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

3.4.3.5 Приготовление элюента 5

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 9 см^3 петролейного эфира по 3.3.43 и 1 см^3 этилового эфира уксусной кислоты.

3.4.3.6 Приготовление элюента 6

В коническую колбу вместимостью 50 см^3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 5 см^3 петролейного эфира и 5 см^3 бензола.

3.4.3.7 Для идентификации водорастворимых синтетических красителей используют элюенты 1, 2 или 3. Для идентификации жирорастворимых синтетических красителей используют элюенты 4, 5 или 6.

3.4.3.8 Элюенты готовят непосредственно перед началом анализа. Не допускается повторное использование элюентов.

3.4.4 Приготовление растворов КО

3.4.4.1 В необходимое число стаканов, вместимостью 50 см^3 каждый, взвешивают на лабораторных весах по 3.3.1 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ±0,1 мг навески стандартных синтетических красителей массой 0,025 г, в соответствии с таблицами 1 и 2.

Таблица 1 — Стандартные водорастворимые синтетические красители и их характеристика

Наименование стандартного синтетического красителя	Индекс красителя*	Индекс пищевой добавки**	Значения R_f ***		
			Элюент 1	Элюент 2	Элюент 3
Тартразин	19140	Е102	0,27	0,49	0,37
Желтый хинолиновый	47005	Е104	0,74 0,83	0,51 0,46	0,47 0,65
Желтый 2G	18965	Е107	0,52	0,65	0,31
Желтый «солнечный закат»	15985	Е110	0,58	0,51	0,64
Азорубин	14720	Е122	0,34	0,49	0,54
Понсо 4R	16255	Е124	0,43	0,42	0,27
Красный 2G	18050	Е128	0,49	0,51	0,48
Красный очаровательный АС	16035	Е129	0,50	0,67	0,66
Синий патентованный V	42051	Е131	0,20	0,43	0,46
Синий блестящий FCF	42090	Е133	0,43	0,46	0,59
Зеленый S	44090	Е142	0,16	0,54	0,55

Окончание таблицы 1

Наименование стандартного синтетического красителя	Индекс красителя*	Индекс пищевой добавки**	Значения R_f ***		
			Элюент 1	Элюент 2	Элюент 3
Зеленый прочный FSF	42053	Е143	0,43	0,37	0,39
Черный блестящий PN	28440	Е151	0,25	0,62	0,40
Хризоин S (Тропеолин 0)	14270	Е103	0,61	0,54	0,58
Амарант	16185	Е123	0,29	0,41	0,43
Оранжевый II (Тропеолин 000-1)	15510	—	0,75	0,76	0,79
Эритрозин	45430	Е127	0,70; 0,62	0,63; 0,60	0,84; 0,34

* Индекс красителя в соответствии с Международной классификацией.
** Индекс красителя в соответствии с Европейской цифровой системой кодификации пищевых добавок.
*** R_f получены при условиях проведения анализа стандартных синтетических красителей по 3.2 с использованием средств измерений, вспомогательного оборудования, реактивов и материалов, указанных в 3.3.

Таблица 2 — Стандартные жирорастворимые синтетические красители и их характеристика

Наименование стандартного синтетического красителя	Индекс красителя	Индекс пищевой добавки	Значения R_f		
			Элюент 4	Элюент 5	Элюент 6
Судан I	12055	—	0,58	0,59	0,41
Судан II	12140	—	0,56	0,61	0,37
Судан III	26100	—	0,51	0,46	0,29
Судан IV	26105	—	0,53	0,51	0,34
Судан G	11920	—	0,65	0,72	0,40
Цитрусовый красный	12156	Е121	0,31	0,23	0,12

3.4.4.2 В каждый стакан с навеской стандартного водорастворимого синтетического красителя, подготовленного по 3.4.4.1, прибавляют 5 см^3 дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой по 3.3.15 до полного растворения. Для интенсификации растворения допускается нагревание раствора в стакане на водяной бане по 3.3.16 до температуры не более 90 °С. Затем раствор охлаждают до 20 °С, переносят количественно 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.

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

3.4.4.3 В каждый стакан с навеской стандартного жирорастворимого синтетического красителя, подготовленного по 3.4.4.1, прибавляют 5 см^3 раствора, приготовленного по 3.4.2, и перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения. Затем раствор переносят количественно в мерную колбу (с пришлифованной пробкой) вместимостью 25 см^3, доводят объем раствора в колбе до метки раствором по 3.4.2, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Приготовленный раствор КО хранят в склянке из темного стекла с притертой пробкой при комнатной температуре не более 1 мес.

Растворы, приготовленные по 3.4.4.2 и 3.4.4.3, используют для получения хроматографических карт.

3.4.5 Отбор проб

Отбор проб пряностей — по ГОСТ 28876.

3.4.6 Извлечение водорастворимых синтетических красителей из анализируемой пряности методом твердофазной экстракции

3.4.6.1 Приготовление водного экстракта пряности

В стакане вместимостью 200 см^3 по 3.3.9 взвешивают на лабораторных весах с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ±100 мг от 5 до 10 г анализируемой пряности. Затем в стакан мерным цилиндром по 3.3.37 прибавляют дистиллированную воду из расчета не менее 12 см^3 на 1 г пряности и перемешивают стеклянной палочкой. Затем содержимое стакана перемешивают на магнитной мешалке по 3.3.32 в течение 30 мин. В целях предотвращения образования устойчивых эмульсий следует избегать интенсивного перемешивания.

Полученную смесь переносят в центрифужные пробирки по 3.3.36, закрывают пробками, центрифугируют со скоростью не менее 4500 об/мин в течение 15 мин на центрифуге по 3.3.33. После окончания центрифугирования декантируют экстракт в коническую колбу по 3.3.11 вместимостью 250 см^3. В центрифужные пробирки прибавляют дистиллированную воду из расчета 5 см^3 на 1 г пряности, перемешивают стеклянной палочкой, закрывают пробками и центрифугируют со скоростью не менее 4500 об/мин в течение 15 мин. После окончания центрифугирования декантируют промывной раствор в коническую колбу с экстрактом. Для полного удаления взвешенных частиц водный экстракт пряности необходимо профильтровать через бумажный фильтр по 3.3.35, помещенный в стеклянную воронку по 3.3.34. Срок хранения водного экстракта пряности в колбе с притертой пробкой при температуре от 4 °С до 6 °С не более суток. Оставшийся после центрифугирования осадок пряности сохраняют для извлечения жирорастворимых синтетических красителей.

3.4.6.2 Подготовка патрона для предварительной очистки водного экстракта пряности от примесей

Медицинским шприцем по 3.3.5 набирают от 10 до 20 см^3 дистиллированной воды, соединяют шприц с патроном для твердофазной экстракции по 3.3.2, заполненным оксидом алюминия по 3.3.27. Патрон промывают со скоростью от 20 до 30 капель дистиллированной воды в минуту. Объем пропускаемой через патрон дистиллированной воды должен быть не менее 25 см^3. Затем патрон отсоединяют от шприца.

3.4.6.3 Предварительная очистка водного экстракта пряности от примесей

Мерным цилиндром отмеряют 40 см^3 водного экстракта, полученного по 3.4.6.1, и наливают в стаканчик вместимостью 50 см^3. Медицинским шприцем набирают 10 см^3 водного экстракта пряности и соединяют шприц с патроном, подготовленным по 3.4.6.2. Необходимо использовать для каждых 10 см^3 водного экстракта пряности один патрон. Пропускают водный экстракт пряности через патрон по одной капле со скоростью от 20 до 30 капель в минуту. После этого промывают каждый патрон 3 см^3 дистиллированной воды по одной капле со скоростью от 20 до 30 капель в минуту. Собирают очищенный водный экстракт пряности и промывной раствор, прошедшие через патроны, в колбу вместимостью 250 см^3.

3.4.6.4 Подготовка патрона для твердофазной экстракции синтетических красителей

Медицинским шприцем набирают от 10 до 20 см^3 раствора ледяной уксусной кислоты массовой концентрации 10 г/дм^3 по 3.3.22, соединяют шприц с патроном для твердофазной экстракции, заполненным оксидом алюминия по 3.3.28. Патрон промывают со скоростью от 10 до 20 капель раствором ледяной уксусной кислоты массовой концентрации 10 г/дм^3 в минуту. Объем пропускаемого через патрон раствора ледяной уксусной кислоты массовой концентрации 10 г/дм^3 должен быть не менее 25 см^3. Затем патрон отсоединяют от шприца.

3.4.6.5 Сорбция синтетических красителей из очищенного водного экстракта пряности

В очищенный водный экстракт пряности, полученный по 3.4.6.3, вносят пипеткой по 3.3.8 0,5 см^3 ледяной уксусной кислоты по 3.3.22 и перемешивают стеклянной палочкой. В случае помутнения водного экстракта пряности его необходимо центрифугировать со скоростью не менее 7500 об/мин в течение 15 мин. Медицинским шприцем набирают по 10 см^3 водного экстракта пряности и соединяют шприц с патроном, подготовленным по 3.4.6.4. Пропускают водный экстракт пряности через патрон по одной капле со скоростью от 10 до 20 капель в минуту. По достижении уровня окрашенного слоя основания патрона водный экстракт пряности пропускают через второй патрон. При необходимости используют от одного до пяти патронов, подготовленных по 3.4.6.4. После этого промывают каждый патрон с сорбированным синтетическим красителем 25 см^3 раствора ледяной уксусной кислоты массовой концентрации 10 г/дм^3 и затем 3 см^3 дистиллированной воды по одной капле со скоростью от 10 до 20 капель в минуту.

3.4.6.6 Десорбция синтетических красителей из патронов водным аммиаком

Медицинским шприцем набирают 10 см^3 водного аммиака по 3.3.26 и соединяют шприц с патроном по 3.4.6.5. Пропускают водный аммиак через патрон по одной капле со скоростью от 10 до 20 капель в

минуту. Элюат (раствор водного аммиака, пропущенный через патрон) собирают в выпарную чашку по 3.3.14 и выпаривают досуха на водяной бане с температурой от 80 °С до 90 °С. Сразу после испарения раствора аммиака чашку с сухим остатком охлаждают. Сухой остаток растворяют в чашке, добавляя пипеткой от 0,5 до 1,0 см^3 дистиллированной воды.

3.4.7 Извлечение жирорастворимых синтетических красителей из анализируемой пряности

3.4.7.1 Приготовление спиртового экстракта пряности

Осадок анализируемой пряности, полученный по 3.4.6.1, количественно переносят из центрифужных пробирок в стакан вместимостью 200 см^3, порциями приливая этиловый спирт из расчета 10 см^3 на 1 г пряности. Затем содержимое стакана перемешивают на магнитной мешалке в течение 120 мин. В целях предотвращения образования устойчивых эмульсий следует избегать интенсивного перемешивания. Полученную смесь переносят в центрифужные пробирки, закрывают пробками, центрифугируют со скоростью не менее 6500 об/мин в течение 15 мин. После окончания центрифугирования декантируют раствор в коническую колбу вместимостью 250 см^3. В центрифужные пробирки наливают этиловый спирт из расчета 5 см^3 на 1 г пряности, перемешивают стеклянной палочкой, закрывают пробками и центрифугируют со скоростью не менее 6500 об/мин в течение 15 мин. После окончания центрифугирования декантируют промывной раствор в колбу со спиртовым экстрактом пряности.

3.4.7.2 Очистка спиртового экстракта пряности

В стакане вместимостью 200 см^3 взвешивают на лабораторных весах с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ±100 мг 4 г оксида алюминия по 3.3.27. Цилиндром отмеряют 40 см^3 спиртового экстракта пряности, полученного по 3.4.7.1, наливают в стаканчик с оксидом алюминия и перемешивают стеклянной палочкой. Содержимое стакана перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин. В целях предотвращения образования устойчивых эмульсий следует избегать интенсивного перемешивания.

Полученную смесь наливают в центрифужные пробирки, закрывают пробками, центрифугируют со скоростью не менее 4500 об/мин в течение 15 мин. После окончания центрифугирования декантируют спиртовой экстракт пряности в коническую колбу вместимостью 250 см^3. В центрифужные пробирки наливают этиловый спирт из расчета 2,5 см^3 на 1 г оксида алюминия, перемешивают стеклянной палочкой, закрывают пробками и центрифугируют со скоростью не менее 4500 об/мин в течение 15 мин. После окончания центрифугирования декантируют раствор в коническую колбу с очищенным спиртовым экстрактом пряности. Для полного удаления взвешенных частиц спиртовой экстракт пряности необходимо профильтровать через бумажный фильтр, помещенный в стеклянную воронку. Срок хранения спиртового экстракта пряности в колбе с притертой крышкой при температуре от 4 °С до 6 °С не более 48 ч.

3.4.7.3 Спиртовой экстракт, полученный по 3.4.7.2, наливают в выпарную чашку и выпаривают досуха на водяной бане с температурой от 80 °С до 90 °С. Сразу после испарения раствора этилового спирта чашку с сухим остатком охлаждают. Сухой остаток растворяют в чашке, добавляя пипеткой от 0,5 до 1,0 см^3 раствора, приготовленного по 3.4.2. Количественно переносят раствор в стаканчик по 3.3.13 и закрывают крышкой.

3.4.8 Подготовка хроматографической камеры

В хроматографическую камеру по 3.3.4 вносят элюент 1, приготовленный по 3.4.3.1, 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.

3.4.9 Подготовка пластин для ТСХ анализа

На хроматографическую пластину по 3.3.3 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.

3.5 Проведение анализа

3.5.1 Получение и обработка хроматографических карт КО

На пластину, подготовленную по 3.4.9, микрошприцем по 3.3.6 наносят на линию старта в несколько приемов с промежуточным подсушиванием на воздухе 0,5 мм^3 каждого раствора КО, полученного по 3.4.4.2. После нанесения раствора пластину подсушивают в течение от 3 до 4 мин и затем пинцетом помещают в хроматографическую камеру, подготовленную по 3.4.8, под углом примерно 45°. Камеру плотно закрывают. Элюирование заканчивают при достижении элюентом 1 линии границы элюента. По окончании элюирования пластину вынимают пинцетом по 3.3.19 и подсушивают.

Аналогично получают хроматографические карты с использованием элюентов 2 и 3.

Аналогично получают хроматографические карты для КО, полученных по 3.4.4.3, с использованием элюентов 4, 5 и 6.

Линейкой по 3.3.20 измеряют расстояние от центра каждого пятна стандартного синтетического красителя и линии миграции элюента до линии старта.

Значение R_f стандартного синтетического красителя вычисляют по формуле

$$R_f = \frac{l_к}{l_э}, \quad (1)$$

где $l_к$ — расстояние от центра пятна стандартного синтетического красителя до линии старта, см;

$l_э$ — расстояние от линии миграции элюента до линии старта, см.

3.5.2 Обнаружение водорастворимых синтетических красителей

На хроматографическую пластину, подготовленную по 3.4.9, шириной 10 см 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 3.4.4.2, и от 0,5 до 3,0 мм^3 раствора, полученного по 3.4.6.6. После нанесения растворов пластину подсушивают в течение от 3 до 4 мин и затем пинцетом помещают в хроматографическую камеру, подготовленную по 3.4.8, 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 и подсушивают.

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

Если на полученных хроматограммах присутствует хотя бы одно окрашенное пятно выше линии старта, делают заключение о наличии водорастворимого синтетического красителя в анализируемой пряности.

Значение R_f' обнаруженного водорастворимого синтетического красителя рассчитывают по 3.5.4.

3.5.3 Обнаружение жирорастворимых синтетических красителей

На хроматографическую пластину, подготовленную по 3.4.9, шириной 10 см 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 3.4.4.3, и от 1,0 до 3,0 мм^3 раствора, полученного по 3.4.7.3. Процесс хроматографирования жирорастворимых синтетических красителей проводят по 3.5.1 с использованием элюента 4 вместо элюента 1.

При отсутствии разделения пятен синтетических красителей на хроматограмме анализ повторяют, используя элюент 5 или 6.

Если на полученных хроматограммах присутствует хотя бы одно окрашенное пятно выше линии старта, делают заключение о наличии жирорастворимого синтетического красителя в анализируемой пряности.

Значение R_f' обнаруженного жирорастворимого синтетического красителя рассчитывают по 3.5.4.

3.5.4 Обработка хроматографических карт с обнаруженными синтетическими красителями

Линейкой по 3.3.20 измеряют расстояние от центра каждого пятна обнаруженного синтетического красителя и линии миграции элюента до линии старта.

Значение R_f' обнаруженного синтетического красителя вычисляют по формуле

$$R_f' = \frac{l_а}{l_э}, \quad (2)$$

где $l_а$ — расстояние от центра пятна обнаруженного синтетического красителя до линии старта, см;

$l_э$ — расстояние от линии миграции элюента до линии старта, см.

3.5.5 Идентификация водо- и жирорастворимых синтетических красителей

Визуально сравнивают цвет и положение пятен обнаруженных водо- и жирорастворимых синтетических красителей на пластинах по 3.5.2 и 3.5.3 с хроматографическими картами, полученными по 3.5.1.

При совпадении цвета и положения хотя бы одного из пятен обнаруженных красителей с одним из пятен КО идентифицируют обнаруженные водо- и жирорастворимые синтетические красители, сравнивая значения R_f', рассчитанные по 3.5.4, со значениями R_f КО, приведенными в таблицах 1 и 2.

УДК 663/664:667.28:006.354 МКС 67.220.10 Н09

Ключевые слова: пищевые продукты, пряности, водо- и жирорастворимые синтетические красители, обнаружение и идентификация синтетических красителей, метод тонкослойной хроматографии

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 17.09.2014. Подписано в печать 14.10.2014. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,40.
Уч.-изд. л. 1,00. Тираж 70 экз. Зак. 4269.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru