

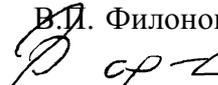
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

СОГЛАСОВАНО
Начальник отдела
науки и внедрения
Н.И. Доста



УТВЕРЖДАЮ
главный Государственный
врач Республики Беларусь
В.И. Филонов



7 сентября 1999 г.

Регистрационный № 89-
9908

**МЕТОДИКА
ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИЙ САХАРИНА НАТРИЯ
В БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКАХ МЕТОДОМ ИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

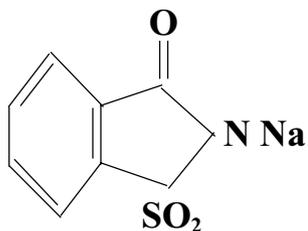
Разработчики: лаборатория физико-химических исследований БелНИСГИ

Авторы: канд .хим. наук Л.М. Кремко, В.И. Сеницина, Т.М. Скирденко

Настоящая методика выполнения измерений устанавливает ионохроматографическую методику количественного химического анализа проб безалкогольных напитков для определения в них содержания сахарина натрия в пределах концентраций от 20,0 до 500,0 мг/дм³.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕЩЕСТВА

Сахарин натрия, натриевая соль имида сульфобензойной кислоты, химическая формула: $C_7H_4NO_3SNa$. $M = 205,23$. Структурная формула:



Сахарин натрия относится к синтетическим сладким веществам. Он был синтезирован в 1879 г., очень хорошо растворим в H_2O , в 400–500 раз слаще сахарозы.

В Беларуси установлено допустимое суточное потребление сахарина до 2,5 мг/кг массы тела.

2. НОРМЫ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

Методика выполнения измерений концентраций сахарина натрия обеспечивает выполнение измерений с суммарной погрешностью, не превышающей $\pm 20,3\%$ отн. при доверительной вероятности 0,95 в диапазоне концентраций 20,0–500,0 мг/дм³.

3. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА, РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы:

3.1. Средства измерений

Хроматограф жидкостный ионный с детектором по электропроводности (кондуктометром) (Цвет-3006, Цвет-3006-М).

Весы аналитические ВЛР-200М или АДВ-200М, ГОСТ 24104-88.

Меры массы, ГОСТ 7328-65 или ГОСТ 7328-82.

Линейка измерительная с ценой деления 1 мм, диапазоном измерения 0–150 мм, ГОСТ 427-75.

Пипетки 1-1-2-1, 1-2-2-5, 1-1-2-10, 1-2-2-20 по ГОСТу 29227-91.

Колбы мерные 2-100-2 и 2-2000-2 по ГОСТу 1770-74.

Петля дозирующая объемом 100 мкл, установленная в прибор.

3.2. Вспомогательные устройства

Колонка хроматографическая разделительная (50Ч6 мм), заполненная сорбентом ХИКС-1.

Колонка предварительная (100Ч6 мм), заполненная анионитом АРА-12П (0,5–1,0 мм).

Колонки подавительные (200Ч6 мм), заполненные катионитом КРС-6П (0,5–1 мм) или КРС-8П (0,5–1 мм).

Колонка дросселирующая (50Ч6 мм).

Шприц медицинский объемом 2–5 см³.

Мешалка магнитная.

Устройство для заполнения колонок.

Воронки химические, В-75-120 ХС по ГОСТу-25336-82.

Стаканы химические, В-1-100 ТС по ГОСТу 25336-82.

Фильтры бумажные, белая лента.

Могут быть использованы другие средства измерения и вспомогательные устройства, по точности не уступающие рекомендуемым в методике.

3.3. Реактивы

Сорбент-анионит АРА-12П (0,5–1,0 мм), ТУ 6-09-10-818-78.

Сорбент-анионит ХИКС-1 (20–40 мкм), ТУ 15/16-4-85, Эстония. Сорбент-катионит КРС-8П (0,5–1,0 мм), ТУ 6-09-10-151-79 или КРС 6П (0,5–1,0 мм), ТУ 6-09-10-228-79.

Натрия карбонат, ч.д.а., ГОСТ 83-79, раствор 3,0 мМ/дм³.

Кислота азотная, ч.д.а., ГОСТ 4461-77, раствор 0,5 М/дм³. О-бензойной кислоты сульфимида натриевая соль (сахарин натрия), более 99% (Fluka Chemika)

О-бензойной кислоты сульфимид (сахарин), более 99% (Fluka Chemika).

Могут быть использованы реактивы-эквиваленты, по квалификации не уступающие указанным в методике, не влияющие на результат измерения.

4. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Для определения концентраций сахарина натрия используется метод ионной хроматографии, основанный на разделении смеси компонентов пробы разделительной колонкой и детектировании его кондуктометрическим детектором.

Сопутствующие вещества — основные анионы, присутствующие в воде: хлориды, нитраты, сульфаты — не мешают определению на всем диапазоне определяемых концентраций сахарина натрия от 20,0 до 500,0 мг/дм³ (хроматограмма прилагается).

5. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

При выполнении измерений концентраций сахараина натрия в безалкогольных напитках соблюдают требования безопасности, изложенные в инструкции “Основные правила безопасной работы в химических лабораториях” (М, 1979) и инструкции по эксплуатации ионного хроматографа.

6. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРА

К выполнению измерений могут быть допущены лица, имеющие высшее или среднее специальное образование, изучившие работу на ионном хроматографе и настоящую методику.

7. УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений в лаборатории согласно ГОСТу 15150-61, должны быть соблюдены следующие условия:

- температура воздуха $20 \pm 5^\circ\text{C}$
- атмосферное давление 84,0–106,7 кПа
- влажность воздуха не более 80% при температуре 25°C .

8. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Перед выполнением измерений должны быть проведены следующие

работы: подготовка измерительной и вспомогательной аппаратуры, приготовление растворов, градуировка прибора, отбор и подготовка проб к измерениям.

8.2. Подготовка к работе разделительной колонки

Предварительно колонку необходимо промыть. Для этого с колонки снимаются штуцера, внутренняя поверхность трубки прочищается ватой, смоченной этиловым спиртом, промывается водопроводной и дистиллированной водой, просушивается воздухом. Чистота колонки контролируется визуально. Внутренняя поверхность колонки должна быть чистой, гладкой, без посторонних налипаний. После этого на один из концов колонки навинчивается штуцер с фильтром. Для заполнения колонки подготавливается суспензия смолы в дистиллированной воде: 0,8 г сорбента-анионита ХИКС-1 и 15 см^3 дистиллированной воды перемешивают на магнитной мешалке в течение 5–7 мин. К нижнему штуцеру колонки подсоединяется капилляр длиной 200–300 мм, колонка заполняется дистиллированной водой. После этого колонка подсоединяется к наполнителю. В наполнитель заливается суспензия, и наполнитель соединяется с насосом, заполненным водой. Включается насос, и заполнение колонки продолжается около 60 мин. В конце заполнения плавно снижают расход элюента до нуля, через 1–2 мин отсоединяют колонку от наполнителя. На слой адсорбента кладут немного стекловаты и

наворачивают на колонку штуцер с фильтром. На колонке отмечают направление потока растворителя (вода) при заполнении. Эксплуатируют колонку в том же положении.

8.3. Подготовка к работе подавительных колонок

Подготовку подавительных колонок проводят аналогично подготовке разделительной колонки. Для заполнения одной подавительной колонки готовят суспензию 3 г катионита высокой емкости КРС-6П или КРС-8П (0,5–1,0 мм) и 15 см³ дистиллированной воды. Заполнение колонок - аналогично заполнению разделительной колонки.

Для обеспечения длительной непрерывной работы прибор содержит 2 подавительных колонки. Одна колонка постоянно включена последовательно с разделительной колонкой, другая в это время либо регенерируется, либо находится в запасе. Регенерация производится путем прокачивания через колонку с помощью насоса регенерации 0,5 моль раствора азотной кислоты.

8.4. Подготовка предварительной колонки

Для заполнения предварительной колонки используют 1,5 г сорбента-анионита высокой емкостью АРА-12П (0,5–1,0 мм). Подготовка и заполнение колонки аналогичны подготовке разделительной и подавительных колонок.

8.5. Подготовка дросселирующей колонки

Дросселирующую колонку заполняют адсорбентом ХИКС-1 или другим сорбентом. Подготовка ее к работе аналогична подготовке других колонок.

8.6. Заполнение системы растворами

Заполнение системы растворами производится согласно инструкции по эксплуатации хроматографа.

8.7. Приготовление растворов

8.7.1. Раствор карбоната натрия 3,0 ммоль/дм³. 0,625 г карбоната натрия взвешивают с точностью $\pm 0,0002$ г, растворяют в 2 дм³ дистиллированной воды.

8.7.2. Раствор азотной кислоты 0,5 моль/дм³. 78,8 см³ азотной кислоты ($d=1,36$) разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе до 2 дм³.

8.7.3. Градуировочный раствор А. 0,2 г безводной соли сахарина натрия или 0,2526 г ее кристаллогидрата, содержащего три молекулы воды $C_7H_4NO_3SNa \cdot 3H_2O$, взвешенные с точностью $\pm 0,0002$ г, растворяют в 50 см³ дистиллированной воды и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Объем доводят до метки дистиллированной водой при комнатной температуре.

При отсутствии сахарина натрия для приготовления градуировочного раствора А используют сахарин. 0,1785 г сахарина переносят четырьмя порциями дистиллированной воды объемом по 20 см³ в мерную колбу

вместимостью 100 см³. Для полного растворения смесь подогревают на водяной бане. После остывания до комнатной температуры объем раствора доводят до метки дистиллированной водой.

Растворы соответствуют 2000,0 мг/см³ сахараина натрия.

Раствор хранят в холодильнике в течение 1 мес.

8.7.4. Шкалу (серии) рабочих градуировочных растворов, содержащих от 20,0 до 500,0 мг/дм³ сахараина натрия, предназначенных для градуировки прибора, готовят в мерных колбах объемом 100 см³ путем разбавления основного градуировочного раствора А дистиллированной водой согласно табл. 1.

Таблица 1

Приготовление градуировочных растворов сахараина натрия

№ раствора	Содержание сахараина натрия, мг/дм ³	Объем градуировочного раствора А, см ³	Объем дистиллированной воды, см ³
1	20,0	1,0	до 100,0
2	50,0	2,5	-- " --
3	100,0	5,0	-- " --
4	200,0	10,0	-- " --
5	400,0	20,0	-- " --
6	500,0	25,0	-- " --

Градуировочные растворы готовят перед использованием. Каждый раствор готовят в 5-кратной повторности. Таким образом получают 5 серий (шкал) градуировочных растворов.

8.8. Градуировка прибора

Градуировку прибора проводят по 5 сериям (шкалам) градуировочных растворов путем их хроматографического анализа и построения градуировочного графика. Каждая серия состоит из 6 растворов от минимальной концентрации, составляющей 20 мг/дм³, до максимальной, составляющей 500 мг/дм³ сахараина натрия.

Проводят хроматографирование градуировочных растворов.

Условия хроматографического анализа

Колонка разделительная.....50·6 мм, заполненная сорбентом-анионитом ХИКС-1.

Колонки подавительные (2).....200·6 мм, заполненные сорбентом-катионитом КРС-6П или КРС-8П.

Колонка предварительная.....100·6 мм, заполненная сорбентом-анионитом АРА-12П.

Колонка дросселирующая.....50·6 мм, заполненная сорбентом ХИКС-1 или другим сорбентом.

Состав элюента.....раствор карбоната натрия, 3ммоль/дм³.

Расход элюента.....	3,0 см ³ /мин.
Тип детектора.....	детектор по электропроводности (кондуктометр).
Объем вводимой в хроматограф пробы.....	2–5 см ³ анализируемого раствора вводят в петлевой дозатор хроматографа объемом 0,1 см ³ .
Время удерживания.....	16–20 мин (возможны колебания из-за использования нестандартных колонок. Время выхода контролируется путем анализа градуировочного раствора).
Показания шкалы электрометра.....	16.
Скорость протяжки ленты самописца.....	60 мм/час.

Каждый раствор хроматографируют не менее двух раз, начиная с самой низкой концентрации. Измеряют высоты пиков сахараина натрия или его площади. Вычисляют среднее значение аналитического сигнала для каждой концентрации из результатов пяти параллельных измерений. Строят градуировочный график в координатах высота (площадь) пика (ось ординат) — концентрация сахараина натрия в водном растворе (ось абсцисс).

Для диапазона концентраций 20,0–500,0 мг/дм³ сохраняется линейная зависимость высоты (площади) хроматографического пика от концентрации сахараина натрия.

Суммарная погрешность построения градуировочного графика — 13,4%.

8.9. Отбор и подготовка проб

Отбор проб безалкогольных напитков проводят согласно СТБ 1036-97. При необходимости в случае выпадения осадка перед проведением анализа пробу напитка фильтруют. Газированные напитки подвергают дегазации путем встряхивания в открытой посуде.

9. ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений концентраций сахараина натрия проводят следующие операции: 2–5 см³ хорошо перемешанного образца напитка (средняя проба), подготовленного по п. 8.9, медицинским шприцем вводят в петлевой дозатор хроматографа. Анализ проводят в соответствии с п. 8.8 настоящей методики. Пробу хроматографируют не менее пяти раз. Измеряют высоты или площади пиков сахараина натрия на хроматограмме.

В случае, когда концентрация сахараина натрия в напитке превысит значение 500 мг/дм³, применяют разбавление его дистиллированной водой. При разбавлении раствора в 10 раз 5 см³ анализируемого напитка пипеткой 1-1-2-5 переносят в мерную колбу 1-50-2 и доводят дистиллированной водой до метки, раствор перемешивают. Степень разбавления учитывают при расчетах.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Концентрацию сахара натрия (C_i , мг/дм³) в напитках рассчитывают по формуле:

$$C_i = A_i \times K \quad C_{\text{ср}} = \frac{C_i}{n}$$

где A_i — концентрация сахара натрия в водном растворе продукта,

найденная по градуировочному графику для i -го измерения, мг/дм³;

K — степень разбавления фильтрата;

n — количество (число) хроматографических измерений ($n = 5$).

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов пяти параллельных определений, расхождение между максимальным и минимальным значениями которых не превышает 25,1% по отношению к среднему значению.

Гарантированный результат анализа представляют в следующем виде:

$C = C_{\text{ср}} \pm \Delta \text{МВИ}$, где $\Delta \text{МВИ}$ - суммарная погрешность результатов измерения, равная 20,3%.

Для перевода в абсолютные единицы применяют формулу:

$$\Delta = \frac{20,3 \times C_{\text{ср}}}{100}$$

11. КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ МВИ

Внутренний оперативный контроль (ВОК) показателей качества результатов измерений концентраций сахара натрия в безалкогольных напитках методом ионной хроматографии осуществляют с целью получения оперативной информации о качестве этих анализов и принятия при необходимости оперативных мер по его повышению. ВОК осуществляют по следующим показателям: стабильность градуировочного графика, сходимость параллельных определений и точность (погрешность) результатов.

Таблица 2

Нормативы оперативного контроля для МВИ концентраций сахара натрия в безалкогольных напитках

Суммарная погрешность построения градуировочного графика, %	Норматив сходимости результатов параллельных определений, %	Точность (погрешность) результатов параллельных измерений, %
13,4	25,1	20,3

Примечание: Так как в данном случае анализу подвергается один образец средней пробы, а его хроматографирование осуществляется в пятикратной повторности, сходимость параллельных определений является сходимостью высот (площадей) хроматографических пиков.

11.1. Контроль стабильности градуировочного графика

Средством контроля является один из градуировочных растворов, приготовленных по п. 8.7.4 методики. Одновременно с выполнением измерений концентраций сахараина натрия в напитках хроматографируют градуировочный раствор по п.8.8 методики. Высоту пика (площадь), полученную при его хроматографировании ($h_{изм.}, S_{изм.}$) сравнивают с высотой (площадью) пика, соответствующей концентрации градуировочного раствора, найденной по градуировочному графику ($h_{гр.}, S_{гр.}$). Отношение разности между высотами (площадями) $h_{изм.}(S_{изм.})$ и $h_{гр.}(S_{гр.})$ к $h_{гр.}(S_{гр.})$ не должно превышать общей погрешности построения градуировочного графика, т.е. 13,4%.

$$\frac{h_{изм.}(S_{изм.}) - h_{гр.}(S_{гр.})}{h_{гр.}(S_{гр.})} \times 100 \leq 13,4\% .$$

В случае превышения этого значения готовят градуировочный раствор с другой концентрацией сахараина натрия. Операцию повторяют. При повторном отличии высот пиков более, чем на 13,4% от градуировочных величин, повторяют градуировку прибора. График строят заново при использовании новой разделительной колонки.

11.2. ВОК сходимости результатов параллельных измерений (определений) сахараина натрия в безалкогольных напитках проводят путем сравнения расхождения между максимальным и минимальным результатами, выраженного в процентах по отношению к среднему значению, с нормативом ВОК сходимости — d , равного 25,1% (табл. 2).

$$d_k = \frac{(C_{max} - C_{min}) \times 100}{C_{cp}} \leq d,$$

где d — норматив сходимости, %;

C_{max} — максимальный результат, мг/дм³;

C_{min} — минимальный результат, мг/дм³;

C_{cp} — среднее арифметическое значение результатов пяти параллельных определений, мг/дм³.

Если $d_k \leq d$, то сходимость результатов параллельных измерений признают удовлетворительной, и по ним может быть вычислен результат содержания сахараина натрия в пробе.

При превышении норматива ВОК сходимости измерений эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и

устраняют их. Допустимые расхождения между параллельными определениями должны соблюдаться для каждого измерения.

11.3. ВОК точности (погрешности) осуществляют в течение квартала. Средством контроля является градуировочный раствор А, приготовленный по п.8.7.3 5 см³ раствора пипеткой 1-2-2-5 вносят в мерную колбу объемом 100 см³ и доводят дистиллированной водой до метки.

Анализ полученного раствора проводят по п. 9 методики, хроматографируя раствор не менее 5 раз. Измеряют высоты (площади) полученных пиков.

По градуировочному графику находят концентрацию сахарина натрия в полученном растворе. Расчет содержания сахарина натрия в градуировочном растворе А, являющимся средством контроля, проводят по формуле:

$$C \text{ мг/дм}^3 = A \times 20$$

где А — концентрация сахарина натрия в полученном водном растворе, найденная по градуировочному графику, мг/дм³; 20 — множитель, учитывающий разбавление градуировочного раствора А при обработке.

Единичные контрольные измерения выполняют в одной серии с рабочими пробами безалкогольных напитков. Равномерно, в течение всего контролируемого периода, выполняют n (n ≥ 10) его измерений и рассчитывают среднее арифметическое значение концентрации сахарина натрия из n измерений:

$$C_{\text{ср}} = \frac{\sum C_i}{n}$$

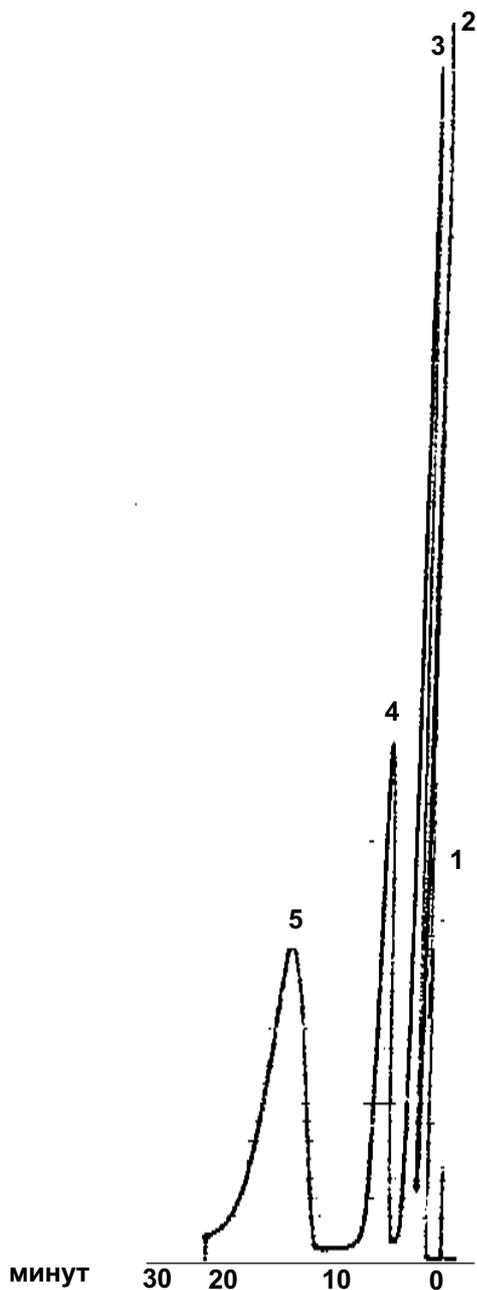
Точность контрольного измерения, а также точность результатов определения сахарина натрия в пробах безалкогольных напитков, выполненных за период, в течение которого условия проведения анализа считают стабильными и соответствующими условиям проведения контрольного измерения, признают удовлетворительной, если $K_k \leq K$ ($K = 20,3\%$, табл. 2).

$$K_k = \frac{I C_{\text{ср}} - C I \times 100}{C} \leq K,$$

где $C_{\text{ср}}$ — среднее значение найденного содержания сахарина натрия в градуировочном растворе А;

С — исходное содержание сахарина натрия в градуировочном растворе А;

К — норматив ВОК точности.



Хроматограмма смеси фторид — (1), хлорид — (2), нитрат — (3), сульфат — (4) и сахарин — (5) ионов, полученная на колонке (50×6 мм), заполненной сорбентом Хикс-1 (20–40мкм). Элюент — раствора карбоната натрия с концентрацией 3,0 мм/л, скорость подачи элюента — 3,0 мл/мин, скорость диаграммной ленты — 60 мм/час.