ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53193— 2008

НАПИТКИ АЛКОГОЛЬНЫЕ И БЕЗАЛКОГОЛЬНЫЕ

Определение кофеина, аскорбиновой кислоты и ее солей, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза

Издание официальное

БЗ 1—2009/591

Москва
Стандартинформ
2010

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 РАЗРАБОТАН Группой компаний «Люмэкс» (Санкт-Петербург)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 декабря 2008 г. № 648-ст

4 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, 2010

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 Термины и определения 2
4 Сущность метода 2
5 Средства измерений, стандартные образцы, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы 2
6 Отбор проб 3
7 Подготовка к проведению испытаний 3
8 Проведение испытаний 7
9 Обработка результатов испытаний 8
10 Метрологические характеристики 9
11 Контроль качества результатов измерений 9
Приложение А (справочное) Примеры электрофореграмм 10
Библиография 11

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

НАПИТКИ АЛКОГОЛЬНЫЕ И БЕЗАЛКОГОЛЬНЫЕ

Определение кофеина, аскорбиновой кислоты и ее солей, консервантов и подсластителей методом капиллярного электрофореза

Alcoholic and non-alcoholic drinks and beverages. Determination of caffeine, ascorbic acid and its salts, preservatives and sweeteners using capillary electrophoresis method

Дата введения — 2010—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод капиллярного электрофореза для определения массовой концентрации кофеина, аскорбиновой кислоты и ее солей, консервантов (сорбиновой и бензойной кислот и их солей), подсластителей (ацесульфама *К*, сахарина и его солей) в слабоалкогольных и безалкогольных напитках, винах и виноматериалах, соках и сокосодержащих напитках.

Диапазон измеряемых значений массовой концентрации указанных соединений составляет 10—1000 мг/дм^3.

Определению не мешают другие подсластители (аспартам, цикламат), синтетические пищевые красители, витамины группы В и ванилин в концентрациях, характерных для анализируемых напитков.

В условиях проведения анализа невозможно разделение индивидуальных форм нормирования сорбиновой, бензойной, аскорбиновой кислот и сахарина.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025—2006 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ Р 51144—98 Продукты винодельческой промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) Вода для лабораторного анализа. Технические условия

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4199—76 Реактивы. Натрий тетраборнокислый 10-водный. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6687.0—86 Продукция безалкогольной промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 10652—73 Реактивы. Соль динатриевая этилендиамин-N, N, N′, N′-тетрауксусной кислоты 2-водная (трилон Б). Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26313—84 Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб

Издание официальное

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **форма нормирования:** Конкретная химическая форма аскорбиновой, сорбиновой, бензойной кислот и сахарина, содержание которой нормируется в напитке.

3.2 **форма определения:** Химическая форма аскорбиновой, сорбиновой, бензойной кислот и сахарина, в единицах массовой концентрации которой выражается результат измерений при обработке электрофореграмм с использованием градуировочной зависимости.

3.3 **форма взвешивания:** Химическая форма аскорбиновой, сорбиновой, бензойной кислот и сахарина, используемая для приготовления исходного раствора путем взятия навески.

4 Сущность метода

Метод измерений основан на разделении и количественном определении массовой концентрации анализируемых компонентов методом капиллярного электрофореза в варианте мицеллярной электрокинетической хроматографии. Детектирование проводят по собственному поглощению компонентов при длине волны 254 нм.

5 Средства измерений, стандартные образцы, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы

Система капиллярного электрофореза (например [1]) (далее — прибор) с положительной полярностью источника высокого напряжения от 1 до 25 кВ, оснащенная кварцевым капилляром (внутренний диаметр 75 мкм, эффективная длина не менее 50 см), фотометрическим или спектрофотометрическим детектором, позволяющим регистрировать оптическое поглощение в диапазоне длин волн от 220 до 280 нм, и компьютером с программным обеспечением для регистрации и обработки электрофореграмм.

Весы лабораторные общего назначения высокого или специального класса точности по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 или 210 г и ценой наименьшего деления не более 0,1 мг.

Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1, 2, 5 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 100, 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 50 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Пипетка с одной отметкой 2-го класса точности вместимостью 5, 10 и 50 $см^3$ по ГОСТ 29169.

Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема от 10 до 100 и от 100 до 1000 $мм^3$.

pH-метр любого типа с диапазоном измерений pH от 1 до 14 с пределом допускаемой абсолютной погрешности не более $\pm 0,05$.

Центрифуга лабораторная с частотой вращения не менее 5000 $мин^{-1}$.

Пробирки одноразовые типа Эппендорф вместимостью 1,5 $см^3$ [2].

Колбы плоскодонные вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Насос водоструйный по ГОСТ 25336.

Баня водяная.

Фильтры целлюлозно-ацетатные, размер пор 0,2 мкм, диаметр 25 мм [3].

Оправа для целлюлозно-ацетатного фильтра.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода для лабораторного анализа по ГОСТ Р 52501 первой степени чистоты.

Натрий тетраборнокислый, стандарт-титр, молярная концентрация 0,05 моль/дм^3 (молярная концентрация эквивалента 0,1 моль/дм^3) или натрий тетраборнокислый десятиводный, х.ч. по ГОСТ 4199.

Додецилсульфат натрия, ч.д.а. или х.ч. [4].

Гидроксид натрия, х.ч. по ГОСТ 4328.

Этилендиамин — N,N,N′,N′-тетрауксусной кислоты динатриевая соль, 2-водная (трилон Б), ч.д.а. по ГОСТ 10652.

Сорбат калия, массовая доля основного вещества не менее 99 %.

Аскорбиновая кислота, фармакопейная.

Бензоат натрия, ч. [5].

Кофеин фармакопейный или импортный, массовая доля основного вещества не менее 99 %.

Ацесульфам *К*, массовая доля основного вещества не менее 99 %.

Сахаринат натрия кристаллогидрат, массовая доля основного вещества не менее 99 %.

Допускается использование других средств измерений, материалов и реактивов, имеющих аналогичные или лучшие метрологические и технические характеристики.

6 Отбор проб

Отбор проб вин и виноматериалов — по ГОСТ Р 51144, алкогольных и безалкогольных напитков — по ГОСТ 6687.0, соков и сокосодержащих напитков — по ГОСТ 26313.

7 Подготовка к проведению испытаний

7.1 Подготовка стеклянной посуды

Для мытья стеклянной посуды используют только концентрированную серную кислоту или концентрированную азотную кислоту. После мытья кислотой посуду многократно ополаскивают дистиллированной водой.

7.2 Приготовление вспомогательных растворов

7.2.1 Приготовление раствора гидроксида натрия массовой концентрации 20 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают от 50 до 60 см^3 дистиллированной воды, 2 г гидроксида натрия, тщательно перемешивают. По окончании растворения доводят дистиллированной водой до метки. Срок хранения в сосуде из полиэтилена с плотно завинчивающейся крышкой — не более 2 мес.

7.2.2 Приготовление раствора натрия тетраборнокислого молярной концентрации 0,05 моль/дм^3 (молярная концентрация эквивалента 0,1 моль/дм^3)

Раствор готовят из стандарт-титра по прилагаемой к нему инструкции. Раствор сохраняют в плотно закрытом полиэтиленовом сосуде в условиях, исключающих поглощение углекислого газа. Срок хранения — не более 2 мес.

При отсутствии стандарт-титра раствор готовят в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 путем растворения 19,07 г натрия тетраборнокислого десятиводного в свежепрокипяченной дистиллированной воде и разбавления до метки этой же водой.

7.2.3 Приготовление раствора додецилсульфата натрия молярной концентрации 0,2 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 1,44 г додецилсульфата натрия, добавляют 10 см^3 дистиллированной воды, тщательно перемешивают, выдерживают на водяной бане при температуре от 40 °С до 45 °С до полного растворения и после охлаждения доводят до метки дистиллированной водой. Срок хранения раствора — не более 3 мес.

7.2.4 Приготовление рабочего буферного раствора (ведущий электролит)

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают при помощи пипеток 5 см^3 раствора натрия тетраборнокислого по 7.2.2, 5 см^3 раствора додецилсульфата натрия по 7.2.3 и доводят до метки дистиллированной водой. Тщательно перемешивают и фильтруют через целлюлозно-ацетатный фильтр в другой сосуд с завинчивающейся крышкой, отбрасывая первую порцию фильтрата от 1 до 1,5 см^3.

В ведущем электролите молярная концентрация натрия тетраборнокислого составляет 10 ммоль/дм^3, молярная концентрация додецилсульфата натрия 40 ммоль/дм^3.

Срок хранения раствора в сосуде из полиэтилена — не более 1 мес.

Перед использованием рабочий буферный раствор дегазируют центрифугированием от 3 до 5 мин при частоте вращения 5000 мин$^{-1}$.

Примечание — При необходимости объем приготавливаемого буферного раствора можно уменьшить или увеличить.

7.2.5 Приготовление раствора трилона Б молярной концентрации 0,05 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 1,86 г трилона Б, добавляют от 50 до 60 см^3 дистиллированной воды, выдерживают на водяной бане при температуре не более 50 °С до полного растворения, охлаждают, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Срок хранения раствора в сосуде из полимерного материала — не более одного года.

7.3 Приготовление растворов для проведения градуировки прибора

7.3.1 Приготовление исходных растворов определяемых компонентов номинального значения массовой концентрации 1000 мг/дм^3

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают навеску соответствующей формы взвешивания соединения (см. таблицу 1), допускаемое отклонение массы навески от указанного в таблице 1 составляет ±5 мг. Навеску растворяют в дистиллированной воде. При приготовлении раствора аскорбиновой кислоты добавляют 2,5 см^3 раствора трилона Б (см. 7.2.5). Разбавляют до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Действительное значение массовой концентрации исходного раствора C_i, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C_i = \frac{m_i}{0{,}025} f_i, \qquad (1)$$

где m_i — масса навески, мг;

0,025 — объем приготовленного раствора, дм^3;

f_i — фактор пересчета (см. таблицу 1);

i — номер компонента.

Срок хранения исходных растворов в холодильнике при температуре (4±2) °С приведен в таблице 1.

Таблица 1

Форма взвешивания	Форма определения	Масса навески, мг	Фактор пересчета	Срок хранения, не более
Ацесульфам *К*	Ацесульфам *К*	25	1	3 мес
Сахаринат натрия	Сахаринат натрия	25	1	3 мес
Бензоат натрия	Бензойная кислота	30	0,85	3 мес
Кофеин	Кофеин	25	1	3 мес
Сорбат калия	Сорбиновая кислота	34	0,75	2 нед
Аскорбиновая кислота	Аскорбиновая кислота	25	1	2 нед

7.3.2 Приготовление градуировочных смесей

Используя исходные растворы индивидуальных компонентов (см. 7.3.1), готовят не менее трех градуировочных смесей, содержащих все определяемые компоненты в диапазонах линейности градуировочных зависимостей (для аскорбиновой и сорбиновой кислот от 4 до 100 мг/дм^3, для остальных компонентов — от 8 до 200 мг/дм^3).

Массовую концентрацию i-го компонента вычисляют по формуле

$$C_{ij} = \frac{C_{ik} \cdot V_k}{V_j}, \qquad (2)$$

где C_{ik} — массовая концентрация i-го компонента в исходной смеси, использованном для приготовления данной смеси, мг/дм^3;

V_k — объем исходной смеси, использованный для приготовления данной смеси, см^3;

V_j — объем приготовленной смеси, см^3.

Срок хранения градуировочных смесей в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С — не более 2 сут.

Рекомендуемый состав градуировочных смесей приведен в таблице 2.

Таблица 2 — Массовая концентрация компонентов в градуировочных смесях

Компонент	Массовая концентрация, мг/дм^3		
	Смесь № 1	Смесь № 2	Смесь № 3
Аскорбиновая кислота, сорбиновая кислота	100	40	4
Бензойная кислота, кофеин, ацесульфам *К*, сахаринат натрия	200	80	8

7.3.3 Приготовление контрольной смеси

Контрольную смесь используют для проверки работоспособности системы и для контроля стабильности градуировочной характеристики.

В мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают по 0,5 см^3 исходного раствора каждого определяемого компонента (см. 7.3.1), доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Номинальные значения массовой концентрации компонентов составляют 20 мг/дм^3. Действительные значения массовой концентрации компонентов рассчитывают по формуле (2).

Срок хранения контрольной смеси в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С — не более 3 сут.

В качестве контрольной смеси допускается использовать градуировочную смесь № 2.

Примечание — Допускается использование иной по качественному и количественному составу контрольной смеси, содержащей определяемые компоненты в концентрациях, соответствующих диапазону построения градуировочной характеристики.

7.4 Подготовка прибора

Подготовку прибора к измерениям проводят в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации. Задают рабочую длину волны спектрофотометрического детектора 254 нм, рабочее напряжение 25 кВ, рабочую температуру 20 °С (при наличии опции), а также параметры ввода проб (время, давление), руководствуясь рекомендациями изготовителя прибора. В карусель автосемплера (при его наличии) помещают растворы, необходимые для промывки капилляра, ведущий электролит, градуировочные смеси и/или подготовленные пробы.

7.5 Подготовка капилляра

7.5.1 Подготовка нового капилляра

Новый капилляр промывают последовательно по 10 мин дистиллированной водой, раствором гидроксида натрия (см. 7.2.1), дистиллированной водой и ведущим электролитом (см. 7.2.4).

7.5.2 Ежедневная подготовка капилляра

В начале рабочего дня капилляр промывают по 5 мин раствором гидроксида натрия (см. 7.2.1) и дистиллированной водой и 10 мин ведущим электролитом (см. 7.2.4). Все промывочные растворы собирают в сливную пробирку, не погружая в нее выходной конец капилляра.

Затем капилляр промывают ведущим электролитом при напряжении 25 кВ в течение 5 мин и проводят контроль стабильности градуировочной характеристики по 7.7.

Между анализами образцов капилляр промывают рабочим буферным раствором в течение 3 мин.

После завершения работ по анализу проб капилляр промывают 10 мин дистиллированной водой и оставляют концы капилляра погруженными в пробирки с дистиллированной водой.

Примечание — При работе с пробами на электрофореграмме может наблюдаться дрейф базовой линии, появление ступеней и смещение времен миграции компонентов, что связано с возможным мешающим влиянием матричных компонентов или примесей. В этом случае рекомендуется:

- увеличивать время промывки ведущим электролитом между анализами;
- проводить короткую промывку под напряжением ведущим электролитом;
- при появлении ступеней заменять свежими порциями рабочий буферный раствор в пробирках на входе и на выходе капилляра;
- промывать капилляр по 3 мин раствором гидроксида натрия, дистиллированной водой и ведущим электролитом.

7.5.3 Хранение капилляра

При перерывах в работе не более одной недели капилляр промывают 10 мин дистиллированной водой и оставляют концы капилляра погруженными в пробирки с дистиллированной водой.

При перерывах в работе на более длительный срок капилляр высушивают и оставляют в сухом состоянии. После сухого хранения для восстановления работоспособности капилляр готовят к работе по 7.5.1.

7.6 Градуировка прибора

Для проведения градуировки прибора анализируют не менее двух раз градуировочные смеси, приготовленные по 7.3.2. Капилляр после каждого анализа промывают по 7.5.2. Непосредственно перед анализом градуировочные растворы центрифугируют в течение 5 мин при частоте вращения 5000 мин$^{-1}$.

Регистрируют не менее двух электрофореграмм каждой градуировочной смеси, проверяют правильность автоматической разметки пиков и при необходимости корректируют ее и проводят градуировку прибора, устанавливая параметры градуировочной характеристики и время миграции каждого компонента.

Задают ширину окна идентификации не более 5 %. Рассчитывают отклонения рассчитанных значений массовой концентрации компонентов в каждой градуировочной точке от действительных значений и коэффициент корреляции.

Градуировочная характеристика должна соответствовать следующим требованиям:

- относительное отклонение рассчитанного значения от действительного значения массовой концентрации компонента в градуировочной смеси не более ± 6 % для кофеина и сахарината натрия и не более ± 10 % для остальных компонентов. Вместо относительного отклонения качество градуировочной характеристики может быть оценено по относительному стандартному отклонению, значение которого должно быть не более 3 % для кофеина и сахарината натрия и не более 5 % для остальных компонентов [6];

- коэффициент корреляции не менее 0,99.

Градуировку прибора проводят заново при замене капилляра, после проведения ремонта или длительного простоя прибора, при смене партии хотя бы одного из компонентов ведущего электролита, при изменении одного из условий проведения анализа (температуры, рабочего напряжения, времени и/или давления при вводе пробы), а также при неудовлетворительных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики (см. 7.7).

7.7 Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят в начале рабочего дня после промывки капилляра согласно 7.5.2, используя контрольную смесь по 7.3.3.

Регистрируют не менее двух электрофореграмм контрольной смеси в условиях, соответствующих анализу градуировочных растворов, проводят автоматическую идентификацию компонентов, установив ширину окна идентификации 5 %, и при необходимости вносят программную коррекцию времени миграции. При помощи градуировочной зависимости (см. 7.6) рассчитывают массовую концентрацию компонентов для каждого ввода.

Проверяют сходимость значений массовой концентрации компонентов по формуле

$$|C_{i1} - C_{i2}| \le 0{,}07 \cdot \overline{C}_i, \qquad (3)$$

где $\overline{C}_i$ — среднеарифметическое значений массовой концентрации i-го компонента в контрольной смеси, полученных по первой и второй электрофореграммам, мг/дм^3;

C_{i1} и C_{i2} — массовая концентрация i-го компонента в растворе, полученная по первой и второй электрофореграммам соответственно, мг/дм^3.

Градуировочная зависимость признается стабильной, если выполняется условие:

$$[\overline{C}_i - C_{ki}] \le 0{,}01 \cdot C_{ki}G, \qquad (4)$$

где $\overline{C}_{ki}$ — действительное значение массовой концентрации компонента в контрольной смеси (см.7.3.3), мг/дм^3;

$\overline{C}_i$ — среднеарифметическое значений массовой концентрации компонента в контрольной смеси, полученных по первой и второй электрофореграммам, мг/дм^3;

G — норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, %.

Значение G принимают равным 0,8 δ, где δ— доверительные границы допускаемой относительной погрешности (см. таблицу 4).

Если условие (4) не выполняется, то промывают капилляр по 7.5.2, процедуру контроля повторяют и при повторном получении неудовлетворительного результата контроля градуировку прибора проводят заново.

8 Проведение испытаний

8.1 Подготовка проб

Если проба не содержит осадка или взвешенных частиц, то ее центрифугируют в течение 5 мин при частоте вращения 5000 мин$^{-1}$, переносят в сухой чистый сосуд или пробирку типа Эппендорф и анализируют согласно 8.2.

Образцы газированных напитков предварительно дегазируют. Для этого порцию напитка не менее 50 см^3 помещают в коническую колбу вместимостью 100 см^3 и подключают к водоструйному насосу. Дегазируют в течение 10 — 15 мин. После дегазирования пробу центрифугируют, как описано выше, и направляют на анализ.

Пробы напитков, в которых определяют содержание аскорбиновой кислоты, вскрывают непосредственно перед проведением испытаний. Вскрытую пробу хранят не более 6 ч плотно закупоренной, не допуская попадания воздуха и прямых солнечных лучей.

Рекомендуется после вскрытия упаковки пробу законсервировать добавлением раствора трилона Б. Для этого в мерную колбу вместимостью 100 см^3 пипеткой помещают 10 см^3 раствора трилона Б (см. 7.2.5), затем пипеткой отбирают 50 см^3 анализируемой пробы, помещают в эту же мерную колбу и доводят до метки дистиллированной водой. Тщательно перемешивают. Срок хранения законсервированной пробы в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С — не более 3 сут.

Если проба содержит осадок или взвешенные частицы, то ее гомогенизируют и отбирают две аликвоты. Каждую аликвоту центрифугируют в течение 5 мин при частоте вращения 5000 мин$^{-1}$. Затем отбирают верхний надосадочный слой жидкости и переносят в сухой чистый сосуд или пробирку типа Эппендорф для дальнейшего анализа. Если такую пробу необходимо разбавить (см. 8.2) или законсервировать раствором трилона Б, то ее сначала тщательно перемешивают, затем отбирают аликвоту, переносят в соответствующую мерную колбу, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. После этого разбавленную и/или законсервированную пробу центрифугируют 5 мин при частоте вращения 5000 мин$^{-1}$, надосадочный слой переносят в сухой чистый сосуд или пробирку типа Эппендорф и анализируют согласно 8.2.

8.2 Проведение измерений

Регистрируют не менее двух электрофореграмм проб, подготовленных по 8.1. Проверяют правильность автоматической разметки пиков и проводят идентификацию компонентов в пробе по совпадению времен миграции компонентов в пробе и при построении градуировочной зависимости (ширина окна идентификации 5 %).

При возникновении сомнений при идентификации компонентов рекомендуется использовать метод добавок. Увеличение высоты соответствующего пика подтверждает правильность идентификации. Добавка должна составлять от 50 % до 150 % от массовой концентрации компонента в пробе.

Если анализируемые компоненты обнаружены, то определяют их массовую концентрацию для каждой электрофореграммы с использованием градуировочной характеристики, установленной по 7.6.

Проверяют сходимость полученных значений массовой концентрации компонентов по формуле (3). Если условие (3) выполняется, то в качестве значения массовой концентрации соответствующего компонента в подготовленной пробе принимают среднеарифметическое полученных значений. Если условие не выполняется, проводят повторную регистрацию электрофореграмм после устранения причины нестабильности.

Если измеренные значения массовой концентрации одного или нескольких компонентов в пробе превышают верхние границы диапазонов градуировочной характеристики, то пробу разбавляют дистиллированной водой так, чтобы массовая концентрация компонентов в полученном растворе находилась в середине линейного диапазона измеряемых значений массовой концентрации, и повторяют регистрацию электрофореграмм.

Коэффициент разбавления пробы Q_1 вычисляют по формуле

$$Q_1 = \frac{V_к}{V_а}, \qquad (5)$$

где $V_к$ — объем разбавленной пробы, см^3;

$V_а$ — объем аликвотной порции пробы, взятой для разбавления, см^3.

Примеры электрофореграмм приведены в приложении А.

Примечание — На электрофореграммах некоторых проб могут наблюдаться дополнительные пики, принадлежащие, в частности, витаминам группы В (после пика кофеина), ванилину (после пика аскорбиновой кислоты) и синтетическим пищевым красителям (перед или после пика ацесульфама *К*). В случае неудовлетворительного разделения пиков аскорбиновой кислоты и ванилина (разрешение меньше 0,7) необходимо изменить условия анализа, установив температуру 45 °С, и построить градуировочную характеристику для аскорбиновой кислоты при этих условиях.

9 Обработка результатов испытаний

Массовую концентрацию компонентов в пробе в форме определения X, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$X = X_{изм} \cdot Q_1 \cdot Q_2, \quad (6)$$

где $X_{изм}$ — результат измерения массовой концентрации компонента в пробе по 8.2, мг/дм^3;

Q_1 — коэффициент разбавления пробы по 8.2. Если разбавление не проводилось, то $Q_1 = 1$;

Q_2 — коэффициент разбавления пробы при консервации трилоном Б по 8.1 ($Q_2 = 2$). Если консервация проб не проводилась, то $Q_2 = 1$.

При анализе проб, не содержащих осадка и взвешенных частиц, в качестве результата измерения массовой концентрации определяемого компонента принимается результат единичного измерения, вычисляемый по формуле (6).

Если анализируются две аликвотные порции (пробы, содержащие осадок или взвешенные частицы), то за результат измерения массовой концентрации компонента в пробе принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, для которых выполняется условие:

$$X_{макс} - X_{мин} \le 0{,}01 \cdot r\overline{X}, \quad (7)$$

где $X_{макс}$ — максимальный результат параллельного определения, мг/дм^3;

$X_{мин}$ — минимальный результат параллельного определения, мг/дм^3;

r — значение предела повторяемости (см. таблицу 4), %.

$\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов параллельных определений, мг/дм^3.

При невыполнении неравенства (7) используют методы проверки приемлемости результатов параллельных определений и установления окончательного результата измерений согласно ГОСТ Р ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Если результаты измерений массовой концентрации компонентов необходимо предоставить в пересчете на определенные формы нормирования, то значения, полученные по формуле (6), умножают на соответствующие коэффициенты пересчета. Например, для наиболее часто встречающихся солей бензойной и сорбиновой кислот значения коэффициентов пересчета приведены в таблице 3.

Таблица 3

Форма определения	Форма нормирования	Коэффициент пересчета
Бензойная кислота	Бензоат натрия	1,18
	Бензоат калия	1,31
Сорбиновая кислота	Сорбат натрия	1,20
	Сорбат калия	1,34

Результаты измерений регистрируют в протоколе испытаний согласно ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025.

Результат измерений представляют в виде $X \pm \Delta$, мг/дм^3, либо $X \pm U$, мг/дм^3,

где X — результат измерений массовой концентрации определяемого компонента, мг/дм^3;

Δ — доверительные границы абсолютной погрешности измерений массовой концентрации определяемого компонента при доверительной вероятности $P = 0{,}95$, мг/дм^3, вычисляемые по формуле

$$\Delta = 0{,}01U\delta, \quad (8)$$

где δ —доверительные границы относительной погрешности результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ по таблице 4, %;

U — расширенная неопределенность при коэффициенте охвата $k = 2$, мг/дм^3, вычисляемая по формуле

$$U = 0{,}01 \cdot X \cdot U_{отн}, \quad (9)$$

где $U_{отн}$ —относительная расширенная неопределенность при коэффициенте охвата $k = 2$ по таблице 4, %.

Допускается результат измерения представлять в виде $X \pm \Delta_л$, мг/дм^3, при условии $\Delta_л \le \Delta$,

где $\Delta_л$ — значение показателя точности измерений (доверительные границы абсолютной погрешности измерений), установленное при реализации настоящего метода в лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений, мг/дм^3;

или $X \pm U_л$, мг/дм^3, при условии $U_л \le U$,

где $U_л$ — значение расширенной неопределенности, установленное в лаборатории при реализации настоящего метода в лаборатории согласно [7] или [8] и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений, мг/дм^3.

Примечание — При необходимости в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6 (подраздел 5.2) для результата измерений указывается число параллельных определений и способ установления результата измерений.

10 Метрологические характеристики

Метод обеспечивает получение результатов измерения с метрологическими характеристиками, не превышающими значений, приведенных в таблице 4.

Таблица 4 — Метрологические характеристики для доверительной вероятности $P = 0{,}95$

Диапазон измерений, мг/дм^3	Относительное значение предела повторяемости r, %	Относительное значение предела воспроизводимости R, %	Доверительные границы* допускаемой относительной погрешности $\pm \delta$, %
Кофеин, сахаринат натрия			
От 10 до 1000 включ.	11	17	12
Аскорбиновая кислота, бензойная кислота, ацесульфам К			
От 10 до 1000 включ.	17	28	20
Сорбиновая кислота			
От 10 до 1000 включ.	22	39	28

* Установленные численные значения доверительных границ допускаемой относительной погрешности соответствуют численным значениям относительной расширенной неопределенности $U_{отн}$ при коэффициенте охвата $k = 2$.

Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях ($X_{1лаб}$ и $X_{2лаб}$, мг/дм^3), проверяют согласно ГОСТ Р ИСО 5725-6 (пункт 5.3.2) с использованием значений предела воспроизводимости, приведенных в таблице 4.

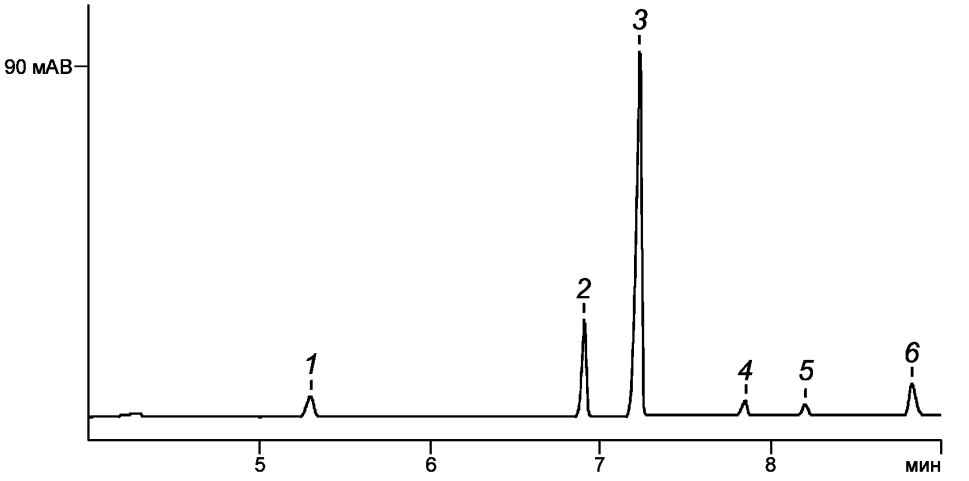
11 Контроль качества результатов измерений

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

Приложение А
(справочное)

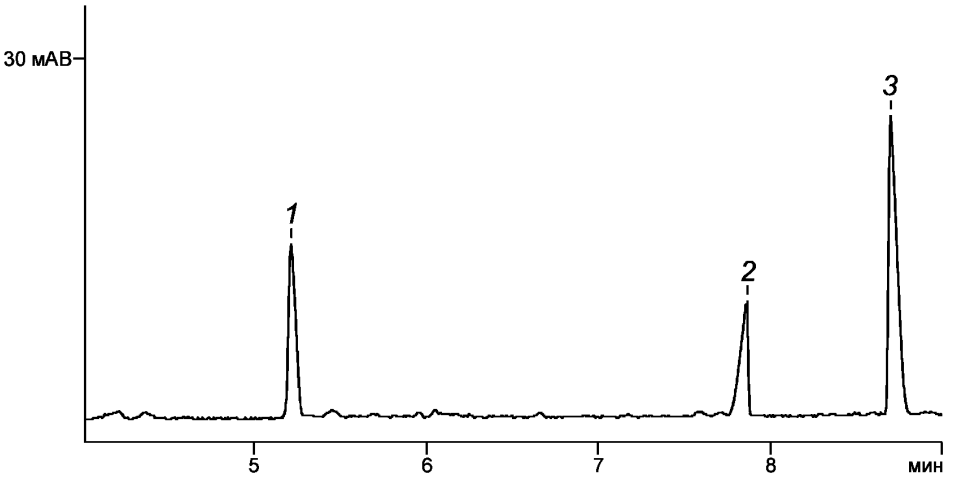
Примеры электрофореграмм

А.1 Примеры электрофореграмм приведены на рисунках А.1 — А.3.



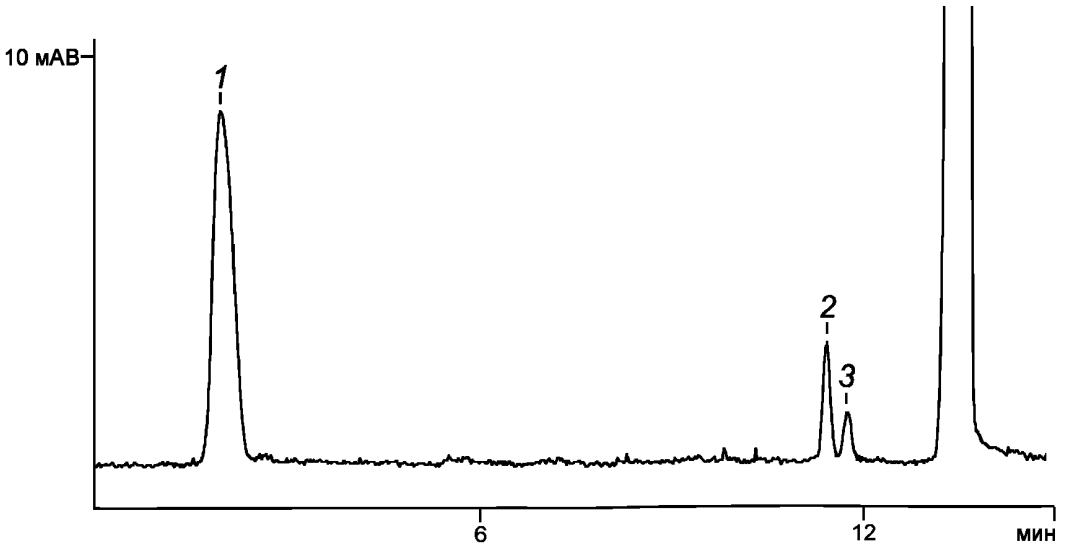
1 — кофеин (80 мг/дм^3); *2* — аскорбиновая кислота (40 мг/дм^3); *3* — сорбиновая кислота (40 мг/дм^3); *4* — бензойная кислота (80 мг/дм^3); *5* — сахаринат натрия (80 мг/дм^3); *6* — ацесульфам *К* (80 мг/дм^3)

Рисунок А.1 — Электрофореграмма градуировочной смеси



1 — кофеин; *2* — бензойная кислота; *3* — ацесульфам *К*

Рисунок А.2 —Электрофореграмма пробы тонизирующего напитка



1 — кофеин; *2* — аскорбиновая кислота; *3* — ванилин

Рисунок А.3 — Фрагмент электрофореграммы пробы энергетического напитка (разбавлен в пять раз)

Библиография

[1] ТУ 4215-023-20506233—2006	Системы капиллярного электрофореза «Капель»
[2] ТУ 62-2-300—80	Пробирки одноразовые типа Эппендорф
[3] ТУ 6-55-221-879—88	Фильтры целлюлозно-ацетатные
[4] ТУ 6-09-64—75	Додецилсульфат натрия
[5] ТУ 6-092785—78	Бензоат натрия, ч.
[6] АЖРЦ3.036.001 ТУ	МультиХром. Система для сбора и обработки хроматографических данных
[7]	Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК «Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях» (2-е изд., 2000) — пер. с англ. — СПб, ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002
[8] Р 50.1.060—2006	Рекомендации по межгосударственной стандартизации «Статистические методы. Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений»

УДК 633.1:006.354 ОКС 67.160.10 67.160.20 Н71 ОКП 91 8514 91 8519

Ключевые слова: напитки, напитки алкогольные, напитки безалкогольные, методы испытаний, капиллярный электрофорез, консерванты, подсластители, кофеин, бензойная кислота, аскорбиновая кислота, сорбиновая кислота, сахаринат натрия, ацесульфам *К*

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *В.Е. Нестерова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 09.12.2009. Подписано в печать 12.01.2010. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,40. Тираж 333 экз. Зак. 17.

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», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru