

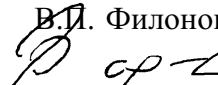
**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**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**

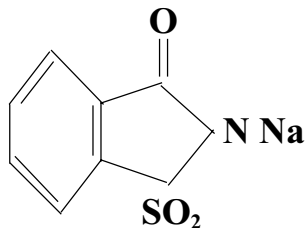
**Разработчики:** лаборатория физико-химических исследований БелНИСГИ

**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/дм<sup>3</sup>.

## 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/дм<sup>3</sup>.

## 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 см<sup>3</sup>.

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/дм<sup>3</sup>.

Кислота азотная, ч.д.а., ГОСТ 4461-77, раствор 0,5 М/дм<sup>3</sup>. 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/дм<sup>3</sup> (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  $25^\circ\text{C}$ .

## 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  $15 \text{ см}^3$  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 см<sup>3</sup> 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/дм<sup>3</sup>. 0,625 г карбоната натрия взвешивают с точностью  $\pm 0,0002$  г, растворяют в 2 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды.

8.7.2. Раствор азотной кислоты 0,5 моль/дм<sup>3</sup>. 78,8 см<sup>3</sup> азотной кислоты ( $d=1,36$ ) разбавляют дистиллированной водой в мерной колбе до 2 дм<sup>3</sup>.

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 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>. 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 см<sup>3</sup> в мерную колбу

вместимостью 100 см<sup>3</sup>. 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/см<sup>3</sup> 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/дм<sup>3</sup> сахараина натрия, предназначенных для градуировки прибора, готовят в мерных колбах объемом 100 см<sup>3</sup> путем разбавления основного градуировочного раствора А дистиллированной водой согласно табл. 1.

Таблица 1

### *Приготовление градуировочных растворов сахараина натрия*

| <b>№ раствора</b> | <b>Содержание сахараина натрия, мг/дм<sup>3</sup></b> | <b>Объем градуировочного раствора А, см<sup>3</sup></b> | <b>Объем дистиллированной воды, см<sup>3</sup></b> |
|-------------------|---|---|--|
| 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/дм<sup>3</sup>, до максимальной, составляющей 500 мг/дм<sup>3</sup> 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/дм<sup>3</sup>.

|   |   |
|---|---|
| Расход элюента.....                     | 3,0 см <sup>3</sup> /мин.   |
| Тип детектора.....                      | детектор по электропроводности (кондуктометр).  |
| Объем вводимой в хроматограф пробы..... | 2–5 см <sup>3</sup> анализируемого раствора вводят в петлевой дозатор хроматографа объемом 0,1 см <sup>3</sup> .                              |
| 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/дм<sup>3</sup> 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 см<sup>3</sup> 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/дм<sup>3</sup>, применяют разбавление его дистиллированной водой. При разбавлении раствора в 10 раз 5 см<sup>3</sup> 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/дм<sup>3</sup>) 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/дм<sup>3</sup>;

$K$  — 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/дм<sup>3</sup>;

$C_{min}$  — минимальный результат, мг/дм<sup>3</sup>;

$C_{cp}$  — среднее арифметическое значение результатов пяти параллельных определений, мг/дм<sup>3</sup>.

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 см<sup>3</sup> раствора пипеткой 1-2-2-5 вносят в мерную колбу объемом 100 см<sup>3</sup> и доводят дистиллированной водой до метки.

Анализ полученнойго растовора 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/дм<sup>3</sup>; 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:

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

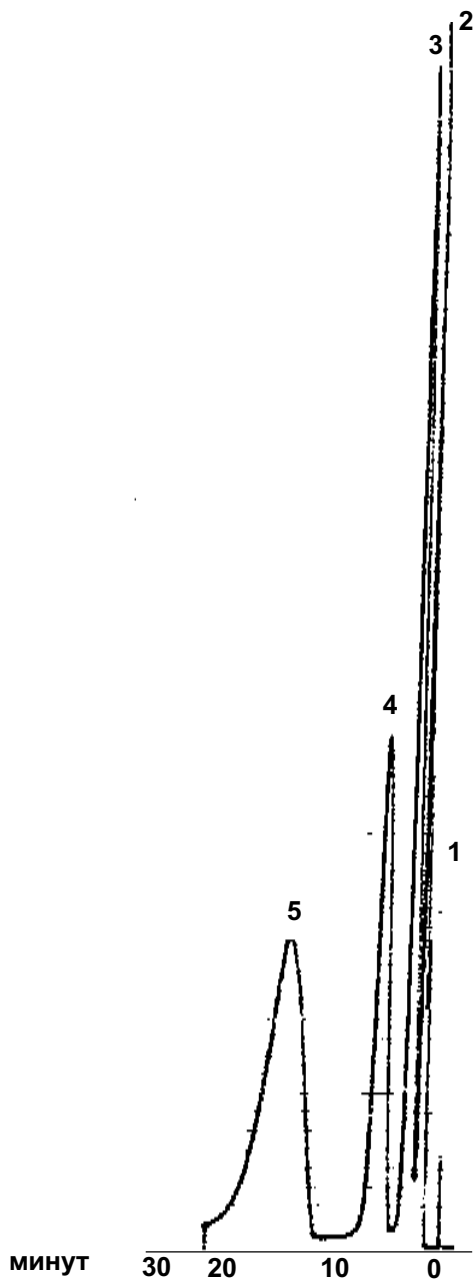
Точность контрольного измерения, а также точность результатов определения сахарина натрия в пробах безалкогольных напитков, выполненных за период, в течение которого условия проведения анализа считают стабильными и соответствующими условиям проведения контрольного измерения, признают удовлетворительной,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

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

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

$C$  — исходное содержание сахарина натрия в градуировочном растворе А;

$K$  — 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.