|  |
| --- |
| **ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ****(ЕАСС)****EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION****(EASC)** |
|  | **МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ****СТАНДАРТ** | **ГОСТ***(проект, RU,**первая редакция)* |

**ДОБАВКИ ПИЩЕВЫЕ**

**Методы определения красителя рибофлавина Е101**

Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его принятия

**Минск**

**Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации**

**202\_**

**Предисловие**

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены [ГОСТ 1.0](http://docs.cntd.ru/document/1200128307) «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и [ГОСТ 1.2](http://docs.cntd.ru/document/1200128308) «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены».

**Сведения о стандарте**

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом пищевых добавок – филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем имени В.М. Горбатова» РАН (ВНИИПД – Филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от № )

За принятие проголосовали:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Краткое наименование страны по МК(ИСО 3166) 004–97 | Код страны по МК(ИСО 3166) 004–97 | Сокращенное наименованиеНационального органа по стандартизации |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация* *о* *введении* *в* *действие* *(прекращении* *действия)* *настоящего* *стандарта* *и* *изменений* *к* *нему* *на* *территории* *указанных* *выше* *государств* *публикуется* *в* *указателях* *национальных* *стандартов,* *издаваемых* *в* *этих* *государствах,* *а* *также* *в* *сети* *Интернет* *на* *сайтах* *соответствующих* *национальных* *органов* *по* *стандартизации.*

*В* *случае* *пересмотра,* *изменения* *или* *отмены* *настоящего* *стандарта* *соответствующая* *информация* *будет* *опубликована* *на* *официальном* *интернет-сайте* *Межгосударственного* *совета* *по* *стандартизации,* *метрологии* *и* *сертификации* *в* *каталоге* *«Межгосударственные* *стандарты*».

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным органам по стандартизации этих государств

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

|  |
| --- |
| **ДОБАВКИ ПИЩЕВЫЕ****Методы определения красителя рибофлавины Е101**Food additives. Methods for determination for colour Riboflavins Е101 |

 **Дата введения –**

**1 Область применения**

Настоящий стандарт распространяется на пищевую добавку Рибофлавины (Riboflavins) Е101, (далее – краситель), представляющую собой пищевые красители: Рибофлавин (Riboflavin) Е101 (i), Натриевую соль рибофлавин 5-фосфат (Riboflavin 5-phosphate sodium) Е101 (ii) и Рибофлавин из *Bacillus subtilis* (Riboflavin from *Bacillus subtilis*) Е101 (iii), содержащие в своем составе рибофлавин (лактофлавин) и/или натриевую соль фосфорного эфира рибофлавина, и устанавливает:

- идентификационные тесты на основное красящее вещество красителя;

- спектрофотометрический метод измерения массовой доли основного красящего вещества красителя.

**2 Нормативные ссылки**

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.0.004 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

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

ГОСТ 12.1.005  Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

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

ГОСТ 12.2.007.0  Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009  Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021  Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 12.4.103  Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная защитная, средства индивидуальной защиты ног и рук

ГОСТ 61 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

# ГОСТ 199 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

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

ГОСТ 3118  Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4517–2016  Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе

ГОСТ 6709  Вода дистиллированная. Технические условия\*

ГОСТ 18995.3-73 Продукты химические органические. Метод определения величины удельного вращения

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

ГОСТ 29227  Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

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

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 58144–2018 «Вода дистиллированная. Технические условия».

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

ГОСТ ISO/IEC 17025  Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

П  р  и  м  е  ч  а  н  и  е – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (www.easc.by) или по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

**3 Отбор проб**

3.1 Для составления суммарной пробы красителя из каждой упаковочной единицы партии красителя отбирают мгновенные пробы.

Партией считают количество красителя, произведенное одним изготовителем по одному нормативному документу за один технологический цикл, в одинаковой упаковке, сопровождаемое товаросопроводительной документацией, обеспечивающей прослеживаемость продукции.

3.2 Выборку упаковочных единиц из партии осуществляют методом случайного отбора в соответствии с таблицей 1.

3.3 Мгновенные пробы отбирают из разных мест каждой упаковочной единицы, попавшей в выборку.

Масса мгновенной пробы должна быть не более 10 г.

Масса мгновенной пробы и число мгновенных проб из каждой упаковочной единицы, попавшей в выборку, должны быть одинаковыми.

Таблица  1

|  |  |
| --- | --- |
| Количество упаковочных единиц в партии, шт. | Объем выборки, шт. |
| От 2 до 15 включ. | 2 |
| » 16 » 25 » | 3 |
| » 26 » 90 » | 5 |
| » 91 » 150 » | 8 |
| » 151 » 500 »  | 13 |
| » 501 » 1200 | 20 |

 Мгновенные пробы отбирают с помощью пробоотборника (шупа или металлической трубки), и погружая его в краситель не менее, чем на 3/4 глубины.

3.4 Составляют суммарную пробу, для этого мгновенные пробы, отобранные по 3.2 помещают в сухую чистую емкость из стекла или полимерных материалов и тщательно перемешивают.

Рекомендуемая масса суммарной пробы должна быть не менее 50 г.

3.5 Подготовленную суммарную пробу делят на две равные части, которые помещают в чистые, сухие, плотно закрывающиеся стеклянные или полимерные емкости.

Емкость с первой частью суммарной пробы направляют в лабораторию для проведения анализов.

Емкость со второй частью пробы опечатывают, пломбируют и хранят для повторного контроля в случае возникновения разногласий в оценке качества и безопасности красителя. Срок хранения пробы в темном месте при температуре от 5°С до 8°С и относительной влажности не более 60 % – до окончания срока годности красителя.

3.6 Емкости с пробами снабжают этикетками, на которых должны быть указаны:

- полное наименование красителя и его Е-номер;

- наименование и местонахождение изготовителя;

- номер партии;

- масса нетто партии;

- количество упаковочных единиц в партии;

- дата изготовления;

- дата отбора проб;

- срок хранения пробы;

- фамилии лиц, проводивших отбор данной пробы.

**4 Требования безопасности**

4.1 При выполнении анализов необходимо соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007 и ГОСТ 12.4.103.

4.2 Помещение, в котором проводят анализы, должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021.

4.3 Электробезопасность при работе с электроустановками – по ГОСТ 12.2.007.0 и по ГОСТ 12.1.019.

4.4 Организация обучения работающих требованиям безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

4.5 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

4.6 Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

**5 Условия проведения анализа**

 При подготовке и проведении измерений должны быть соблюдены следующие условия:

 - температура окружающего воздуха …………..………от 18°С до 25°С;

 - относительная влажность воздуха ………….…………от 30 % до 95 % ;

 - напряжение в электросети ………………………….…. В;

 - частота тока в электросети ………………………….….от 49 до 51 Гц .

 Все операции с реактивами следует проводить в вытяжном шкафу.

**6 Требования к квалификации оператора**

К выполнению и обработке результатов анализа допускают специалиста, имеющего высшее или среднее специальное химическое образование и опыт работы в химической лаборатории, владеющего техникой выполнения анализов с применением методов спектрофотометрии, освоившего настоящую методику, прошедшего обучение работе c приборами и инструктаж по технике безопасности.

**7 Средства измерений, вспомогательное оборудование и устройства, посуда, реактивы**

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 специального (I) класса точности с пределами абсолютной допускаемой погрешности в эксплуатации ± 0,001 г.

 Весы утвержденного типа, поверенные в установленном порядке, с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,02 мг.

Спектрофотометр с диапазоном измерения в интервале длин волн от
350 до 700 нм, допустимой абсолютной погрешностью коэффициента пропускания не более ± 1 %, укомплектованный компьютером, принтером и соответствующим аттестованным программным обеспечением.

Шкаф сушильный, обеспечивающий поддержание заданного режима температуры от 20 °С до 100 °С с погрешностью ± 2 °С.

Эксикатор по ГОСТ 25336.

Кюветы кварцевые толщиной поглощающего слоя 1 см.

Пипетки градуированные 2-1-2-5, 2-1-2-10 и 2-1-2-25 по ГОСТ 29227.

Колбы мерная из темного стекла 2-200-1, 2-500-1 со шлифом и пришлифованной пробкой, 1 класса точности.

Цилиндры 1–100–1 с ценой наименьшего деления 1 см3 по ГОСТ 1770.

Стаканы любого типа исполнения вместимостью 100, 200 см3 по ГОСТ  25336.

Колбы плоскодонные любого типа исполнения вместимостью 50 см3.

 Пробки из пластмассы или стеклянные с конусами 12/21, 14/23 по ГОСТ 1770.

Палочка стеклянная.

Стаканчики для взвешивания СВ-19/9 (24/10) или СН-34/12 по ГОСТ 25336.

 Поляриметр, измеряющий величину угла вращения с точностью ± 0,02 º.

Рибофлавин (Riboflavin) Е101 (i) с содержанием основного красящего вещества не менее 98 % в сухом веществе.

Натриевая соль рибофлавина 5-фосфат (Riboflavin 5-phosphate sodium) Е101 (ii), с содержанием основного красящего вещества не менее 95 % в пересчете на C17H20N4NaO9P·2H2O.

Рибофлавин из *Bacillus subtilis* (Riboflavin from *Bacillus subtilis*) Е101 (iii) с содержанием основного красящего вещества не менее 98 % в сухом веществе.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч.

 Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199, ч.д.а.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, х. ч. ледяная.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х.ч.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательных оборудования и устройств, посуды и материалов, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивы по качеству не ниже вышеуказанных.

Все поверяемое оборудование должно быть поверено в установленном порядке.

**8 Идентификационные тесты с соляной кислотой и гидроокисью натрия**

**8.1 Подготовка к анализу**

**8.1.1 Приготовление раствора соляной кислоты массовой долей 10 %**

Раствор соляной кислоты массовой долей 10 % готовят по ГОСТ 4517–2016 (подпункт 4.89).

Раствор хранят в плотно закрытой емкости в условиях по 5 – не более 6 мес.

**8.1.1 Приготовление раствора гидроокиси натрия массовой долей 10 %**

Раствор гидроокиси натрия массовой долей 10 % готовят по ГОСТ 4517–2016 (подпункт 4.106).

Раствор хранят в плотно закрытой полимерной емкости в условиях по 5 – не более 6 мес.

**8.2. Проведение анализа**

В стакане вместимостью 200 см3 взвешивают от 1,00 г красителя Рибофлавин Е100 (i) или Рибофлавин Е100 (iii). Отмеряют цилиндром 100 см3 дистиллированной воды, добавляют ее в стакан и перемешивают содержимое стакана стеклянной палочкой до полного растворения красителя. Раствор должен иметь зелено-желтый цвет с интенсивной зеленой флюоресценцией в отраженном или ультрафиолетовом свете.

Приготовленный раствор красителя делят на две равные части, помещая каждую в стакан вместимостью 100 см3.Затем к одной части приготовленного раствора красителя пипеткой добавляют по каплям раствор соляной кислоты, приготовленный по 8.1.1 и тщательно перемешивают.

Ко второй части приготовленного раствора красителя пипеткой добавляют по каплям раствор гидроокиси натрия, приготовленный по 8.1.2.

В обоих стаканах после добавления к анализируемым растворам раствора соляной кислоты и раствора гидроокиси натрия зеленая флюоресценция исчезает.

При невыполнении этого условия делают заключение о том, что анализируемый образец не соответствует требованиям, установленным для пищевой добавки красителя Рибофлавины.

Для красителя Рибофлавин Е100 (ii) тест не проводится.

**9 Поляриметрический тест**

**9.1 Сущность метода**

Метод основан на измерении удельного оптического вращение [α] при температуре (20,0 ± 0,5)ºС и длине волны 589,3 нм, характеризующем способность рибофлавина вращать плоскость поляризации при прохождении через него поляризованного света.

**9.2 Подготовка к проведению анализа**

**9.2.1 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 0,05 моль/дм3 (0,05 М)**

Готовят раствор гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 2 моль/дм3 (2 М) по ГОСТ 4517– 2016 (подпункт 4.107).

Раствор хранят в плотно закрытой полимерной емкости в условиях по 5 – не более 6 мес.

Отбирают пипеткой 3 см3 приготовленного раствора, дозируют его в колбу вместимостью 50 см3. Затем прибавляют 12 см3 дистиллированной воды и перемешивают полученный раствор.

**9.2.2 Приготовление раствора соляной кислоты массовой долей 20 %**

Раствор соляной кислоты массовой долей 20 % готовят по ГОСТ 4517–2016 (подпункт 4.89).

Раствор хранят в плотно закрытой емкости в условиях по 5 – не более 6 мес.

**9.2.3 Приготовление раствора красителя**

9.2.3.1 В стаканчик для взвешивания вносят 0,0500 г красителя Рибофлавин Е100 (i) или Рибофлавин Е100 (iii), затем стаканчик с образцом вместе с крышкой помещают в сушильный шкаф, нагретый до температуры 100 °С, и выдерживают при этой температуре в течение 4 ч. Затем стаканчик закрывают крышкой, помещают в эксикатор и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

В стаканчик с высушенным образцом вносят пипеткой 10 см3 раствора, полученного по 9.2.1. и перемешивают до полного растворения образца.

9.2.3.2 В стаканчик для взвешивания вносят 0,1500 г красителя Рибофлавин Е100 (ii), затем стаканчик с образцом вместе с крышкой помещают в сушильный шкаф, нагретый до температуры 100 °С, и выдерживают при этой температуре в течение 4 ч. Затем стаканчик закрывают крышкой, помещают в эксикатор и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

В стаканчик с высушенным образцом вносят пипеткой 10 см3 раствора, полученного по 9.2.2. и перемешивают до полного растворения образца.

**9.2.2 Проведение анализа**

Измеряют удельное оптическое вращение на поляриметре по ГОСТ 18995.3-73 в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора, не позднее чем через 30 мин с момента приготовления раствора образца.

Значения удельного оптического вращения растворов красителя должны находиться в пределах, указанных в таблице 1.

При невыполнении указанных условий делают заключение о том, что анализируемый краситель не соответствует требованиям, установленным для пищевой добавки красителя Рибофлавины.

Таблица 1

|  |  |
| --- | --- |
| Показатель | Краситель |
| Е100 (i) | Е100 (ii) | Е100 (iii) |
| Значение удельного оптического вращения  | от – 115º до – 140º | от + 38º до + 42º | от – 120º до – 135º |

**10 Спектрофотометрический метод качественного определения (идентификации) основного красящего вещества красителя**

**10.1 Сущность метода**

Метод основан на определении положения максимумов светопоглощения и соответствующих им значений оптических плотностей, полученных при измерении спектра раствора красителя, спектрофотометрическим методом.

Анализ должен проводится в защищенном от света месте.

**10.2 Подготовка к анализу**

**10.2.1 Приготовление раствора натрия уксуснокислого массовой долей 1,4 %**

В стакане вместимостью 100 см3 взвешивают 1,4 г натрия уксуснокислого, затем прибавляют 98,6 г дистиллированной воды и перемешивают содержимое стаканчика стеклянной палочкой до полного растворения.

Срок хранения раствора в закрытой емкости в условиях по 5 - не более 6 месяцев.

**10.2.2 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 0,05 моль/дм3 (0,05 М)**

Готовят раствор гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 2 моль/дм3 (2 М) по ГОСТ 4517– 2016 (подпункт 4.107).

**10.2.3 Приготовление растворов красителя Рибофлавин Е100 (i) и Рибофлавин Е100 (iii)**

10.2.3.1 В мерной колбе из темного стекла, вместимостью 500 см3 взвешивают пробу красителя Рибофлавин Е100 (i) или Рибофлавин Е100 (iii) в соответствии с таблицей 2. Пипеткой дозируют в колбу 5 см3 дистиллированной воды и суспендируют краситель в воде, добиваясь полного смачивания пробы красителя.

Прибавляют к полученной суспензии пипеткой 5 см3 раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 2 моль/дм3 (2 М), приготовленного по 10.2.2 и перемешивают до полного растворения красителя.

Отмеряют цилиндром 100 см3 дистиллированной воды и переносят в колбу с раствором красителя.

Затем пипеткой прибавляют 2,5 см3 ледяной уксусной кислоты, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

10.2.3.2 Пипеткой отмеряют 20 см3 полученного по 10.2.3.1 раствора и переносят его в мерную колбу из темного стекла, вместимостью 200 см3.

Затем прибавляют пипеткой 3,5 см3 раствора ацетата натрия, приготовленного по 10.2.1 и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

**10.2.4 Приготовление растворов красителя Рибофлавин Е100 (ii)**

10.2.4.1 В мерной колбе из темного стекла, вместимостью 500 см3 взвешивают пробу красителя Рибофлавин Е100 (ii) в соответствии с таблицей 2.

Затем пипеткой прибавляют 2,5 см3  ледяной уксусной кислоты, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

10.2.4.2 Пипеткой отмеряют 20 см3 полученного раствора и переносят его в мерную колбу из темного стекла, вместимостью 200 см3.

Затем прибавляют пипеткой 3,5 см3 раствора ацетата натрия, приготовленного по 10.2.1 и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

**10.3 Проведение анализа**

Раствор анализируемого красителя, приготовленный по 10.2.3.2 или по 10.2.4.2, дозируют пипеткой в кювету и регистрируют спектр поглощения относительно оптической плотности дистиллированной воды в диапазоне длин волн от 200 до 700 нм в соответствии с инструкцией по эксплуатации спектрофотометра.

Измерение оптической плотности должно проводиться в свежеприготовленном растворе, так как интенсивность цвета раствора зависит от времени его хранения.

При выполнении условий, указанных в таблицах 1 и 2, идентифицируют анализируемый краситель как пищевой краситель Рибофлавины Е100: Рибофлавин (Riboflavin) Е101 (i) или Натриевую соль рибофлавин 5-фосфат (Riboflavin 5-phosphate sodium) Е101 (ii), или (Riboflavin from *Bacillus subtilis*) Е101 (iii).

Таблица 2

|  |  |
| --- | --- |
| Показатель | Краситель |
| Е100 (i) | Е100 (ii) | Е100 (iii) |
| Масса пробы, г | 0,065 | 0,100 | 0,065 |
| Значение отношения оптической плотности при длине волны 375 нм к оптической плотности при длине волны 267 нм | 0,31 ÷ 0,33 | 0,30 ÷ 0,34 | 0,31 ÷ 0,33 |
| Значение отношения оптической плотности при длине волны 444 нм к оптической плотности при длине волны 267 нм | 0,36 ÷ 0,39 | 0,35 ÷ 0,40 | 0,36 ÷ 0,39 |

**11 Спектрофотометрический метод определения массовой доли основного красящего вещества красителя**

**11.1 Сущность метода**

Метод основан на определении массовой доли основного красящего вещества красителя по измерению интенсивности окраски его раствора спектрофотометрическим методом при длине волны соответствующей характеристическому максимуму светопоглощения.

**11.2 Подготовка к измерению – по 10.2**

**11.3 Проведение измерения**

Кювету спектрофотометра заполняют приготовленным по 10.2.3.2 или по 10.2.4.2 раствором анализируемого красителя и измеряют оптическую плотность при длине волны 444 нм, относительно оптической плотности дистиллированной воды в соответствии с инструкцией по эксплуатации спектрофотометра.

Измерение оптической плотности должно проводиться в свежеприготовленном растворе, так как интенсивность цвета зависит от времени его хранения.

**12 Обработка результатов измерений**

**12.1 Вычисление массовой доли основного красящего вещества в пробе**

Массовую долю основного красящего вещества в анализируемом красителе , %, рассчитывают по формуле

|  |  |
| --- | --- |
|  | (1) |

где *А*– оптическая плотность раствора анализируемого красителя по 10.2, измеренная по 11.3, ед. опт. пл.;

*M*– масса раствора анализируемого красителя, рассчитанная по формуле

|  |  |
| --- | --- |
| *M = V·ρ ,* | (2) |

где *V*– объем раствора анализируемого красителя по 10.2.3.1 и 10.2.4.1 см3; *V*= 500 см3;

 *ρ* – плотность раствора анализируемого красителя по 10.2.3.1 и 10.2.4.1; *ρ* = 1,367 г/ см3;

*F*– фактор разведения; *F* = 10;

 – удельный коэффициент светопоглощения, численно равный оптической плотности раствора красителя, с массовой долей красящего вещества 1 % при толщине поглощающего слоя 1 см, ед. опт. пл. · %-1 · см-1;

*=*328 ед. опт. пл.·%-1·см-1;

*d* – толщина поглощающего слоя, см; *d =*1 см;

*m* – масса пробы анализируемого красителя, взятой для анализа, г, в соответствии с таблицей 2.

Вычисления проводят с записью результата до второго десятичного знака.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений , %, округленное до первого десятичного знака, если выполняются условия приемлемости, по 12.2.1

**12.2 Метрологические характеристики метода**

12.5.1 Абсолютное значение разности между результатом двух параллельных определений, полученными в условиях повторяемости при доверительной вероятности *Р* = 95 %, не превышает предела повторяемости *r,* представленного в графе 2 таблицы 3.

11.5.2 Абсолютное значение разности между результатами двух параллельных определений, полученными в условиях воспроизводимости при доверительной вероятности *Р* = 95 %, не превышает предела воспроизводимости *R,* представленного в графе 3 таблицы 3.

11.5.3 Границы абсолютной погрешности определения массовой доли основного красящего вещества в анализируемом красителе ∆ при *Р* = 95 %, представлены в графе 4 таблицы 3.

Таблица3

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Диапазон измерений массовой доли основного красящего вещества, % | Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных измерений), *r,* %, абс., при *Р* = 95 %, *n*= 2 | Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами единичных измерений, полученных в двух лабораториях), *R,* %, абс.*,* при *Р* = 95 %, *m*= 2 | Границы абсолютной погрешности ∆, %, при *Р* = 95 % |
| 40,0 – 100,0 | 0,40 | 0,80 | ± 0,4 |

 **12.3 Оформление результатов**

 Результат определения массовой доли основного красящего вещества в пищевом красителе каротины Е160а представляют в виде ( ± ∆) % при *Р* = 95 %.

**13 Контроль качества результатов измерений**

Контроль качества результатов измерений в лаборатории предусматривает проведение контроля стабильности результатов измерений с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6 – 2003 (раздел 6).

Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ISO/IEC 17025.

|  |  |
| --- | --- |
| УДК 663.05:006.354 | МКС 67.220.20 |
| Ключевые слова: пищевая добавка, пищевой краситель рибофлавины Е100, качественный метод определения (идентификация), спектрофотометрический метод определения, массовая доля |

РАЗРАБОТЧИК:

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем имени В.М. Горбатова» РАН (ВНИИПД – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Директор института |                    | В. Ю. Ситнов |
|  |  |  |  |
|  | Отв. исполнитель, зав. лабораторией,канд. хим. наук |                    | Н. В. Рудометова |