МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34411— 2018

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение уксусной кислоты ферментативным методом

(EN 12632:1999, NEQ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом технологии консервирования — филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (ВНИИТеК — филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН) при участии Общества с ограниченной ответственностью «Компания Стайлаб» (ООО «Компания Стайлаб»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 мая 2018 г. № 109-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 июля 2018 г. № 372-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34411—2018 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2019 г.

5 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения европейского стандарта EN 12632:1999 «Соки фруктовые и овощные. Ферментативное определение содержания уксусной кислоты (ацетата). Спектрометрический метод определения с использованием NAD» («Fruit and vegetable juices — Enzymatic determination of acetic acid (acetate) content — NAD spectrometric method», NEQ)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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 (www.gost.ru)

© Стандартинформ, оформление, 2018

В Российской Федерации 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, определения, обозначения и сокращения . . . 2
4 Сущность метода . . . 2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы . . . 2
6 Отбор и подготовка проб . . . 3
7 Условия проведения измерений . . . 3
8 Подготовка к проведению определений . . . 4
9 Порядок проведения определений . . . 4
10 Обработка и оформление результатов определений . . . 5
11 Протокол испытаний . . . 7
12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости . . . 7
13 Контроль качества результатов определений в лаборатории . . . 7
14 Требования безопасности . . . 8
Приложение А (справочное) Принцип количественного определения ферментативной активности . . . 9
Приложение Б (справочное) Медленнотекущие реакции . . . 10
Приложение В (справочное) Проверка правильности результатов определений . . . 11
Библиография . . . 12

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение уксусной кислоты ферментативным методом

Juice products.
Determination of acetic acid content by enzymatic method

Дата введения — 2019—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, в том числе концентрированные, нектары, сокосодержащие напитки, пюре и концентрированные пюре, морсы и концентрированные морсы (далее — соковая продукция) и устанавливает ферментативный метод определения (измерения) массовой концентрации уксусной кислоты и ее солей.

Диапазон измерения массовой концентрации уксусной кислоты от 0,15 до 0,5 г/дм^3 включительно.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.0.004—2015 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—2017[1)] Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 12.4.103—83 Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная защитная, средства индивидуальной защиты ног и рук. Классификация

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ ISO 2173—2013 Продукты переработки фруктов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ

ГОСТ ISO 3696—2013[2)] Вода для лабораторного анализа. Технические условия и методы испытания

ГОСТ ИСО 5725-2—2003[3)] Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ ИСО 5725-6—2003[4)] Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

[1)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

[2)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501—2005 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

[3)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002.

[4)] В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

Издание официальное

ГОСТ ИСО/МЭК 17025—2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 26313—2014 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 26671—2014 Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

ГОСТ 28311—89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 33276—2015 Продукция соковая. Методы определения относительной плотности

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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя за текущий год. 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, определения, обозначения и сокращения

3.1 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **массовая концентрация уксусной кислоты:** Содержание уксусной кислоты и ее солей (в пересчете на уксусную кислоту), определенное в соответствии с методом, установленным настоящим стандартом.

3.1.2 **стандартная единица активности фермента (Е):** Количество фермента, которое является катализатором превращения (образования) 1 мкмоль вещества в минуту при температуре 25 °С.

3.2 Обозначения и сокращения

В настоящем стандарте применяют следующие обозначения и сокращения:

АКС — Ацетил-коэнзим А-синтетаза;

КоА — Коэнзим А;

ЦС — Цитратсинтаза ЕС 2.3.3.1 [1];

L-МДГ (MDH) — L-малатдегидрогеназа ЕС 1.1.1.37 [1];

НАД (NAD) — β-никотинамидадениндинуклеотид, окисленная форма;

НАДН (NADH) — β-никотинамидадениндинуклеотид, восстановленная форма;

CAS — уникальный числовой идентификатор химических соединений[1)].

4 Сущность метода

Метод основан на ферментативном преобразовании ацетат ионов в присутствии фермента АКС, аденозин-5'-трифосфата (АТФ) и КоА в ацетил-КоА, который реагирует с оксалоацетатом с образованием цитрата в присутствии ЦС. Оксалоацетат, необходимый для реакции, образуется из малата и НАД в присутствии L-МДГ. В этой реакции НАД восстанавливается до НАДН с последующим спектрофотометрическим измерением количества образовавшегося НАДН, которое эквивалентно содержанию уксусной кислоты.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы

Весы неавтоматического действия специального (I) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,0001 г.

Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 340 нм с пределами допускаемой абсолютной погрешности измерений коэффициента пропускания не более 1 %, или

[1)] По реестру Химической реферативной службы (Chemical Abstracts Service).

спектрофотометр, оснащенный ртутной лампой, позволяющий проводить измерения при длинах волн 365 или 334 нм.

Кюветы из оптического стекла или полимерные с длиной оптического пути 10 мм для проведения фотометрических измерений в интервале длин волн от 334 до 365 нм.

Дозаторы медицинские лабораторные объемом дозирования 1, 0,2 и 0,02 $см^3$ по ГОСТ 28311.

Фильтры мембранные с размером пор 0,45 мкм, диаметром 13 или 47 мм для фильтрования проб.

Фильтры бумажные.

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая фактор разделения не менее 1000 *g*, с ротором и соответствующим адаптером для пробирок.

Мешалка магнитная с угловой скоростью вращения от 400 до 1200 $мин^{-1}$.

Шпатели пластиковые или палочки стеклянные оплавленные длиной от 2 до 5 см для перемешивания содержимого кюветы при проведении фотометрических измерений.

Пробирки центрифужные из полимерного материала вместимостью 15 или 50 $см^3$ с завинчивающимися крышками.

Набор реагентов, включающий[1)]:

- реактив 1 — флакон с буферным раствором триэтаноламина, 8,4 ед. pH, содержащий L-яблочную кислоту, хлорид магния;
- реактив 2 — флакон, содержащий лиофилизаты АТФ, КоА и НАД;
- реактив 3 — суспензия L-МДГ в количестве 1100 Е, ЦС в количестве 270 Е;
- реактив 4 — флакон, содержащий лиофилизат АКС в количестве 5 Е;
- реактив 5 — контрольный раствор уксусной кислоты.

Поливинилполипирролидон (ПВПП) низкомолекулярный или полиамид (ПА).

Вода для лабораторного анализа по ГОСТ ISO 3696, не ниже 2-й степени чистоты.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, а также посуды, материалов и реактивов, по качеству не ниже вышеуказанных.

6 Отбор и подготовка проб

6.1 Отбор проб — по ГОСТ 26313, подготовка проб — по ГОСТ 26671.

6.2 Продукты со стабильной мутной взвесью перед разбавлением тщательно перемешивают и центрифугируют при скорости вращения 4000 $мин^{-1}$ в течение 10 мин и фильтруют через бумажный или мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

6.3 Окрашенную соковую продукцию обесцвечивают путем добавления ПА или ПВПП. К 10 $см^3$ пробы в центрифужную пробирку вместимостью 15 или 50 $см^3$ добавляют около 0,1 г ПА или ПВПП, затем интенсивно встряхивают содержимое пробирки в течение 1 мин, центрифугируют при скорости вращения 4000 $мин^{-1}$ в течение 10 мин и фильтруют через бумажный или мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Для определения используют прозрачный фильтрат.

6.4 Концентрированную соковую продукцию разбавляют водой до заданного значения массовой доли растворимых сухих веществ в соответствии с [2] (приложение 2). Массовую долю растворимых сухих веществ определяют по ГОСТ ISO 2173 или ГОСТ 33276.

7 Условия проведения измерений

При подготовке к проведению измерений и проведении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха ..... (20 ± 5) °С;
- атмосферное давление ..... (97 ± 10) кПа;
- относительная влажность ..... не более 75 %;
- напряжение в питающей сети ..... (220 ± 20) В;
- частота тока в питающей сети ..... (50 ± 1) Гц.

В помещениях, предназначенных для проведения измерений, не допускается загрязненность воздуха рабочей зоны пылью, агрессивными веществами, должны отсутствовать факторы, влияющие на измерения массы и объема.

[1)] Например, готовые к применению наборы фирмы R-Biopharm AG, каталожный номер 10148261035. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность применения наборов других фирм или растворов, приготовленных в лаборатории из отдельных реактивов.

8 Подготовка к проведению определений

8.1 Подготовка растворов реактивов из готового набора

Приготовление растворов реактивов проводят в соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору.

9 Порядок проведения определений

9.1 Приготовление раствора пробы

Для обеспечения достоверности результатов определений количество уксусной кислоты в кювете должно быть от 0,6 до 30 мкг для измерений при 365 нм (или от 0,3 до 15 мкг — для измерений при 334 и 340 нм). Для достижения этого условия пробу разбавляют водой в соответствии с требованиями, указанными в таблице 1, или в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Таблица 1

Ожидаемая массовая концентрация в пробе, г/дм^3, при измерениях на длинах волн		Разбавление водой	Фактор разбавления (F)
340 нм или 334 нм	365 нм		
До 0,15 включ.	До 0,3 включ.	Не разбавляется	1
Св. 0,15 до 1,5 включ.	Св. 0,3 до 3,0 включ.	1 + 9	10
Св. 1,5 до 15 включ.	Св. 3,0 до 30,0 включ.	1 + 99	100
Св. 15	Св. 30,0	1 + 999	1000

Если массовая концентрация уксусной кислоты в растворе пробы менее 0,1 г/дм^3, то ее объем, вносимый в кювету, может быть увеличен до 2,00 см^3. В этом случае следует снизить на соответствующую величину объем воды, добавляемой в кювету, для поддержания на постоянном уровне общего объема инкубационной смеси в кювете.

При высоких значениях начальной оптической плотности (более 1,000) готовят новый раствор, увеличивая разбавление, как указано в таблице 1. Рекомендуется также уменьшить объем раствора пробы в кювете, компенсируя снижение общего объема в кювете увеличением объема воды.

При вычислении массовой концентрации уксусной кислоты необходимо учесть измененный объем раствора пробы в формуле (2).

9.2 Ферментативная реакция и количественное определение уксусной кислоты

Проводят два параллельных определения в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-2 (подраздел 3.14).

В кювету вносят реактивы 1—4 (см. раздел 5), воду и раствор пробы, приготовленный по 9.1, в соответствии с требованиями, указанными в таблице 2, или в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Таблица 2 — Порядок добавления реагентов для проведения измерений

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Объем, вносимый в кюветы, см^3	
	Холостой раствор (контроль)	Раствор пробы
Реактив 1	1,00	
Реактив 2	0,20	
Раствор пробы по 9.1	—	0,10
Вода	2,00	1,90
Шпателем перемешивают растворы в кюветах, проводят измерения оптических плотностей растворов (A_0) относительно оптической плотности воздуха		

Окончание таблицы 2

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Объем, вносимый в кюветы, $см^3$	
	Холостой раствор (контроль)	Раствор пробы
Реактив 3	0,01	
Шпателем перемешивают растворы в кюветах, через 3 мин проводят измерения оптических плотностей растворов (A_1) относительно оптической плотности воздуха		
Реактив 4	0,02	
Шпателем осторожно перемешивают содержимое кювет и через 10—15 мин проводят измерения оптических плотностей растворов (A_2) относительно оптической плотности воздуха. Завершение реакции проверяют измерением оптической плотности каждые 5 мин в течение 30 мин, чтобы установить момент начала увеличения значения оптической плотности на постоянную величину		

10 Обработка и оформление результатов определений

10.1 Основой для вычисления массовой концентрации является нелинейная зависимость между количеством окисленного НАДН и количеством уксусной кислоты (см. приложение А).

Разность значений оптических плотностей ΔA вычисляют по формуле для медленнотекущих реакций, протекающих по нелинейному закону (см. приложение Б).

$$\Delta A = \left[(A_2 - A_0)_{\text{проба}} - \frac{(A_1 - A_0)^2_{\text{проба}}}{(A_2 - A_0)_{\text{проба}}} \right] - \left[(A_2 - A_0)_{\text{контроль}} - \frac{(A_1 - A_0)^2_{\text{контроль}}}{(A_2 - A_0)_{\text{контроль}}} \right], \quad (1)$$

где $(A_2 - A_0)_{\text{проба}}$ — разность оптических плотностей в кювете с раствором пробы, измеренная через 10–15 мин, е. о. п.;

$(A_1 - A_0)_{\text{проба}}$ — разность оптических плотностей в кювете с раствором пробы, измеренная через 2 мин, е. о. п.;

$(A_2 - A_0)_{\text{контроль}}$ — разность оптических плотностей раствора в кювете с холостым раствором, измеренная через 10—15 мин, е. о. п.;

$(A_1 - A_0)_{\text{контроль}}$ — разность оптических плотностей раствора в кювете с холостым раствором, измеренная через 2 мин, е. о. п.

Значение ΔA должно составлять не менее 0,100 ед. Если значение ΔA менее 0,100 ед., то следует повторно приготовить пробу, увеличив ее навеску или уменьшив разбавление.

Если значение ΔA более 1,000 ед. (измерение при 340 или 334 нм) или более 0,500 ед. (измерение при 365 нм), то в пробе присутствует избыток уксусной кислоты. В этом случае пробу необходимо разбавить в соответствии с требованиями 9.1.

10.2 Массовую концентрацию уксусной кислоты C, $г/дм^3$, в растворе пробы вычисляют в соответствии с законом Ламберта — Бера по формуле

$$C = \frac{V \cdot F \cdot M}{\varepsilon \cdot d \cdot V_1 \cdot 1000} \cdot \Delta A, \quad (2)$$

где V — общий объем раствора в кювете (см. таблицу 2), $см^3$;

F — фактора разбавления (см. 9.1);

M — молекулярная масса уксусной кислоты, M = 60,05 г/моль;

ε — молярный коэффициент поглощения НАДН, $дм^3 \cdot ммол^{-1} \cdot см^{-1}$:

- при длине волны 340 нм — 6,3,
- длине волны 365 нм — 3,4 (измерение с ртутной лампой),
- длине волны 334 нм — 6,18 (измерение с ртутной лампой);

d — толщина поглощающего слоя в кювете, см;

V_1 — объем раствора пробы, взятой для определения (см. таблицу 2), $см^3$;

1000 — коэффициент пересчета из $см^3$ в $дм^3$;

ΔA — разность оптических плотностей, е. о. п.

При толщине поглощающего слоя в кювете 1 см и объеме рабочего раствора пробы 0,10 см^3 формула для вычисления массовой концентрации уксусной кислоты C, г/дм^3, преобразуется следующим образом

$$C = \frac{3,23 \cdot F \cdot 60,05}{\varepsilon \cdot 1,00 \cdot 0,10 \cdot 1000} \cdot \Delta A = \frac{1,94 \cdot F}{\varepsilon} \cdot \Delta A, \quad (3)$$

При использовании имеющихся в продаже наборов реактивов численный коэффициент (1,94) в формуле (3) может быть иным из-за изменения суммарного объема (V) в кювете.

10.3 За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение $\overline{C}$, г/дм^3, результатов двух параллельных измерений, относительное расхождение между которыми не превышает допускаемое расхождение

$$|C_1 - C_2| \le 0,01 \cdot r_{отн} \cdot \overline{C}, \quad (4)$$

где C_1, C_2 — результаты параллельных измерений, г/дм^3;

0,01 — коэффициент пересчета от процентов к абсолютным величинам;

$r_{отн}$ — значение предела повторяемости (см. таблицу 3), %.

При невыполнении этого условия получают результаты еще двух параллельных измерений и окончательный результат устанавливают в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Таблица 3 — Значения пределов повторяемости и воспроизводимости показателя точности измерений

Диапазон измерений массовой концентрации уксусной кислоты, г/дм^3	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения результатов двух параллельных измерений при n = 2, P = 0,95) $r_{отн}$, %	Критическая разность (относительное значение допускаемого расхождения результатов измерений, полученных в двух лабораториях при m = 2, P = 0,95) $CD_{0,95}$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при P = 0,95) ± δ, %
0,15—0,5	7	19	9,5
Примечание — Показатели точности метода были установлены по результатам межлабораторных испытаний (межлабораторного эксперимента), проведенных в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-2 (раздел 5) с участием трех лабораторий.			

Правильность полученных результатов контролируют с помощью контрольного раствора из набора (реактив 5) согласно приложению В.

10.4 При определении уксусной кислоты в концентрированной соковой продукции, а также в соковой продукции с высокой вязкостью или очень большим содержанием мякоти результаты определения могут быть пересчитаны на массовую долю X, %, по формуле

$$X = \frac{C \cdot V \cdot 1000}{m}, \quad (5)$$

где C — массовая концентрация, вычисленная по формуле (3), г/дм^3;

V — объем мерной колбы, взятой для разведения концентрированной соковой продукции с высокой вязкостью и/или очень большим содержанием мякоти (см. 6.4), дм^3;

1000 — коэффициент пересчета в проценты;

m — масса концентрированной соковой продукции с высокой вязкостью и/или очень большим содержанием мякоти, взятых для разведения, г.

10.5 Окончательный результат определения в документах, предусматривающих их использование, представляют согласно ГОСТ ИСО/МЭК 17025 с указанием настоящего стандарта в виде

$$\overline{C} \pm \Delta \text{ или } \overline{X} \pm \Delta, \text{ при } P = 0,95, \quad (6)$$

где $\overline{C}$ ($\overline{X}$) — среднеарифметическое значение результатов параллельных измерений массовой концентрации (массовой доли) уксусной кислоты, г/дм^3 (%), признанных приемлемыми по 10.3;

$\pm \Delta$ — границы абсолютной погрешности измерения массовой концентрации (массовой доли) уксусной кислоты, г/дм^3 (%), вычисляемые по формуле

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{C} \text{ или } \Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \quad (7)$$

где δ — значение относительной погрешности (см. таблицу 3), %.

Численное значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границ абсолютной погрешности.

В случае, если массовая концентрация уксусной кислоты выходит за пределы нижней границы диапазона измерений, то приводят следующую запись: «Массовая концентрация уксусной кислоты менее 0,15 г/дм^3».

11 Протокол испытаний

В протоколе испытаний указывают:

- результаты испытаний, полученные в соответствии с настоящим стандартом;
- обозначение настоящего стандарта;
- значение массовой доли растворимых сухих веществ или относительной плотности для концентрированной соковой продукции;
- все рабочие условия, не установленные настоящим стандартом или касающиеся как необязательных, так и любых других подробностей, которые могут повлиять на конечный результат;
- всю информацию, необходимую для идентификации пробы.

12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

12.1 Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

- при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;
- проверке совместимости результатов измерений, полученных при сравнительных испытаниях.

12.2 Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует контрольные пробы, оставленные на хранение.

Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов с допускаемой (критической) разностью $CD_{0,95}$ по формуле

$$\left|\overline{C}_1 - \overline{C}_2\right| \le 0{,}01 \cdot CD_{0,95} \cdot \overline{\overline{C}} \text{ или } \left|\overline{X}_1 - \overline{X}_2\right| \le 0{,}01 \cdot CD_{0,95} \cdot \overline{\overline{X}}, \quad (8)$$

где $\overline{C}_1$, $\overline{C}_2$ $(\overline{X}_1, \overline{X}_2)$ — окончательные результаты измерений массовой концентрации (массовой доли) уксусной кислоты, полученные в первой и второй лабораториях, г/дм^3 (%);

$CD_{0,95}$ — значение критической разности (см. таблицу 3), %;

$\overline{\overline{C}}$, $\overline{\overline{X}}$ — среднеарифметическое значение окончательных результатов измерений массовой концентрации (массовой доли) уксусной кислоты, полученных в первой и второй лабораториях, г/дм^3 (%).

Если допускаемая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, проводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если допускаемая разность превышена, то выполняют процедуры в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.4).

13 Контроль качества результатов определений в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории осуществляют, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности. Проверку стабильности осуществляют с применением контрольных карт Шухарта. Периодичность контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории. Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30. При неудовлетворительных результатах контроля, например при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

14 Требования безопасности

Требования безопасности должны соответствовать положениям, изложенным в руководствах по эксплуатации лабораторного оборудования и инструкции к набору реактивов.

При выполнении определений соблюдают требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007 и ГОСТ 12.4.103.

Помещение, в котором проводят измерения, должно быть оборудовано общей проточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021.

Электробезопасность при работе с электроустановками — по ГОСТ 12.1.019.

Организация обучения работающих безопасности труда — по ГОСТ 12.0.004.

К выполнению определения, обработке и оформлению результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы с лабораторным оборудованием и изучившие настоящий стандарт.

Приложение А
(справочное)

Принцип количественного определения ферментативной активности

А.1 Принцип количественного определения ферментативной активности приведен на рисунках А.1 и А.2.

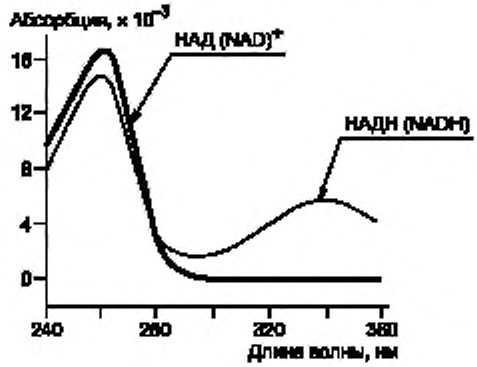


Рисунок А.1 — Различие в спектрах поглощения между окисленной и восстановленной формами никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) в ультрафиолетовой области спектра

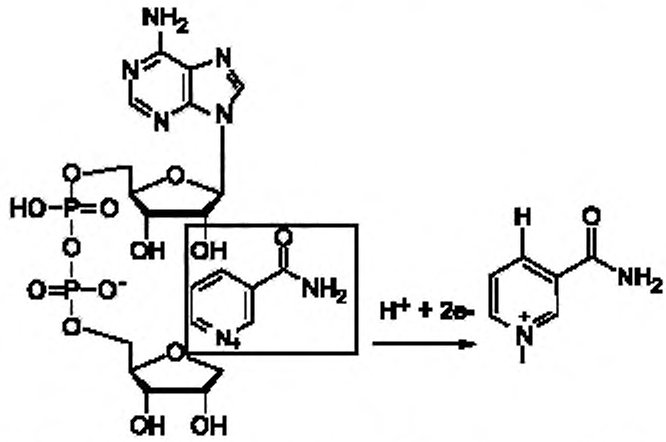


Рисунок А.2 — Реакция обратимого окисления никотинамидадениндинуклеотида

Приложение Б
(справочное)

Медленнотекущие реакции

Б.1 Медленнотекущие реакции возникают вследствие присутствия в матрице пробы ферментов, не указанных в стандарте, а также вследствие взаимодействия побочных компонентов матрицы с реактивами, участвующими в ферментативной реакции.

Б.2 При проведении запланированной ферментативной реакции оптическая плотность через 10—20 мин принимает постоянное значение, которое зависит от скорости специфичной ферментативной реакции. При появлении медленнотекущей реакции оптическая плотность раствора пробы в кювете меняется с течением времени.

Б.3 В случае возникновения медленнотекущей реакции проводят повторные определения оптической плотности раствора пробы в кювете через каждые 2—5 мин. После выполнения пяти-шести повторных определений и при условии достижения постоянного изменения оптической плотности за единицу времени (dA/dt = const) фотометрические измерения прекращают.

Примечание — Этим можно пренебречь, если оптические плотности растворов контроля и пробы измеряются непосредственно друг за другом.

Б.4 По полученным данным строят график зависимости оптической плотности A от времени t (см. рисунок Б.1). Для определения окончательного значения оптической плотности, используемого для вычисления массовой концентрации уксусной кислоты (см. 10.1), экстраполируют кривую на момент внесения фермента в реакционную систему t_0 (см. рисунок Б.1). Для получения достоверных результатов разность конечного A_f и начального A_i значений оптических плотностей должна быть не менее 0,040.

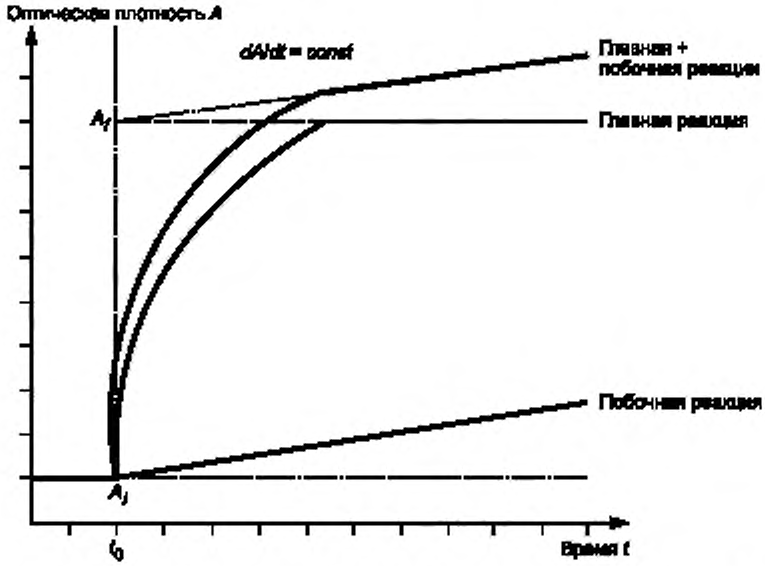


Рисунок Б.1 — Определение окончательного значения оптической плотности по кинетической кривой реакции

Приложение В
(справочное)

Проверка правильности результатов определений

В.1 Проверку правильности результатов измерений проводят для каждой серии определений с использованием метода добавок, согласно инструкции, прилагаемой к набору.

В.2 Для проверки используют контрольный раствор уксусной кислоты массовой концентрации 153 г/дм^3 (реактив 5) из набора реагентов в качестве внутреннего стандарта, как указано в таблице В.1.

Таблица В.1 — Порядок добавления реагентов для проведения измерений с использованием раствора внутреннего стандарта

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Объем, вносимый в кюветы, см^3			
	Холостой раствор	Раствор пробы	Контрольный раствор	Контрольный раствор + раствор пробы
Реактив 1	1,00			
Реактив 2	0,20			
Раствор пробы по 9.1	—	0,10	—	0,05
Контрольный раствор	—	—	0,10	0,05
Вода	2,00	1,90	1,90	1,90
Шпателем перемешивают растворы в кюветах, через 6 мин проводят измерения оптических плотностей растворов (A_0) относительно оптической плотности воздуха. Продолжают далее, как указано в разделе 9				

В.3 Степень нахождения уксусной кислоты в контрольном растворе W, %, вычисляют по формуле

$$W = \frac{\Delta A_{\text{проба+контроль}} - \Delta A_{\text{проба}}}{\Delta A_{\text{контроль}}} \cdot 100, \qquad (B.1)$$

где $\Delta A_{\text{проба+контроль}}$ — разность оптических плотностей раствора пробы и контрольного раствора, е. о. п.;
$\Delta A_{\text{проба}}$ — разность оптических плотностей раствора пробы, е. о. п.;
$\Delta A_{\text{контроль}}$ — разность оптических плотностей контрольного раствора, е. о. п.;
100 — коэффициент пересчета в проценты.

В.4 Массовая концентрация уксусной кислоты, определенная в результате контроля, должна быть в пределах от 95 до 105 % от концентрации контрольного раствора. В случае, если вычисленное значение W находится вне указанного диапазона, повторяют определение со свежеприготовленными растворами реактивов (буферного раствора, раствора НАДН, АТК и L-МДГ).

Библиография

[1] Номенклатура ферментов. Рекомендации Международного биохимического союза по номенклатуре и классификации ферментов, а также единицам ферментов и символам кинетики ферментативных реакций. М., 1979

[2] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 023/2011 Технический регламент Таможенного союза на соковую продукцию из фруктов и овощей

УДК 664.863.001.4:006.354 МКС 67.080.01

Ключевые слова: продукция соковая, массовая концентрация, уксусная кислота, определение, спектрофотометр, ферментативная реакция

БЗ 6—2018/47

Редактор *Л.Л. Штендель*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Половой*

Сдано в набор 04.07.2018. Подписано в печать 19.07.2018. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,68.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
123001 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru