|  |
| --- |
| **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 идентификации и определения массовой доли основных красящих веществ пищевых красителей хлорофиллов Е140(i), хлорофиллинов Е140(ii), медных комплексов хлорофиллов Е141(i), медных комплексов хлорофиллинов Е141(ii)**

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 идентификации и определения массовой доли основных красящих веществ пищевых красителей хлорофиллов Е140(i), хлорофиллинов Е140(ii), медных комплексов хлорофиллов Е141(i), медных комплексов хлорофиллинов Е141(ii)**Food additives. Methods for identification and determination of total coloring matters percentage for food colours: chlorophylls E140(i), chlorophyllins E140(ii), copper complexes of chlorophylls E141(i), copper complexes of chlorophyllins E141(ii) |

 **Дата введения –**

**1 Область применения**

Настоящий стандарт распространяется на пищевые добавки, представляющие собой пищевые красители: Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i), Хлорофиллины (Сhlorophyllins) Е140(ii), Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i), Медные комплексы хлорофиллинов (Сopper complexs of сhlorophyllins) Е141(ii), (далее – красители), и устанавливает:

- хроматографический метод определения (идентификации) основных красящих веществ красителей в тонком слое сорбента;

- спектрофотометрический метод определения (идентификации) основных красящих веществ красителей;

- спектрофотометрические метод измерения массовой доли основных красящих веществ красителей.

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

ГОСТ 4172 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный.

Технические условия

ГОСТ 4198-75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4234-77 Реактивы. Калий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4919.2 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления буферных растворов

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия\*

ГОСТ 9656-75 Реактивы. Кислота борная. Технические условия

ГОСТ 18300–87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия\*\*

ГОСТ 20015-88 Хлороформ. Технические условия

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

ГОСТ 28366-89 Реактивы. Метод тонкослойной хроматографии

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».

\*\* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 55878-2013 «"Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. 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 900 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 2-1-2-1, 2-1-2-2, 2-1-2-5, 2-1-2-10 по ГОСТ 29227.

Колбы мерная 2-25-1, 2-50-1, 2-100-1, 2-1000-1 со шлифом и пришлифованной пробкой, 1 класса точности по ГОСТ 1770.

Цилиндры 1–50–1 с ценой наименьшего деления 1 см3 по ГОСТ 1770.

Колбы плоскодонные любого типа исполнения вместимостью 50, 100 см3 по ГОСТ 25336.

 Пластины для тонкослойной хроматографии на полимерной (полиэтилентерефталатной) или алюминиевой подложке со слоем фракционированного широкопористого силикагеля, закрепленного связующим компонентом, толщиной 90 ÷120 мкм, зернением 5 ÷ 17 мкм, размерами 10 х 20 см.

Пробки из пластмассы или стеклянные с конусами 7/16,10/19,19/26, 24/29 по ГОСТ 1770.

Палочка стеклянная.

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

 Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) с содержанием основных красящих веществ не менее 10 %.

Хлорофиллины (Сhlorophyllins) Е140(ii) с содержанием основных красящих веществ не менее 95 % в сухом веществе.

Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i) с содержанием основных красящих веществ не менее 10 %.

 Медные комплексы хлорофиллинов (Сopper complexs of сhlorophyllins) Е141(ii) с содержанием основных красящих веществ не менее 95 % в сухом веществе

Хлороформ очищенный по ГОСТ 20015.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х.ч.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 18300.

Калий фосфорнокислый однозамещенный, х. ч., по ГОСТ 4198.

Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный, х.ч. по ГОСТ 4172

Гексан, х. ч., с массовой долей основного вещества, 99 %, не менее.

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.

**8 Хроматографический метод качественного определения (идентификации) основных красящих веществ красителей Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) и Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i) в тонком слое сорбента**

**8.1 Сущность метода**

Метод основан на разделении красящих веществ красителей при хроматографировании в тонком слое сорбента (ТСХ) и их идентификации путем сравнения цвета пятен и значений *R′f* [отношение расстояния миграции пятна красящего вещества анализируемого красителя до линии старта к расстоянию миграции границы элюента (проявителя) до линии старта] каждого красящего вещества анализируемого красителя со значениями *Rf* красящих веществ контрольных красителей (КО).

В качестве КО используют растворы стандартных красителей в хлороформе.

 **8.2 Подготовка к анализу**

**8.2.1 Приготовление элюента**

В колбу вместимостью 50 см3 вносят пипетками, индивидуальными для каждого реактива, 10 см3 гексана, 9 см3 хлороформа и 1 см3 этилового спирта. Колбу закрывают стеклянной пробкой и тщательно перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленный.

**8.2.2 Приготовление растворов КО**

 В стаканчик для взвешивания вносят 0,2500 г стандартных красителей Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) или Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i). Отмеряют пипеткой 5 см3 хлороформа, добавляют его в стаканчик и перемешивают содержимое стаканчика стеклянной палочкой до полного растворения красителя.

Растворы используют свежеприготовленные.

**8.2.3 Приготовление растворов анализируемых красителей**

В стаканчик для взвешивания вносят 0,2500 г анализируемых красителей Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) или Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i). Отмеряют пипеткой 5 см3 хлороформа, добавляют его в стаканчик и перемешивают содержимое стаканчика стеклянной палочкой до полного растворения красителя.

Растворы используют свежеприготовленные.

**8.2.4 Подготовка пластины для тонкослойной хроматографии**

Подготовку пластины проводят по ГОСТ 28366 (подпункт 4.1) с нанесением на линию старта раствора КО, приготовленного по 8.2.2 и раствора анализируемого красителя, приготовленного по 8.2.3, в виде полос длиной 2 см каждая, с расстоянием между ними не менее 2 см, используя стеклянные капилляры. Затем пластину подсушивают на воздухе до полного испарения растворителя.

**8.3. Проведение анализа**

Анализ проводят по ГОСТ 28266 (подпункт 5.1), используя элюент, приготовленный по 8.2.1. Элюирование заканчивают, когда растворитель поднимется до линии на 15 см выше линии старта. По окончании элюирования хроматограмму вынимают пинцетом из хроматографической камеры и сушат на воздухе до полного испарения растворителя. Затем визуально осматривают пятна анализируемого красителя и идентифицируют их по цвету и значениям *Rf*, сравнивая с пятнами КО. Ориентировочные значения *R′f* и описание цвета пятен приведены в таблице 2.

Таблица2

|  |  |
| --- | --- |
| Стандартный краситель  | Показатель  |
| Цвет пятна  | *R′f* пятна  | Красящее вещество |
| Е140 (i) | серо-коричневый | 0,77 | Феофитин а |
| желто-коричневый | 0,75 | Феофитин b |
| сине-зеленый | 0,50 | Хлорофилл а (магниевый комплекс феофитина а) |
| желто-зеленый | 0,63 | Хлорофилл b (магниевый комплекс феофитина b) |
| Е141 (i) | зеленый | 0,50 | Хлорофилла а медный комплекс |
| желто-зеленый | 0,73 | Хлорофилла b медный комплекс |
| П  р  и  м  е  ч  а  н  и  е – На хроматограммах могут быть видны пятна бета-каротина с *Rf*0,81 и ксантофилла с *R′f*0,47 и 0,23 |

При невыполнении условия идентичности цвета и *Rf* пятен анализируемого красителя с цветом и *R′f* пятен стандартного красителя делают заключение о том, что анализируемый образец не соответствует требованиям, установленным для пищевой добавки красителя Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) или Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i).

Для красителей Хлорофиллины (Сhlorophyllins) Е140(ii) и Медные комплексы хлорофиллинов (Сopper complexs of сhlorophyllins) Е141(ii) тест не проводится.

**9 Спектрофотометрический метод качественного определения (идентификации) основных красящих веществ красителей**

**9.1 Сущность метода**

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

**9.2 Подготовка к анализу**

**9.2.1 Приготовление буферного раствора с pH раствора 7,5 ед. рН**

Раствор 1. Раствор натрия фосфорнокислого двузамещенного молярной концентрации с (Na2HPО4) = 0,15 моль/дм3 готовят по ГОСТ 4919.2.

Раствор 2. Раствор калия фосфорнокислого однозамещенного молярной концентрации с (KH2PО4) = 0,15 моль/дм3 готовят по ГОСТ 4919.2.

Буферный раствор с pH раствора 7,5 ед. рН готовят по ГОСТ 4919.2. В колбу вместимостью 100 см3 вносят 21,0 см3 раствора 1 и 4 см3 раствора 2 и тщательно перемешивают.

Измеряют значение рН буферного раствора на рН-метре. В случае отклонения измеренного значения от заданного (7,5 ± 0,1 ед. рН) значение рН доводят добавлением раствора 1 или раствора 2.

**9.2.2 Приготовление буферного раствора с pH раствора 9,0 ед. рН**

Раствор 1. В мерной колбе вместимостью 1 дм3 взвешивают 12,336 г борной кислоты и 14,911 г калия хлористого, затем прибавляют дистиллированную воду, перемешивают содержимое до полного растворения, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

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

Раствор хранят в плотно закрытой полимерной емкости в условиях в соответствии с разделом 5 не более 2 мес.

Отбирают пипеткой 5 см3 приготовленного раствора, дозируют его в мерную колбу вместимостью 50 см3, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

 В колбу вместимостью 100 см3 вносят 50 см3 раствора 1, прибавляют 20,8 см3 раствора 2 и тщательно перемешивают.

Измеряют значение рН буферного раствора на рН-метре. В случае отклонения измеренного значения от заданного (9,0 ± 0,1 ед. рН) значение рН доводят добавлением раствора 1 или раствора 2.

**9.2.3 Приготовление растворов красителей Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) или Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i)**

В мерной колбе, вместимостью 100 см3 взвешивают 0,100 г красителя Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) или Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i) и доводят объем раствора в колбе до метки хлороформом, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают. вносят

Отбирают пипеткой 2 см3 приготовленного раствора, дозируют его в мерную колбу вместимостью 25 см3, доводят объем раствора в колбе до метки хлороформом, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Растворы используют свежеприготовленные.

**9.2.4 Приготовление раствора красителя Хлорофиллины (Сhlorophyllins) Е140(ii)**

В стаканчик для взвешивания вносят 0,100 г красителя Хлорофиллины (Сhlorophyllins) Е140(ii). Стаканчик с образцом вместе с крышкой помещают в сушильный шкаф, нагретый до температуры 100 °С, и выдерживают при этой температуре в течение 1 ч. Затем стаканчик закрывают крышкой, помещают в эксикатор и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

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

Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см3, доводят объем раствора в колбе до метки буферным раствором, приготовленным по 9.2.2, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Отбирают пипеткой 1 см3 приготовленного раствора, дозируют его в мерную колбу вместимостью 100 см3, доводят объем раствора в колбе до метки буферным раствором, приготовленным по 9.2.2, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленный.

**9.2.5 Приготовление раствора красителя Медные комплексы хлорофиллинов (Сopper complexs of сhlorophyllins) Е141(ii)**

В стаканчик для взвешивания вносят 0,100 г красителя Медные комплексы хлорофиллинов (Сopper complexs of сhlorophyllins) Е141(ii). Стаканчик с образцом вместе с крышкой помещают в сушильный шкаф, нагретый до температуры 100 °С, и выдерживают при этой температуре в течение 1 ч. Затем стаканчик закрывают крышкой, помещают в эксикатор и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С.

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

Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см3, доводят объем раствора в колбе до метки буферным раствором, приготовленным по 9.2.1, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Отбирают пипеткой 1 см3 приготовленного раствора, дозируют его в мерную колбу вместимостью 100 см3, доводят объем раствора в колбе до метки буферным раствором, приготовленным по 9.2.1, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленный.

**9.3 Проведение анализа**

Раствор анализируемого красителя, приготовленный по 9.2.3 или по 9.2.4, или по 9.2.5, дозируют пипеткой в кювету и регистрируют спектр поглощения относительно оптической плотности растворителя в диапазоне длин волн от 300 до 900 нм в соответствии с инструкцией по эксплуатации спектрофотометра.

Измерение оптической плотности должно проводиться в свежеприготовленном растворе, так как интенсивность цвета раствора может изменяться в зависимости от времени его хранения. Значения оптической плотности не должны превышает рабочего диапазона измерения (0,7 ед.) при длинах волн, указанных в таблице 3.

Таблица 3

|  |  |
| --- | --- |
| Краситель | Показатель |
| Положение максимумов светопоглощения в спектре красителя, нм | Удельный коэффициент светопоглощения | Растворитель |
| Е140 (i) | 408 ÷ 410 | 700 | хлороформ |
| Е140 (ii) | 404 ÷ 406651 ÷ 653 | 700140 | фосфатный буферный раствор с pH раствора 9,0 ед. рН |
| Е141 (i) | 421 ÷ 423651 ÷ 653 | 540300 | хлороформ |
| Е141 (ii) | 404 ÷ 406629 ÷ 631 | 565145 | фосфатный буферный раствор с pH раствора 7,5 ед. рН |

При выполнении условий, указанных в таблицах 2 и 3, идентифицируют анализируемый краситель как пищевой краситель Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) или Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i), или Хлорофиллины (Сhlorophyllins) Е140(ii), или Медные комплексы хлорофиллинов (Сopper complexs of сhlorophyllins) Е141(ii).

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

**10.1 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.

**10.2 Подготовка к измерению – по 9.2**

**10.3 Проведение измерения**

Кювету спектрофотометра заполняют приготовленным по 9.2.3 или по 9.2.4, или по 9.2.5 раствором анализируемого красителя и измеряют оптическую плотность, соответствующую максимуму светопоглощения для каждого красителя относительно оптической плотности соответствующего растворителя, указанному в таблице 4 в соответствии с инструкцией по эксплуатации спектрофотометра.

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

Таблица 4

|  |  |
| --- | --- |
| Краситель | Показатель |
| Положение максимумасвето-поглощения, нм | Удельный коэффициент свето-поглощения | Растворитель | Фактор разве-дения *F* | Плотность раствора ρ, г/ см3 |
| Е140 (i) | 408 ÷ 410 | 700 | хлороформ | 12,5 | 1,489 |
| Е140 (ii) | 404 ÷ 406 | 700 | фосфатный буферный раствор с pH раствора 9,0 ед. рН | 100 | 1,001 |
| Е141 (i) | 421 ÷ 423 | 540 | хлороформ | 12,5 | 1,489 |
| Е141 (ii) | 404 ÷ 406 | 565 | фосфатный буферный раствор с pH раствора 7,5 ед. рН | 100 | 1,055 |

**10.4 Обработка результатов анализа**

Массовую долю основных красящих веществ в анализируемом красителе , %, рассчитывают по формуле

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

где *А*– оптическая плотность раствора анализируемого красителя, измеренная по 10.3, ед. опт. пл.;

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

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

где *V*– объем раствора анализируемого красителя по 9.2.3 или 9.2.4, или 9.2.5 см3; *V*= 100 см3;

 *ρ* – плотность раствора анализируемого красителя по 9.2.3 или 9.2.4, или 9.2.5, численно равная плотности растворителя, указанного в таблице 4;

*F*– фактор разведения по 9.2.3 или 9.2.4, или 9.2.5, численные значения которого указаны в таблице 4;

 – 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, численные значения которого указаны в таблице 4;

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

*m* – масса пробы анализируемого красителя, взятой для анализа, г, по 9.2.3 или 9.2.4, или 9.2.5; *m* = 0,1г.

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

**10.5 Метрологические характеристики метода**

10.5.1 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 5.

10.5.2 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 5.

10.5.3 Границы абсолютной погрешности определения массовой доли основного красящего вещества в анализируемом красителе ∆ при *Р* = 95 %, представлены в графе 4 таблицы 5.

Таблица5

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 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 % |
| 10,0 – 100,0 | 0,40 | 0,80 | ± 0,4 |

 **10.6 Оформление результатов**

 Результат определения массовой доли основного красящего вещества в пищевых красителях Хлорофиллы (Сhlorophylls) Е140(i) или Медные комплексы хлорофиллов (Сopper complexs of chlorophylls) Е141(i), или Хлорофиллины (Сhlorophyllins) Е140(ii), или Медные комплексы хлорофиллинов (Сopper complexs of сhlorophyllins) Е141(ii) представляют в виде ( ± ∆) % при *Р* = 95 %.

**11 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 хлорофиллы Е140(i), хлорофиллины Е140(ii), медные комплексы хлорофиллов Е141(i), медные комплексы хлорофиллинов Е141(ii), хроматографический 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 |