ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ЕН 12856— 2010

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение ацесульфама калия, аспартама и сахарина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

EN 12856:1999
Foodstuffs. Determination of acesulfame-K, aspartame and saccharin. High performance liquid chromatographic method
(IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт консервной и овощесушильной промышленности» (ГНУ ВНИИКОП) на основе собственного аутентичного перевода регионального стандарта, указанного в п. 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки фруктов, овощей и грибов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. № 599-ст

4 Настоящий стандарт идентичен региональному стандарту ЕН 12856:1999 «Продукты пищевые. Определение ацесульфама калия, аспартама и сахарина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии» (ЕН 12856:1999 «Foodstuffs. Determination of acesulfame-K, aspartame and saccharin. High performance liquid chromatographic method»)

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты Российской Федерации, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2011

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Сущность метода 1
4 Реактивы 1
5 Средства измерений и вспомогательное оборудование 3
6 Процедура проведения испытания 4
7 Обработка результатов 6
8 Прецизионность измерений 7
9 Протокол испытаний 8
Приложение А (обязательное) Примеры условий хроматографического анализа, обеспечивающих приемлемое качество хроматографического разделения 9
Приложение В (справочное) Хроматограммы контрольных растворов 10
Приложение С (справочное) Данные по прецизионности методики 12
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов ссылочным национальным стандартам Российской Федерации (и действующим в этом качестве межгосударственным стандартам) 16
Библиография 17

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение ацесульфама калия, аспартама и сахарина. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Foodstuffs. Determination of acesulfame-K, aspartame and saccharin. High performance liquid chromatographic method

Дата введения — 2012—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения ацесульфама калия, аспартама и сахарина в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [1], [2], [3]. Метод пригоден также для определения в пищевых продуктах кофеина, сорбиновой и бензойной кислот. Прецизионность метода установлена в результате межлабораторных испытаний, объектами которых при определении ацесульфама калия были марципан, йогурт, фруктовый йогурт, напиток на основе апельсинового сока, кола, кондитерский крем и джем, при определении аспартама — марципан, фруктовый йогурт, напиток на основе апельсинового сока, напиток с ароматизатором, имитирующим апельсин, кола, джем и сухая смесь для приготовления пирожного, при определении натриевой соли сахарина — марципан, йогурт, фруктовый йогурт, апельсиновый сок, напиток на основе апельсинового сока, кола, кондитерский крем и джем.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий стандарт:

ЕН ИСО 3696 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний (ИСО 3696:1987) (EN ISO 3696 Water for analytical laboratory use — Specification and test methods (ISO 3696:1987))

3 Сущность метода

Метод основан на экстрагировании искусственных подсластителей из пробы водой или разбавлении пробы водой, очистке экстракта методом твердофазной экстракции или с помощью реактивов Карреза и последующем количественном определении подсластителей с помощью ВЭЖХ с применением хроматографической колонки с обращенно-фазовым сорбентом и спектрофотометрического детектирования при длине волны 220 нм.

4 Реактивы

Для проведения испытания при отсутствии особо оговоренных условий используют только реактивы установленной аналитической чистоты и воду не ниже первой степени чистоты по ЕН ИСО 3696. Стандартные растворы готовят с учетом массовой доли аналита в стандартном веществе.

4.1 Ацетонитрил для ВЭЖХ.

4.2 Метанол для ВЭЖХ.

Издание официальное

4.3 Калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4).

4.4 Калий фосфорнокислый двухзамещенный (K_2HPO_4).

4.5 Кислота фосфорная плотностью 1,71 г/см^3, массовой долей 85 %.

4.6 Кислота фосфорная, раствор массовой долей 5 %

6 см^3 фосфорной кислоты по 4.5 вносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 100 см^3, в которую предварительно помещено 80 см^3 воды. Объем содержимого в колбе доводят до метки водой.

4.7 Раствор Карреза № 1

15 г железистосинеродистого калия ($K_4[FeCN]_6 \cdot 3\ H_2O$) растворяют в некотором количестве воды и разбавляют до объема 100 см^3.

4.8 Раствор Карреза № 2

30 г сернокислого цинка ($ZnSO_4 \pm 7\ H_2O$) растворяют в некотором количестве воды и разбавляют до объема 100 см^3.

4.9 Раствор буферный фосфатный I молярной концентрации $c(KH_2PO_4)$ = 0,02 моль/дм^3 и pH = 4,3

2,72 г однозамещенного фосфата калия по 4.3 помещают в стакан подходящей вместимости и растворяют в 800 см^3 воды. К полученному раствору по каплям добавляют фосфорную кислоту по 4.6 до достижения значения pH 4,3. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, объем содержимого в колбе доводят водой до метки.

4.10 Раствор буферный фосфатный II молярной концентрации $c(KH_2PO_4)$ = 0,0125 моль/см^3 и pH = 3,5

1,70 г однозамещенного фосфата калия по 4.3 помещают в стакан подходящей вместимости и растворяют в 800 см^3 воды. К полученному раствору по каплям добавляют фосфорную кислоту по 4.6 до достижения значения pH раствора 3,5. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, объем содержимого в колбе доводят водой до метки.

4.11 Подвижная фаза для ВЭЖХ (смешанный раствор ацетонитрила и фосфатного буферного раствора)

Смешивают точно отмеренные объемы выбранного для приготовления подвижной фазы фосфатного буферного раствора и ацетонитрила в соотношении, приведенном в приложении А (А.5). Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с подходящим размером диаметра пор (например, 0,45 мкм), после чего раствор дегазируют любым приемлемым способом, например с помощью ультразвуковой бани в течение 5 мин. Подвижную фазу готовят в день использования.

4.12 Контрольный раствор (готовится по выбору пользователя настоящего стандарта)

Готовят контрольный раствор, содержащий ацесульфам калия, аспартам, сахарин, 5-бензил-3,6-диоксо-2-пиперазинуксусную кислоту (дикетопиперазин), аспартилфенилаланин, фенилаланин, кофеин, сорбиновую и бензойную кислоты, теобромин, оксиметилфурфурол и ванилин.

Навески ацесульфама калия массой 30 мг, аспартама массой 220 мг, натриевой соли сахарина массой 20 мг, дикетопиперазина массой 10 мг, аспартилфенилаланина и фенилаланина массой 10 мг, кофеина массой 60 мг, сорбиновой и бензойной кислот массой 100 мг, теобромина массой 70 мг, оксиметилфурфурола массой 20 мг и ванилина массой 100 мг, взятые с точностью до 0,1 мг, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Объем содержимого в колбе доводят водой до метки.

20 см^3 полученного раствора пипеткой переносят в другую мерную колбу вместимостью 100 см^3, объем раствора в колбе доводят водой до метки.

4.13 Основной стандартный раствор

Навески ацесульфама калия, аспартама и натриевой соли сахарина массами по 100 мг, взвешенные с точностью до 0,1 мг, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3. В колбу добавляют некоторое количество воды для растворения ее содержимого, после чего объем раствора в колбе доводят водой до метки. Массовая концентрация каждого подсластителя в полученном растворе составляет 1 г/дм^3.

4.14 Градуировочные растворы (указанный диапазон массовых концентраций носит рекомендательный характер)

4.14.1 Градуировочный раствор I

10 см^3 основного стандартного раствора по 4.13 пипеткой переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, объем раствора в колбе доводят водой до метки. Массовая концентрация каждого подсластителя в полученном растворе составляет 100 мг/дм^3.

4.14.2 Градуировочный раствор II

5 см^3 основного стандартного раствора по 4.13 пипеткой переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, объем раствора в колбе доводят водой до метки. Массовая концентрация каждого подсластителя в полученном растворе составляет 50 мг/дм^3.

4.14.3 Градуировочный раствор III

1 см^3 основного стандартного раствора по 4.13 пипеткой переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, объем содержимого в колбе доводят водой до метки. Массовая концентрация каждого подсластителя в полученном растворе составляет 10 мг/дм^3.

5 Средства измерений и вспомогательное оборудование

Для проведения испытаний используют общеупотребительные средства измерений и вспомогательное оборудование, в частности перечисленные ниже.

5.1 Блендер высокоскоростной или гомогенизатор.

5.2 Колбы мерные вместимостью 1000, 500 и 100 см^3.

5.3 Стакан лабораторный вместимостью 1000 см^3.

5.4 Пипетки вместимостью 100, 25, 20, 10, 5 и 1 см^3.

5.5 Микропипетка (пипеточный дозатор) вместимостью 1000 мм^3.

5.6 Цилиндр градуированный вместимостью 1000 см^3.

5.7 Бумага фильтровальная, обеспечивающая среднюю скорость фильтрации.

5.8 Баня ультразвуковая.

5.9 Центрифуга лабораторная, обеспечивающая центробежное ускорение в основании центрифужных пробирок не менее 1400 *g*, в комплекте с центрифужными пробирками подходящей вместимости.

5.10 Устройство для дегазации растворителей (рекомендуется в качестве альтернативы способу дегазации с использованием ультразвуковой бани).

5.11 Фильтры мембранные размером диаметра пор не более 0,45 мкм.

5.12 Держатель мембранных фильтров с подходящим шприцем.

5.13 Патрон для твердофазной экстракции, заполненный обращенно-фазовым сорбентом с привитыми октадецильными группами (RP C 18), содержащий 500 мг сорбента.

5.14 Хроматограф жидкостный, укомплектованный спектрофотометрическим детектором, пригодным для измерения оптической плотности при длине волны 220 нм (предпочтителен диодно-матричный детектор), и самописцем или интегратором, позволяющим измерять высоту и площадь пиков.

5.15 Колонка хроматографическая аналитическая, заполненная обращенно-фазовым сорбентом с привитыми октадецильными группами (RP C 18) размером частиц от 3 до 10 мкм, длиной от 100 до 300 мм, внутренним диаметром от 3 до 4 мм, снабженная защитной колонкой с обращенно-фазовым сорбентом (RP C 18) (применение защитной колонки рекомендуется при испытании любых проб твердой консистенции).

Критерием пригодности хроматографической колонки для данного вида анализа является разделение пиков аналита и соседних пиков компонентов матрицы пробы на уровне базовой линии.

В приложении А приведены рекомендуемые условия хроматографического анализа и дана справочная информация о подходящих марках сорбентов и параметрах колонок.

Если при использовании диодно-матричного детектора или при регистрации хроматограммы одновременно при двух длинах волн обнаруживается наложение хроматографического пика аналита на пик какого-либо сопутствующего вещества матрицы пробы, то следует подобрать другую хроматографическую колонку, обеспечивающую необходимое качество хроматографического разделения.

6 Процедура проведения испытания

6.1 Приготовление раствора пробы

6.1.1 Прозрачные жидкие продукты (например, лимонады, кола, напитки)

Анализируемую пробу продукта объемом 20 $см^3$ помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, объем содержимого в колбе доводят водой до метки. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр размером диаметра пор 0,45 мкм, фильтрат используют для хроматографического анализа.

6.1.2 Мутные жидкие продукты (например, соки и молочные напитки с вкусоароматическими добавками)

20 $см^3$ гомогенизированной лабораторной пробы помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$. В колбу вносят 50 $см^3$ воды, 2 $см^3$ раствора Карреза № 1 по 4.7, содержимое колбы перемешивают. Далее в колбу добавляют 2 $см^3$ раствора Карреза № 2 по 4.8. Содержимое колбы тщательно перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин, после чего объем раствора в колбе доводят водой до метки. Полученный раствор фильтруют сначала через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 $см^3$ фильтрата, затем через мембранный фильтр размером диаметра пор 0,45 мкм, фильтрат используют для хроматографического анализа.

Если масса нерастворимого обезжиренного вещества в анализируемой пробе превышает 3 г, необходимо исключить влияние объема образующегося осадка на фактический объем получаемого раствора пробы. Для этого смесь, полученную после добавления к пробе растворов Карреза, центрифугируют при центробежном ускорении не менее 1400 g. Центрифугат количественно фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$. Осадок в пробирке дважды промывают водой, каждый раз центрифугируя полученную смесь. Центрифугаты объединяют в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$, объем раствора в колбе доводят водой до метки. Данную процедуру допустимо проводить также в случаях, когда масса нерастворимого вещества в пробе для анализа составляет менее 3 г.

6.1.3 Джемы, варенье, мармелады и родственные им продукты (исключая фруктовые кефиры)

Из гомогенизированной лабораторной пробы продукта отбирают пробу для анализа массой 20 г, взвешенную с точностью до 1 мг, и помещают ее в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$. В колбу добавляют около 60 $см^3$ воды, после чего колбу выдерживают на ультразвуковой бане при температуре 40 °С в течение 20 мин. Температура бани не должна превышать 40 °С во избежание возможной деградации аспартама.

Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры, после чего к нему добавляют 2 $см^3$ раствора Карреза № 1 по 4.7. Содержимое колбы перемешивают, после чего в колбу добавляют 2 $см^3$ раствора Карреза № 2 по 4.8. Содержимое колбы тщательно перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение 10 мин, после чего объем раствора в колбе доводят водой до метки. Полученный раствор фильтруют сначала через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 $см^3$ фильтрата, затем через мембранный фильтр размером диаметра пор 0,45 мкм, фильтрат используют для хроматографического анализа.

Если масса нерастворимого обезжиренного вещества в анализируемой пробе превышает 3 г, необходимо исключить влияние объема образующегося осадка на фактический объем получаемого раствора пробы. Для этого смесь, полученную после добавления к анализируемой пробе растворов Карреза, центрифугируют при центробежном ускорении не менее 1400 g. Центрифугат количественно фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$. Осадок в пробирке дважды промывают водой, каждый раз центрифугируя полученную смесь. Центрифугаты объединяют в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$, объем содержимого в колбе доводят водой до метки. Данную процедуру допустимо проводить также в случаях, когда масса нерастворимого вещества в пробе для анализа составляет менее 3 г.

6.1.4 Продукты твердой и полутвердой консистенции (например, десерты из творожного сыра, йогурты, деликатесные салаты, кроме заварного крема)

Из гомогенизированной лабораторной пробы продукта отбирают пробу для анализа массой 10—20 г, взвешенную с точностью до 1 мг, и помещают ее в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$. В колбу добавляют около 50 $см^3$ воды, после чего колбу выдерживают на ультразвуковой бане при температуре 40 °С в течение 20 мин. Температура бани не должна превышать 40 °С во избежание возможной деградации аспартама.

Полученный раствор охлаждают до комнатной температуры, после чего к нему добавляют 2 $см^3$ раствора Карреза № 1 по 4.7. Содержимое колбы перемешивают, после чего в колбу добавляют 2 $см^3$ раствора Карреза № 2 по 4.8. Содержимое колбы тщательно перемешивают и выдерживают при ком-

натной температуре в течение 10 мин, после чего объем содержимого в колбе доводят водой до метки. Полученный раствор фильтруют сначала через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 $см^3$ фильтрата, затем через мембранный фильтр размером диаметра пор 0,45 мкм, фильтрат используют для хроматографического анализа.

Если масса нерастворимого обезжиренного вещества в анализируемой пробе превышает 3 г, необходимо исключить влияние объема образующегося осадка на фактический объем получаемого раствора пробы. Для этого смесь, полученную после добавления к анализируемой пробе растворов Карреза, центрифугируют при центробежном ускорении не менее 1400 g. Центрифугат количественно фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$. Осадок в пробирке дважды промывают водой, каждый раз центрифугируя полученную смесь. Центрифугаты объединяют в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$, объем содержимого в колбе доводят водой до метки. Данную процедуру допустимо проводить также в случаях, когда масса нерастворимого вещества в пробе для анализа составляет менее 3 г.

В случае матриц сложного состава рекомендуется проводить дополнительную очистку экстракта с использованием патрона для твердофазной экстракции по 5.13 с целью защиты хроматографической колонки для ВЭЖХ-анализа, поскольку обработка экстракта растворами Карреза не позволяет удалить красители, вкусовые и ароматизирующие добавки и жир. Для этого после обработки растворами Карреза и фильтрации порцию экстракта объемом 2 $см^3$ пропускают через патрон для твердофазной экстракции, предварительно активированный путем пропускания через него 3 $см^3$ метанола и 20 $см^3$ воды. Для элюирования анализируемых компонентов с патрона через него пропускают 20 $см^3$ подвижной фазы по 4.11. Элюат фильтруют через мембранный фильтр размером диаметра пор 0,45 мкм, фильтрат используют для хроматографического анализа.

6.1.5 Заварной крем

Анализируемую пробу продукта массой 10 г, взвешенную с точностью до 1 мг, помещают в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$. В колбу добавляют около 400 $см^3$ воды, дальнейшую обработку растворами Карреза проводят по процедуре, описанной в 6.1.4, используя при этом порции растворов Карреза № 1 и Карреза № 2 объемом по 6 $см^3$.

Полученный раствор фильтруют сначала через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 $см^3$ фильтрата, затем через мембранный фильтр размером диаметра пор 0,45 мкм, фильтрат используют для хроматографического анализа.

Если масса нерастворимого обезжиренного вещества в анализируемой пробе превышает 3 г, необходимо исключить влияние объема образующегося осадка на фактический объем получаемого раствора пробы. Для этого смесь, полученную после добавления к анализируемой пробе растворов Карреза, центрифугируют при центробежном ускорении не менее 1400 g. Центрифугат количественно фильтруют в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$. Осадок в пробирке дважды промывают водой, каждый раз центрифугируя полученную смесь. Центрифугаты объединяют в мерной колбе вместимостью 500 $см^3$, объем раствора в колбе доводят водой до метки. Данную процедуру допустимо проводить также в случаях, когда масса нерастворимого вещества в пробе для анализа составляет менее 3 г.

6.2 Идентификация

Пик аналита на хроматограмме раствора пробы идентифицируют по совпадению его времени удерживания со временем удерживания пика аналита на хроматограмме градуировочного раствора. Идентификацию пика аналита можно также проводить путем сравнения хроматограмм раствора пробы с добавлением и без добавления стандартного раствора аналита либо путем сопоставления спектров поглощения пиков аналита на этих хроматограммах в характерном для данного вещества диапазоне длин волн.

Проводят хроматографический анализ раствора пробы и градуировочных растворов, соблюдая одинаковые объемы инжекции. Интервал между последовательными инжекциями градуировочных растворов должен быть не менее 15 мин. При анализе серии проб следует принять меры по исключению вероятности ошибочного принятия за пик аналита пика вещества, элюирующегося с предыдущей инжекции. Это обеспечивается соблюдением достаточно большого интервала между последовательными инжекциями растворов проб.

Рекомендуется кондиционировать аналитическую колонку для предотвращения появления на хроматограмме пиков, затрудняющих идентификацию пика аналита. В качестве подвижной фазы для кондиционирования колонки рекомендуется использовать раствор, состоящий из 50 объемных частей подвижной фазы по 4.11 и 50 объемных частей ацетонитрила.

В приложении А в качестве рекомендаций приведены варианты условий хроматографического анализа, обеспечивающих качество хроматографического разделения, необходимое для надежной идентификации анализируемых компонентов.

В приложении В приведены типовые хроматограммы определения искусственных подсластителей.

6.3 Количественное определение

Количественное определение проводят по методу внешнего стандарта либо с использованием градуировочного графика.

При использовании метода внешнего стандарта массовую концентрацию аналита в растворе пробы рассчитывают, исходя из площади или высоты пика аналита на хроматограмме раствора пробы и соотношения между массовой концентрацией аналита в градуировочном растворе и площадью или высотой пика аналита на хроматограмме этого раствора. Массовую концентрацию аналита в градуировочном растворе подбирают, исходя из обеспечения максимальной приближенности площади или высоты пика аналита на хроматограмме градуировочного раствора соответствующим значениям, полученным при анализе раствора пробы.

Для получения градуировочного графика проводят хроматографический анализ достаточного числа градуировочных растворов, диапазон массовых концентраций аналита в которых соответствует ожидаемой массовой концентрации аналита в растворе пробы. По результатам этих анализов строят график зависимости высоты или площади пика аналита от его массовой концентрации. Проверяют соблюдение условия нахождения области построения градуировочного графика в области линейной зависимости аналитического сигнала от массовой концентрации аналита.

В качестве альтернативы градуировочному графику допускается использовать градуировочную характеристику, имеющую вид функциональной зависимости, которую находят с помощью регрессионного анализа. В этом случае также проверяют соблюдение условия нахождения области определения градуировочной характеристики в области линейной зависимости аналитического сигнала от массовой концентрации аналита.

Условия хроматографического анализа, подходящие для количественного определения искусственных подсластителей, приведены в приложении А.

7 Обработка результатов

7.1 Метод внешнего стандарта

Содержание искусственного подсластителя w, мг/кг, или массовую концентрацию искусственного подсластителя ρ, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$w(\rho) = \frac{A_1 V_1 m_1 F}{A_2 V_2 m_0} 1000, \quad (1)$$

где A_1 — площадь пика подсластителя, полученная при анализе раствора анализируемой пробы;

A_2 — площадь пика подсластителя, полученная при анализе стандартного раствора;

V_1 — объем приготовленного раствора пробы, см^3 (при соблюдении условий, оговоренных в настоящей методике он равен 100 см^3 или 500 см^3);

V_2 — объем приготовленного градуировочного раствора, см^3;

m_1 — масса стандартного вещества в градуировочном растворе объемом V_2, мг;

m_0 — масса (объем) анализируемой пробы, г (см^3);

F — фактор разбавления, имевшего место при очистке раствора пробы (при колоночной очистке F = 10, при очистке растворами Карреза F = 1).

7.2 Градуировочный график

Содержание искусственного подсластителя w, мг/кг, или массовую концентрацию искусственного подсластителя ρ, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$w(\rho) = \frac{CFV_1}{m_0}, \quad (2)$$

где C — массовая концентрация искусственного подсластителя в растворе анализируемой пробы, определенная по градуировочному графику, мг/дм^3;

F, V_1, m_0 — см. пояснения к формуле (1).

7.3 Представление результата испытания

Результат определения содержания сахарина (в виде натриевой соли или в виде свободного имида), ацесульфама калия и аспартама выражают целым числом без десятичных знаков.

Примечание — Содержание натриевой соли сахарина пересчитывают в содержание сахарина в виде свободного имида умножением результата испытания на коэффициент пересчета, равный 0,7593.

8 Прецизионность измерений

8.1 Общие положения

Подробности межлабораторных испытаний по определению прецизионности настоящей методики приведены в приложении С. Значения характеристик прецизионности, полученные в результате межлабораторных испытаний, могут быть не применимы к содержаниям аналита и типам матриц, отличных от указанных в приложении С.

8.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте испытаний в одной лаборатории одним оператором с использованием одного оборудования в течение короткого промежутка времени, не должно превышать предел повторяемости *r* более чем в 5 % случаев.

Значения предела повторяемости для ацесульфама калия:

марципан	$\bar{x}$ = 256,6 мг/кг,	*r* = 52,0 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 230,8 мг/кг,	*r* = 21,8 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 172 мг/кг,	*r* = 5,8 мг/кг
джем	$\bar{x}$ = 60 мг/кг,	*r* = 8 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 370 мг/кг,	*r* = 30 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 351 мг/кг,	*r* = 20 мг/кг
кондитерский крем	x = 316 мг/кг,	*r* = 15 мг/кг
йогурт	$\bar{x}$ = 264 мг/кг,	*r* = 35 мг/кг
апельсиновый сок	$\bar{x}$ = 24,3 мг/кг,	*r* = 6 мг/кг

Значения предела повторяемости для аспартама:

марципан	$\bar{x}$ = 845,2 мг/кг,	*r* = 41,2 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 468 мг/кг,	*r* = 29,9 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 308 мг/кг,	*r* = 14,2 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 270,7 мг/кг,	*r* = 10,7 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 185 мг/кг,	*r* = 11 мг/кг
напиток с ароматизатором, имитирующим апельсин	$\bar{x}$ = 301 мг/кг,	*r* = 25 мг/кг
джем	$\bar{x}$ = 26 мг/кг,	*r* = 13 мг/кг
сухая смесь для приготовления пирожного	$\bar{x}$ = 3100 мг/кг,	*r* = 600 мг/кг

Значения предела повторяемости для натриевой соли сахарина:

марципан	$\bar{x}$ = 228 мг/кг,	*r* = 28,2 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 116 мг/кг,	*r* = 7,7 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 50,8 мг/кг,	*r* = 3,4 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 75 мг/кг,	*r* = 4 мг/кг
джем	$\bar{x}$ = 60 мг/кг,	*r* = 5 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 82 мг/кг,	*r* = 6 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 64,9 мг/кг,	*r* = 5 мг/кг
кондитерский крем	$\bar{x}$ = 68,4 мг/кг,	*r* = 15 мг/кг
йогурт	$\bar{x}$ = 71,4 мг/кг,	*r* = 25 мг/кг
апельсиновый сок	$\bar{x}$ = 16,1 мг/кг,	*r* = 6 мг/кг

8.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение между результатами двух единичных испытаний, полученными одним методом на идентичном объекте испытаний в разных лабораториях разными операторами с использованием разного оборудования не должно превышать предел воспроизводимости *R* более чем в 5 % случаев.

Значения предела воспроизводимости для ацесульфама калия:

марципан	$\bar{x}$ = 256,6 мг/кг,	*R* = 79,6 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 230,8 мг/кг,	*R* = 64,7 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 172 мг/кг,	*R* = 14,3 мг/кг

джем	$\bar{x}$ = 60 мг/кг,	R = 30 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 370 мг/кг,	R = 66 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 351 мг/кг,	R = 55 мг/кг
кондитерский крем	$\bar{x}$ = 316 мг/кг,	R = 138 мг/кг
йогурт	$\bar{x}$ = 264 мг/кг,	R = 133 мг/кг
апельсиновый сок	$\bar{x}$ = 24,3 мг/кг,	R = 34 мг/кг

Значения предела воспроизводимости для аспартама:

марципан	$\bar{x}$ = 845,2 мг/кг,	R = 165,7 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 468 мг/кг,	R = 108,6 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 308 мг/кг,	R = 104,2 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 270,7 мг/кг,	R = 41,5 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 185 мг/кг,	R = 38 мг/кг
напиток с ароматизатором, имитирующим апельсин	$\bar{x}$ = 301 мг/кг,	R = 88 мг/кг
джем	$\bar{x}$ = 26 мг/кг,	R = 20 мг/кг
сухая смесь для приготовления пирожного	$\bar{x}$ = 3100 мг/кг,	R = 2300 мг/кг

Значения предела воспроизводимости для натриевой соли сахарина:

марципан	$\bar{x}$ = 228 мг/кг,	R = 37,9 мг/кг
фруктовый йогурт	$\bar{x}$ = 116 мг/кг,	R = 45,5 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 50,8 мг/кг,	R = 23,0 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 75 мг/кг,	R = 34 мг/кг
джем	$\bar{x}$ = 60 мг/кг,	R = 47 мг/кг
напиток на основе апельсинового сока	$\bar{x}$ = 82 мг/кг,	R = 19 мг/кг
кола	$\bar{x}$ = 64,9 мг/кг,	R = 30 мг/кг
кондитерский крем	$\bar{x}$ = 68,4 мг/кг,	R = 32 мг/кг
йогурт	$\bar{x}$ = 71,4 мг/кг,	R = 44 мг/кг
апельсиновый сок	$\bar{x}$ = 16,1 мг/кг,	R = 19 мг/кг

9 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать, как минимум, следующие сведения:

- всю информацию, необходимую для идентификации пробы;
- ссылку на настоящий стандарт или на использованный метод;
- дату и время отбора пробы (если известны);
- дату поступления пробы в лабораторию;
- дату проведения испытания;
- результаты испытания с указанием единиц измерения;
- все особенности, наблюдавшиеся при проведении испытания;
- все операции, не оговоренные в настоящем методе или рассматриваемые как необязательные, которые могли повлиять на результат испытания.

Приложение А
(обязательное)

Примеры условий хроматографического анализа, обеспечивающие приемлемое качество хроматографического разделения

А.1 Хроматографические колонки для ВЭЖХ

Колонка, заполненная обращенно-фазовым сорбентом (RP) частицами сферической формы с размером диаметра 3 мкм для колонок длиной 100 мм и размером диаметра до 10 мкм для колонок длиной 300 мм; внутренний размер диаметра колонки 4,0 мм. Колонка должна удовлетворять указанному в настоящем стандарте критерию пригодности для данного вида анализа. Дополнительно рекомендуется использовать защитную колонку.

Сорбенты следующих торговых марок показали положительные результаты при их апробации на пригодность для использования при проведении данного вида анализа: Lichrospher 100 RP 18, Superspher 60 RP Select B, Nucleosil 100-5 C18 AB, Bondapak C18[1].

А.2 Скорость потока подвижной фазы

От 0,8 до 1 $см^3$/мин.

А.3 Объем инжектирования

От 10 до 20 $мм^3$.

А.4 Параметры детектирования

Спектрофотометрическое детектирование при следующих длинах волн:

- 217 нм при определении аспартама;
- 227 нм при определении ацесульфама калия;
- 265 нм при определении сахарина;
- 220 нм при определении всех искусственных подсластителей при их совместном присутствии (используется при отсутствии технической возможности изменения длины волны в процессе хроматографического анализа).

А.5 Состав подвижной фазы

В большинстве случаев приемлемое качество хроматографического разделения достигается использованием подвижных фаз следующего состава:

a) Смесь фосфатного буферного раствора I (4.9) с ацетонитрилом (4.1) в объемном соотношении 90:10;
b) Смесь фосфатного буферного раствора II (4.10) с ацетонитрилом (4.1) в объемном соотношении 80:20;
c) Смесь фосфатного буферного раствора II (4.10) с ацетонитрилом (4.1) в объемном соотношении 85:15;
d) Смесь фосфатного буферного раствора II (4.10) с ацетонитрилом (4.1) в объемном соотношении 90:10;
e) Смесь фосфатного буферного раствора II (4.10) с ацетонитрилом (4.1) в объемном соотношении 95:5;
f) Смесь фосфатного буферного раствора II (4.10) с ацетонитрилом (4.1) в объемном соотношении 98:2,
g) Смесь фосфатного буферного раствора I (4.9) с фосфорной кислотой (4.6), pH = 2,8.

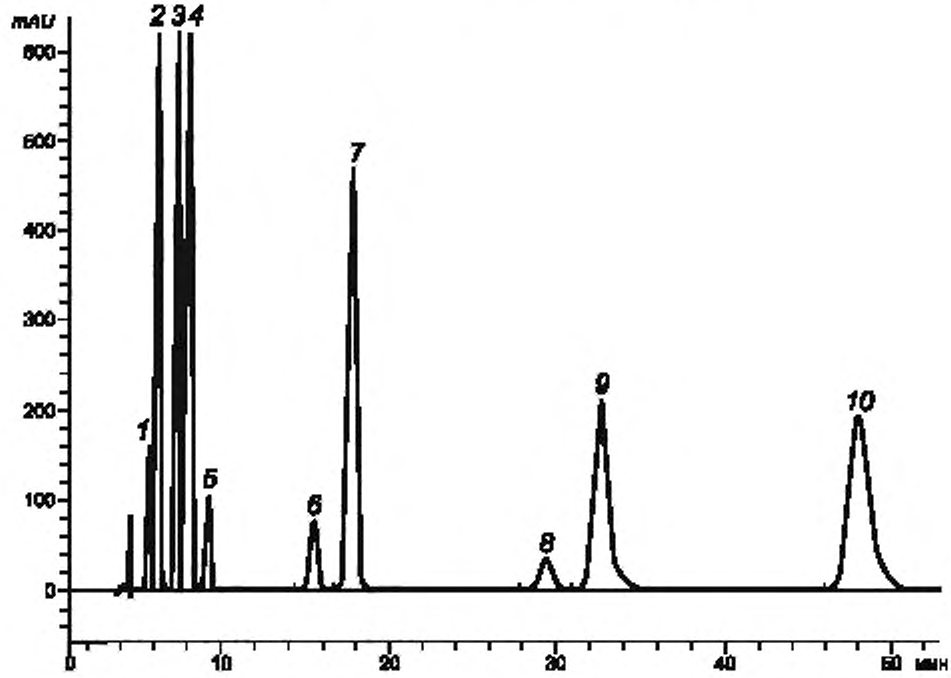
---

[1] Lichrospher 100 RP 18, Superspher 60 RP Select B, Nucleosil 100-5 C18 AB, Bondapak C18 являются примерами подходящих изделий, имеющихся в продаже. Эта информация дана для удобства использования настоящего стандарта и не является рекламной поддержкой.

Приложение В
(справочное)

Хроматограммы контрольных растворов

В.1 Хроматограммы контрольных растворов приведены на рисунках В.1 и В.2



1 — фенилаланин; *2* — ацесульфам калия; *3* — теобромин; *4* — сахарин; *5* — аспартилфенилаланин; *6* — дикетопиперазин; *7* — кофеин, *8* — аспартам; *9* — ванилин; *10* — сорбиновая и бензойная кислоты

Рисунок В.1

Анализируемая проба — контрольный раствор, содержащий фенилаланин, ацесульфам К, теобромин, сахарин, аспартилфенилаланин, дикетопиперазин, кофеин, аспартам, ванилин, сорбиновую и бензойную кислоты.

Условия хроматографического анализа:

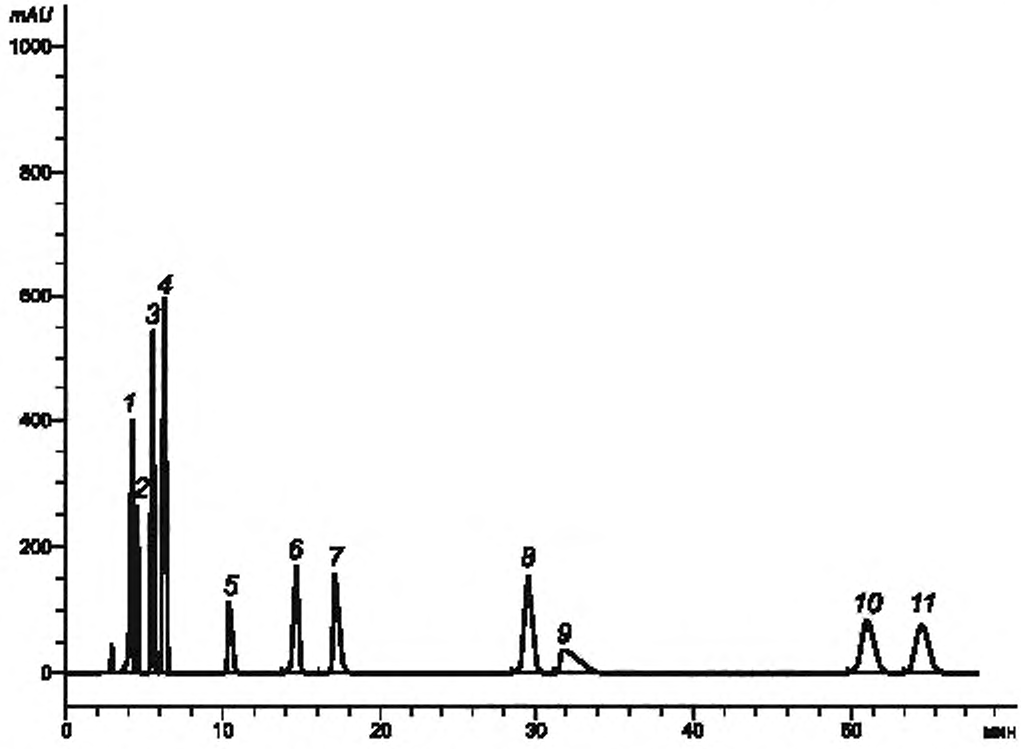
хроматографическая колонка, заполненная сорбентом Bondapak C18 размером частиц 10 мкм, длиной 300 мм, внутренним диаметром 3,9 мм, снабженная защитной колонкой, заполненной сорбентом Bondapak C18 размером частиц 10 мкм;

состав подвижной фазы: смесь буферного раствора на основе однозамещенного фосфата калия ($c(KH_2PO_4)$ = 0,0125 моль/дм^3) с ацетонитрилом (90:10 по объему);

скорость потока — 0,8 см^3/мин;

длина волны детектирования — 220 нм;

инжектируемый объем —10 мм^3.



1 — ацесульфам калия, *2* — фенилаланин; *3* — теобромин, *4* — сахарин; *5* — аспартилфенилаланин; *6* — дикетопиперазин; *7* — кофеин; *8* — ванилин; *9* — аспартам; *10* — сорбиновая кислота; *11* — бензойная кислота

Рисунок В.2

Анализируемая проба — контрольный раствор, содержащий фенилаланин, ацесульфам К, теобромин, сахарин, аспартилфенилаланин, дикетопиперазин, кофеин, аспартам, ванилин, сорбиновую и бензойную кислоты.

Условия хроматографического анализа:

хроматографическая колонка, заполненная сорбентом Lichrospher ® 100 RP 18 размером частиц 5 мкм, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4 мм, снабженная защитной колонкой, заполненной сорбентом Lichrospher ® 100 RP 18 размером частиц 5 мкм;

состав подвижной фазы: смесь буферного раствора на основе однозамещенного фосфата калия ($c(KH_2PO_4)$ = 0,02 моль/дм^3) с ортофосфорной кислотой, pH = 2,8;

скорость потока — 1,0 см^3/мин;

длина волны детектирования — 220 нм;

инжектируемый объем —20 мм^3.

Приложение С
(справочное)

Данные по прецизионности методики

Приведенные ниже данные получены в результате межлабораторных испытаний, выполненных в соответствии с ИСО 5725:1986 [4]. Объектами испытаний были марципан, фруктовый йогурт, кола и напиток на основе апельсинового сока [1], а также кола, напиток с ароматизатором, имитирующим апельсин, джем и смесь для приготовления пирожного [3], а также напиток на основе апельсинового сока, кола, кондитерский крем, йогурт и апельсиновый сок [2].

Таблица С.1 — Результаты межлабораторных испытаний по определению ацесульфама калия

Наименование показателя	Марципан, мг/кг	Фруктовый йогурт, мг/кг	Напиток на основе апельсинового сока, мг/дм^3	Джем, мг/кг
Год проведения испытаний	1992	1992	1992	1992
Количество лабораторий-участников	8	8	13	9
Количество образцов	1	1	1	1
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	7	7	10	9
Количество выбросов (исключенных лабораторий)	1	1	3	0
Количество принятых результатов	38	38	53	9
Среднее значение $\bar{x}$	256,6	230,8	172,0	60
Стандартное отклонение повторяемости s_r	18,7	7,7	2,1[3]	2,9
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	7,3	3,4	1,2	4,8
Предел повторяемости r	52	21,8	5,8	8
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	28,1	22,9	5,8	10,7
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	11,1	10,0	3,0	17,8
Предел воспроизводимости R	79,6	64,7	14,3	30
Значение индекса Горвица	1,6	1,5	0,5	2,2

Таблица С.2 — Результаты межлабораторных испытаний по определению ацесульфама калия

Наименование показателя	Напиток на основе апельсинового сока, мг/дм^3	Кола, мг/дм^3	Кондитерский крем, мг/кг	Йогурт, мг/кг	Апельсиновый сок, мг/дм^3
Год проведения испытаний	1995	1995	1995	1995	1995
Количество лабораторий-участников	12	12	11	11	11
Количество образцов	2	2	2	2	2
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	11	11	8	10	7
Количество выбросов (исключенных лабораторий)	1	1	3	1	4

Окончание таблицы С.2

Наименование показателя	Напиток на основе апельсинового сока, мг/дм^3	Кола, мг/дм^3	Кондитерский крем, мг/кг	Йогурт, мг/кг	Апельсиновый сок, мг/дм^3
Количество принятых результатов	22	22	16	20	14
Среднее значение $\bar{x}$	370	351	316	264	24,3
Стандартное отклонение повторяемости s_r	10,9	7,3	5,4	12,4	1,9
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	3	2	2	5	8
Предел повторяемости r	30	20	15	35	6
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	23,5	19,7	49,3	47,6	12,2
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	6	6	16	18	50
Предел воспроизводимости R	66	55	138	133	34
Значение индекса Горвица	1,0	0,8	2,3	2,6	5,1

Таблица С.3 — Результаты межлабораторных испытаний по определению аспартама

Наименование показателя	Марципан, мг/кг	Фруктовый йогурт, мг/кг	Напиток на основе апельсинового сока, мг/дм^3	Кола, мг/дм^3
Год проведения испытаний	1992	1992	1992	1991
Количество лабораторий-участников	8	8	13	8
Количество образцов	1	1	1	1
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	7	8	13	8
Количество выбросов (исключенных лабораторий)	1	0	0	0
Количество принятых результатов	35	43	68	43
Среднее значение $\bar{x}$	845,2	468,0	308,0	270,7
Стандартное отклонение повторяемости s_r	14,6	10,6	5,0	3,8
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	1,7	2,3	1,6	1,4
Предел повторяемости r	41,2	29,9	14,2	10,7
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	58,6	38,4	36,8	14,7
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	7,0	8,3	12,1	5,5
Предел воспроизводимости R	165,7	108,6	104,2	41,5
Значение индекса Горвица	1,2	1,4	1,5	0,8

Таблица С.4 — Результаты межлабораторных испытаний по определению аспартама

Параметр	Кола, мг/дм^3	Напиток с ароматизатором, имитирующим апельсин, мг/дм^3	Джем, мг/кг	Смесь для приготовления пирожного, мг/кг
Год проведения испытаний	1993	1993	1993	1993
Количество лабораторий-участников	9	9	5	9
Количество образцов	1	1	1	1
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	9	9	4	8
Количество выбросов (лабораторий)	0	0	1	1
Количество принятых результатов	9	9	4	8
Среднее значение $\overline{x}$	185	301	26	3100
Стандартное отклонение повторяемости s_r	3,9	8,9	4,6	214
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	2,1	3,0	17,7	6,9
Предел повторяемости r	11	25	13	600
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	13,6	31,4	7,1	821
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	7,3	10,4	27,5	26,5
Предел воспроизводимости R	38	88	20	2300
Значение индекса Горвица	1,0	1,4	2,8	5,5

Таблица С.5 — Результаты межлабораторных испытаний по определению сахарина (в виде натриевой соли)

Параметр	Марципан, мг/кг	Фруктовый йогурт, мг/кг	Напиток на основе апельсинового сока, мг/дм^3	Кола, мг/дм^3	Джем, мг/кг
Год проведения испытаний	1992	1992	1992	1993	1993
Количество лабораторий-участников	8	8	13	9	9
Количество образцов	1	1	1	1	1
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	6	8	12	8	8
Количество выбросов (исключенных лабораторий)	2	0	1	1	1
Количество принятых результатов	30	46	63	8	8
Среднее значение $\overline{x}$	228,0	116,0	50,8	75	60
Стандартное отклонение повторяемости s_r	10,0	2,7	1,2	1,4	1,8
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	4,4	2,4	2,4	1,9	3,0
Предел повторяемости r	28,2	7,7	3,4	4	5
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	13,5	16,1	8,1	12,1	16,8
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	5,9	14,0	16,2	16,2	28,0
Предел воспроизводимости R	37,9	45,5	23,0	34	47
Значение индекса Горвица	4,1	1,8	2,0	1,7	2,8

Таблица С.6 — Результаты межлабораторных испытаний по определению сахарина (в виде натриевой соли)

Параметр	Напиток на основе апельсинового сока, мг/дм^3	Кола, мг/дм^3	Кондитерский крем, мг/кг	Йогурт, мг/кг	Апельсиновый сок, мг/дм^3
Год проведения испытаний	1995	1995	1995	1995	1995
Количество лабораторий-участников	12	12	11	11	11
Количество образцов	2	2	2	2	2
Количество лабораторий, оставшихся после исключения выбросов	10	11	10	10	8
Количество выбросов (исключенных лабораторий)	2	1	1	1	3
Количество принятых результатов	20	22	20	20	16
Среднее значение $\bar{x}$	82	64,9	68,4	71,4	16,1
Стандартное отклонение повторяемости s_r	2,0	2,0	5,5	8,9	2,3
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r, %	2	3	8	12	14
Предел повторяемости r	6	5	15	25	6
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R	6,7	10,6	11,3	15,8	6,9
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R, %	8	16	17	22	43
Предел воспроизводимости R	19	30	32	44	19
Значение индекса Горвица	1,0	1,9	1,9	2,6	4,1

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов ссылочным национальным стандартам Российской Федерации (и действующим в этом качестве межгосударственным стандартам)

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
EN ИСО 3696	MOD	ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) Вода для лабораторного анализа. Технические условия

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

- MOD — модифицированный стандарт.

Библиография

[1] Untersuchung von Lebensmitteln; Bestimmung von Acesulfam-K, Aspartam und Saccharin-Natrium in Lebensmitteln L 00.00-28, Mai 1994. In «Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Badarfsgegenstaenden /Bundesgesundheimsamt. Loseblattausgabe, Stand Mai 1994 Bd 1. Berlin, Koeln: Beuth Verlag GmbH

[2] Willets P., Hawkins S., Breneton P., Wood R.: Determination of intense sweeteners in foodstuffs. Collaborative trial, J. Assoc. Publ. Analysts, 1996, 32, 53—97

[3] Determination of Aspartam, Acesulfam-K and Saccharin in Foodstuffs, Collaborative study, May 1993, IFBM, France

[4] ИСО 5725:1986 Точность методов испытаний. Определение повторяемости и воспроизводимости стандартного метода испытаний путем межлабораторных испытаний

УДК 663/664:543:544.53:006.354 ОКС 67.220.20 Н09 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: продукты пищевые, определение ацесульфама калия, аспартама, сахарина, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, повторяемость, воспроизводимость

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.И. Варенцова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 17.08.2011. Подписано в печать 08.09.2011. Формат 60 × 84 1/8 Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 1,95. Тираж 211 экз. Зак. 833.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник»,
117418 Москва, Нахимовский проспект, 31, к. 2.