МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

НАПИТКИ БЕЗАЛКОГОЛЬНЫЕ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСПАРТАМА, САХАРИНА, КОФЕИНА И БЕНЗОАТА НАТРИЯ

Издание официальное

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ
ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
Минск

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Научно-производственным объединением пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности и Техническим комитетом по стандартизации ТК 91 «Пиво-безалкогольная и винодельческая продукция»

ВНЕСЕН Госстандартом Российской Федерации

2 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации 15.03.94 (отчет Технического секретариата № 1)

За принятие проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Азербайджанская Республика	Азгосстандарт
Кыргызская Республика	Кыргызстандарт
Республика Молдова	Молдовастандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Туркменистан	Главная государственная инспекция Туркменистана
Украина	Госстандарт Украины

3 Постановлением Комитета Российской Федерации по стандартизации, метрологии и сертификации от 5 октября 1995 г. № 515 межгосударственный стандарт 30059—93 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с датой введения в действие с 1 января 1996 г.

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Госстандарта России

© ИПК Издательство стандартов, 1996
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2008
Переиздание (по состоянию на июнь 2008 г.)

Поправка к ГОСТ 30059—93 Напитки безалкогольные. Методы определения аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	Минэкономразвития Республики Армения

(ИУС № 6 2019 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

НАПИТКИ БЕЗАЛКОГОЛЬНЫЕ

Методы определения аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия

Non-alcoholic drinks. Methods for determination of aspartame, saccharin, caffeine and sodium benzoate

Дата введения 1996—01—01

1 ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ*

Настоящий стандарт распространяется на безалкогольные напитки различных типов и устанавливает методы определения массовых концентраций аспартама, сахарина, кофеина, бензоата натрия.

2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ*

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3145—84 Часы механические с сигнальным устройством. Общие технические условия

ГОСТ 4172—76 Натрий фосфорнокислый двузамещенный 12-водный. Технические условия

ГОСТ 4198—75 Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 5962—67 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6552—80 Кислота ортофосфорная. Технические условия

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

ГОСТ 6687.2—90 Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения сухих веществ

ГОСТ 10733—79 Часы наручные и карманные механические. Общие технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 24104—88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

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

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

ГОСТ 29227—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 29228—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 2. Пипетки градуированные без установленного времени ожидания

Издание официальное

* См. примечания ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 6).

Сборник стандартов «Пивобезалкогольные напитки. Технические условия. Методы анализа», 1998

ГОСТ 29229—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 3. Пипетки градуированные с временем ожидания 15 с

ГОСТ 29230—91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 4. Пипетки выдувные

3 ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД

3.1* Метод определения массовых концентраций аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия в безалкогольных напитках основан на применении высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Метод является арбитражным.

3.2 При проведении испытаний используют:

- высокоэффективный жидкостный хроматограф с программатором линейного изменения скорости потока, оборудованный спектрофотометрическим детектором длиной волны 210 нм и системой обработки данных (микроЭВМ);
- колонки хроматографические размером 0,15 × 4,6 мм, заполненные фазой С = 18 с диаметром частиц 5—6 мкм;
- установку для выкуумной фильтрации;
- микрошприцы хроматографические вместимостью 10 мм^3;
- бумагу фильтровальную с размером пор 0,5 мкм по ГОСТ 12026;
- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г и погрешностью ± 0,001 г;
- pH-метр, модель «pH-340»;
- колбы мерные наливные 2—50—2, 2—100—2, 2—250—2, 1—1000—2 по ГОСТ 1770;
- пипетки градуированные вместимостью 2, 10, 25 см^3 по ГОСТ 29227, ГОСТ 29228, ГОСТ 29229, ГОСТ 29230;
- термометр жидкостный стеклянный с пределами измерения 0—100 °С и ценой деления 1 °С по ГОСТ 28498;
- бидистиллированную воду;
- ацетонитрил;
- калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 6552, ч;
- бензоат натрия;
- аспартам по нормативному документу;
- сахарин по нормативному документу;
- ортофосфорная кислота по ГОСТ 6552, ч.

Допускается использование импортной посуды и приборов с метрологическими характеристиками и реактивов квалификацией не ниже указанных.

3.3 Отбор проб

3.3.1 Отбор проб — по ГОСТ 6687.0.

3.4 Подготовка к испытанию

3.4.1 Приготовление градуировочного раствора аспартама (550 мг/дм^3), сахарина (150 мг/дм^3), кофеина (100 мг/дм^3) и бензоата натрия (180 мг/дм^3).

Навески аспартама массой 137,5 мг, сахарина массой 37,5 мг, кофеина массой 25,0 мг, бензоата натрия массой 45,0 мг переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3, до половины заполненную бидистиллированной водой температурой 30—35 °С. Перемешивают до полного растворения, затем бидистиллятом доводят до метки.

3.4.2 Приготовление градуировочного раствора аспартама (275 мг/дм^3), сахарина (75 мг/дм^3), кофеина (50 мг/дм^3) и бензоата натрия (90 мг/дм^3)

Отмеряют пипеткой 25 см^3 градуировочного раствора аспартама концентрации 550 мг/дм^3, сахарина 150 мг/дм^3, кофеина 100 мг/дм^3, бензоата натрия 180 мг/дм^3, переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой, хорошо перемешивая.

3.4.3 Приготовление градуировочного раствора аспартама (138 мг/дм^3), сахарина (38 мг/дм^3), кофеина (25 мг/дм^3) и бензоата натрия (45 мг/дм^3)

Отмеряют пипеткой 25 см^3 градуировочного раствора аспартама концентрации 550 мг/дм^3, сахарина 150 мг/дм^3, кофеина 100 мг/дм^3, бензоата натрия 180 мг/дм^3, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки бидистиллированной водой, хорошо перемешивая.

---

* См. примечания ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 6).

3.4.4 *Приготовление подвижной фазы*

1,72 г калия фосфорнокислого однозамещенного (KH_2PO_4) помещают в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, растворяют в бидистиллированной воде, перемешивают до полного растворения. Полученный раствор ортофосфорной кислотой (H_3PO_4) доводят до pH 3,2. 850 $см^3$ полученного буферного раствора смешивают со 150 $см^3$ ацетонитрила (C_2H_3), предварительно отфильтровав их через фильтровальную бумагу диаметром пор 0,5 мкм.

Срок годности подвижной фазы — не более 7 сут.

3.4.5 *Подготовка образцов*

Образцы напитков подвергают дегазации по ГОСТ 6687.2 при температуре не более 25 °С и отфильтровывают через бумажный фильтр.

3.5 Условия хроматографического анализа

Колонка с фазой С-18, 5—6 мкм, 0,15 × 4,6 мм.

Подвижная фаза: 15 % ацетонитрила, 85 % 0,0125 М раствора KH_2PO_4, доведенного фосфорной кислотой до pH 3,2.

Скорость потока: линейный градиент от 1,2 $см^3$/мин до 1,7 $см^3$/мин за 8 мин.

Температура термостата — 35 °С.

Давление на колонке при скорости потока — 1,2 $см^3$/мин — 120 $кг/см^2$ (давление будет возрастать по мере эксплуатации колонки).

Обнаружение по поглощению в УФ-области спектра при длине волны 210 нм 0,02 ед. адсорбции на всю шкалу.

Вводимый объем образца — 10,0 $мм^3$.

3.6 Обработка результатов

3.6.1 Массовую концентрацию аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия, мг/$дм^3$, рассчитывают по программе ЭВМ прибора для метода «абсолютной градуировки» или по формуле

$$X = K \cdot \frac{S}{V},$$

где K — поправочный коэффициент, устанавливаемый по общепринятым правилам для метода «абсолютной градуировки»;

S — площадь пика исследуемого компонента, соответствующая определенной массовой концентрации компонента, мг;

V — объем анализируемой пробы, $дм^3$.

3.6.2 Вычисления проводят до второго десятичного знака.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Окончательный результат округляют до первого десятичного знака.

3.6.3 Относительное допустимое расхождение между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не должно превышать 13 %.

4 СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСПАРТАМА

4.1* Метод основан на определении аспартама в безалкогольных напитках непосредственно после их изготовления с помощью спектрофотометра. Этот метод не может быть использован для напитков, содержащих аминокислоты и вещества белковой природы.

4.2 При проведении испытания используют:

- спектрофотометр СФ-46 с пределом допустимой абсолютной погрешности ± 0,5;
- колориметр фотоэлектрический со светофильтром с λ_{max} = (582 ± 10) нм;
- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г и погрешностью ± 0,0001 г;
- весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 мг и погрешностью ± 0,01 мг;
- аспартам по нормативному документу;
- натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 4172, ч.д.а.;
- калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198, ч.д.а.;
- нингидрин, х.ч. по нормативному документу;
- фруктозу, ч.д.а. по нормативному документу;
- спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962;

---

* См. примечания ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» (с. 6).

- бумагу фильтровальную размером пор 0,5 мкм по ГОСТ 12026;
- колбы мерные наливные 2—100—2, 2—500—2, 2—1000—2 по ГОСТ 1770;
- колбы Кн-1—1000—34 × 35 ТС по ГОСТ 25336;
- пробирки П2Т-10-ТС или П4—10—14/23 по ГОСТ 25336;
- пипетки градуированные вместимостью 2, 10 $см^3$ по ГОСТ 29226, ГОСТ 29228, ГОСТ 29229, ГОСТ 29230;
- термометр жидкостный стеклянный с пределами измерения 0—100 °С и ценой деления 1 °С по ГОСТ 28498;
- электроплитку бытовую по ГОСТ 14919;
- баню водяную;
- pH-метр, модель «pH-340»;
- часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145 или часы наручные механические по ГОСТ 10733, или секундомер.

Допускается использование импортной посуды и приборов с метрологическими характеристиками и реактивов квалификацией не ниже указанных.

4.3 Отбор проб

4.3.1 Отбор проб — по ГОСТ 6687.0.

4.4 Подготовка к испытанию

4.4.1 *Приготовление буферного раствора*

Навеску натрия фосфорнокислого двузамещенного ($Na_2HPO_4 \times 12H_2O$) массой 28,870 г переносят в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$, растворяют в дистиллированной воде, доводят до метки и перемешивают до полного растворения.

Навеску калия фосфорнокислого однозамещенного $(KH_2PO_4)_3$ массой 4,535 г переносят в мерную колбу вместимостью 500 $см^3$, растворяют в дистиллированной воде, доводят до метки и перемешивают до полного растворения. В конической колбе смешивают 484,5 $см^3$ раствора Na_2HPO_4 и 15,5 $см^3$ раствора KH_2PO_4. При необходимости доводят pH буферной смеси данными растворами до (8,0 ± 0,1) единиц.

4.4.2 *Приготовление нингидринного раствора*

Растворяют в 500 $см^3$ буферного раствора 1,5 г фруктозы, после чего растворяют в нем 2,5 г нингидрина.

4.4.3 *Приготовление базового раствора аспартама*

20 мг аспартама растворяют при перемешивании и нагревании до 40 °С в 50—70 $см^3$ дистиллированной воды. Раствор количественно переливают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и доводят содержимое до метки дистиллированной водой.

4.4.4 *Приготовление ряда рабочих растворов аспартама для построения градуировочного графика*

В пробирках вместимостью по 10 $см^3$ каждая готовят рабочие растворы аспартама, объем и концентрация которых указаны в таблице 1.

Таблица 1

Наименование показателя	Номер пробирки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Объем базового раствора аспартама, добавляемого в пробирки, $см^3$	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	—
Объем дистиллированной воды, добавляемой в пробирки, $см^3$	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0	5,5	5,0	4,5	10,0
Концентрация аспартама в рабочих растворах, мг/$см^3$	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	—

4.5 Условия проведения анализа

Температура базового, рабочих растворов аспартама, буферного раствора, нингидринного раствора и раствора этилового спирта — (18 ± 2) °С.

pH раствора нингидрина — (8,0 ± 0,1) ед.

Содержание аспартама в напитках рекомендуется определять непосредственно после розлива напитков.

Нингидринный раствор должен храниться в коричневой стеклянной посуде в холодильнике. Он может применяться в течение двух недель после приготовления.

Градуировочный график строят для каждого нингидринного раствора заново.

4.6 Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика в отдельные пробирки переносят по 6 см^3 каждого рабочего раствора и к ним добавляют 3 см^3 нингидринного раствора.

Пробирки выдерживают 16 мин в кипящей бане, затем за 20 мин охлаждают до (20±1) °С, после чего из каждой пробирки в отдельную пробирку переносят по 3 см^3 раствора, к которому затем добавляют по 5 см^3 этилового спирта объемной долей 60 %.

Оптические плотности растворов определяют на спектрофотометре при длине волны 570 нм в кювете толщиной 10 мм или на ФЭКе при длине волны 582 нм (фильтр № 6). Контрольным раствором служит раствор содержимого пробирки № 9 (нулевого раствора) и этилового спирта объемной долей 60 %, смешанных в таких же количествах, как и другие пробы.

4.7 Проведение анализа

В исследуемых образцах напитка удаляют углекислый газ при температуре не выше 20 °С по ГОСТ 6687.2 и фильтруют образцы через фильтр размером пор не более 0,5 мкм. 20 см^3 профильтрованной пробы переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят дистиллированной водой до метки.

В пробирки вместимостью 10 см^3 переносят по 6 см^3 каждого разбавленного образца и к ним добавляют по 3 см^3 нингидринного раствора.

Пробирки выдерживают 16 мин в кипящей бане, затем за 20 мин охлаждают до 20 °С, после чего из каждой пробирки в отдельную пробирку переносят по 3 см^3 раствора, к которому затем добавляют по 5 см^3 раствора этилового спирта объемной долей 60 %.

Оптические плотности растворов исследуемых образцов определяют в сравнении с нулевой пробой на спектрофотометре при длине волны 570 нм в кювете толщиной 10 мм или на ФЭКе при длине волны 582 нм (фильтр № 6).

4.8 Обработка результатов

4.8.1 Концентрацию аспартама в разбавленных образцах исследуемого напитка определяют по оптическим плотностям образцов, интерполируемых по градуировочному графику.

Концентрацию аспартама c, мг/100 см^3, в напитке определяют по формуле

$$c = c_р \cdot K,$$

где $c_р$ — концентрация аспартама в разбавленных образцах, мг/100 см^3;

K — степень разбавления, равная 5.

4.8.2 Вычисления проводят до второго десятичного знака. За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений. Окончательный результат округляют до первого десятичного знака.

4.8.3 Относительное допустимое расхождение между результатами двух параллельных определений при доверительной вероятности $P = 0{,}95$ не должно превышать 10 %.

Сходимость методики равна 3,7 мг/100 см^3 напитка.

Воспроизводимость методики равна 8,5 мг/100 см^3 напитка.

УДК 663.86.001.4:006.354 МКС 67.160.20 Н79 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: напитки безалкогольные, аспартам, сахарин, кофеин, бензоат натрия, хроматографический метод, спектрофотометрический метод

ПРИМЕЧАНИЯ ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

Указанные в разделе 2 «Нормативные ссылки» к ГОСТ 30059—93:

ГОСТ 5962—67. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000. Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 24104—88 заменен на ГОСТ 24104—2001. Весы лабораторные. Общие технические требования

В информационном указателе «Национальные стандарты» № 7—2007 опубликована поправка

к ГОСТ 30059—93 Напитки безалкогольные. Методы определения аспартама, сахарина, кофеина и бензоата натрия

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 1	безалкогольные	безалкогольные и слабоалкогольные
Пункты 3.1, 4.1	безалкогольных	безалкогольных и слабоалкогольных

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Подписано в печать 13.08.2008. Формат 60 × 84 $^1/_8$. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,70. Тираж 110 экз. Зак. 1064.

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