МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32711— 2014

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

Определение общего диоксида серы ферментативным методом

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС) при участии открытого акционерного общества «Вимм-Биль-Данн» (ОАО «Вимм-Биль-Данн»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 июня 2014 г. № 45–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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 1 августа 2014 г. № 852-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32711—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 г.

5 В настоящем стандарте учтены основные положения метода NMKL-135:1990 «Метод ферментативного определения сульфитов (общего диоксида серы)» (Скандинавский комитет по анализу пищевых продуктов) [NMKL-135:1990 «Sulphite. Enzymatic determination in foods» (Nordic Committee on Food Analysis – NMKL)]

6 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 54894—2012

7 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

© Стандартинформ, 2014

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

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

Определение общего диоксида серы ферментативным методом

Fruit and vegetable products. Determination of sulfur dioxide by Enzymatic method

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты переработки фруктов и овощей в части: фруктовых и овощных соков, нектаров, сокосодержащих напитков, фруктовых и овощных концентрированных соков, пюре и концентрированных пюре, морсов, концентрированных морсов, соковой продукции из фруктов и овощей обогащенной и для детского питания (далее – соковая продукция), компотов, киселей, в т. ч. из сушеных фруктов (сухофруктов), джемов, повидла, варенья, сушеных фруктов и устанавливает метод ферментативного определения массовой концентрации или массовой доли общего диоксида серы.

Диапазон измерений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы – от 10 до 500 мг/дм^3 (млн$^{-1}$).

Предел обнаружения метода – 3 мг/дм^3 (млн$^{-1}$).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ ИСО 3696–2013 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний[1]

ГОСТ ИСО 5725-1–2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

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

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

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

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

ГОСТ 12.1.005–88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

ГОСТ 12.1.018–93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрыво-безопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019–79 Система стандартов безопасности труда. Электробезо-пасность. Общие требования и номенклатура видов защиты[2]

ГОСТ 195–77 Реактивы. Натрий сернистокислый. Технические условия

---

[1] На территории Российской федерации действует ГОСТ Р 52501-2005 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

[2] На территории Российской федерации действует ГОСТ Р 12.1.019–2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

Издание официальное

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

ГОСТ 3769–78 Реактивы. Аммоний сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4201–79 Реактивы. Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4328–77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

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

ГОСТ 12026–76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

ГОСТ 25794.1–83 Реактивы. Методы приготовления титрованных растворов для кислотно-основного титрования

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

ГОСТ 26671–85 Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

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

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

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

ГОСТ 31643–2012 Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

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 «Национальные стандарты» 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 и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **связанная форма диоксида серы:** Диоксид серы, химически связанный с органическими соединениями и находящийся в растворенной форме.

3.1.2 **общий диоксид серы:** Сумма свободного диоксида серы (SO_2) и связанного диоксида серы в пересчете на SO_2.

3.2 Сокращения:

3.2.1 **Е** (единица активности) – количество ферментов, которое является катализатором превращения (образования) $1 \cdot 10^{-6}$ моля вещества в минуту при температуре 25 °С.

3.2.2 **НАД (NAD)** – никотинамидадениндинуклеотид, окисленная форма.

3.2.3 **НАДН (NADH)** – никотинамидадениндинуклеотид, восстановленная форма.

3.2.4 **НАДН-пероксидаза (NADH-POD)** – никотинамидадениндинуклеотид – пероксидаза.

3.2.5 **Аскорбатоксидаза (АО)** – фермент, катализирующий реакцию окисления аскорбиновой кислоты в присутствии растворенного кислорода.

3.2.6 **Сульфитоксидаза (SO_2-OD)** - фермент, катализирующий реакцию окисления сульфита до сульфата в присутствии растворенного кислорода.

4 Сущность метода

Метод основан на проведении нижеприведенных ферментативных реакций:

Ион сульфита в присутствии растворенного кислорода окисляется ферментом сульфитоксидазой (SO_2-OD) до сульфата:

$$SO_3^{2-} + O_2 + H_2O \xrightarrow{SO^{2-}OD} SO_4^{2-} + H_2O_2$$

Пероксид водорода восстанавливается под действием фермента НАДН-пероксидазы (NADH-POD) при взаимодействии с никотинамидадениндинуклеоти-дом (NADH):

$$H_2O_2 + NADH + H^+ \xrightarrow{NADH\text{-}POD} 2H_2O + NAD^+$$

Массовая концентрация общего диоксида серы эквивалентна количеству израсходованного на окисление пероксида водорода НАДН, что определяется по изменению оптической плотности, измеренной при длинах волн: 334, 340 или 365 нм.

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

5.1 Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности при длине волны 340 нм, или фотометр, оснащенный ртутной лампой, позволяющий проводить измерения при длинах волн 334 и 365 нм, с допустимой относительной погрешностью измерения коэффициента пропускания ± 1 %.

5.2 Кюветы кварцевые или полимерные для спектрофотомерии с длиной оптического пути от 5 до 20 мм и вместимостью от 2 до 10 $см^3$.

5.3 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, ч. д. а.

5.4 Гидрокарбонат натрия по ГОСТ 4201, $NaHCO_3$, ч. д. а.

5.5 Никотинамидадениндинуклеотид динатриевая соль, Na_2-НАДН, массовой долей основного вещества не менее 95 %.

5.6 НАДН-пероксидаза (NADH-POD), лиофилизированный препарат с активностью не менее 1 Е, CAS* № 9032-24-0.

5.7 Сульфитоксидаза (SO_2-OD), лиофилизированный препарат с активностью не менее 1 Е, CAS* № 9029-38-3.

5.8 Аскорбатоксидаза (АО), лиофилизированный препарат с активностью 20 Е, CAS* № 9029-44-1.

5.9 Сульфит натрия безводный по ГОСТ 195, ч. д. а.

5.10 Сульфат аммония по ГОСТ 3769, $(NH_4)_2SO_4$, ч. д. а.

5.11 Этилендиамин-N,N,N',N'-тетрауксусная кислота, динатриевая соль (Na_2-ЭДТА, Трилон Б) по ГОСТ 10652, ч. д. а.

5.12 Триэтаноламин, массовой долей основного вещества не менее 98 %.

5.13 Набор реагентов для ферментативного определения диоксида серы**, включающий:

реагент 1 – 30 $см^3$ триэтаноламинового буферного раствора с pH 8,0;

реагент 2 – 30 таблеток сухого препарата с содержанием 0,4 мг НАДН;

реагент 3 – 0,3 $см^3$ суспензии НАДН-пероксидазы (NADH-POD) активностью 3 Е;

реагент 4 – 1,6 $см^3$ суспензии сульфитоксидазы (SO_2-OD) активностью 2,5 Е.

5.14 Иономер или pH-метр в комплекте с комбинированным микроэлектродом для измерений в растворах объемом не менее 2 $см^3$, с погрешностью измерений не более 0,05 ед. pH.

5.15 Весы лабораторные специального (1-го) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1, с пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,01 мг.

5.16 Измельчитель лабораторный (гомогенизатор), угловой скоростью вращения от 3000 до 5000 $мин^{-1}$, обеспечивающий тонкое измельчение, в т. ч. сухофруктов до однородного состояния.

5.17 Пипетки градуированные 1-2-1-1, 1-2-1-2, 1-2-1-5, 1-2-1-10 и 1-2-1-25 по ГОСТ 29227 или дозаторы пипеточные по ГОСТ 28311 с аналогичными или изменяемыми объемами доз, относительной погрешностью дозирования ± 1 %.

5.18 Посуда мерная лабораторная стеклянная 2-го класса точности по ГОСТ 1770:

цилиндры 1-50-2 и 1-1000-2;

колбы мерные с притертой пробкой 2а-50-2, 2а-100-2 и 2а-1000-2;

пробирки стеклянные 1-10-0,1, 1-15-0,1 и 1-20-0,1.

5.19 Посуда лабораторная стеклянная по ГОСТ 25336:

воронки лабораторные;

---

* CAS – уникальный численный идентификатор веществ по реестру Химической реферативной службы (Chemical Abstracts Service - CAS).

** Набор реагентов для определения общего диоксида серы фирмы R-Biopharm AG. Данная информация не является рекламой указанного набора и не исключает возможность применения наборов реагентов других фирм или растворов реактивов, приготовленных в лабораторных условиях (см. 7.2).

стаканы вместимостью В-1-100 и Н-1-1000.

5.20 Фильтры мембранные с размером пор 0,20 или 0,45 мкм и диаметром 13 и 47 мм для фильтрования проб.

5.21 Центрифуга лабораторная, обеспечивающая скорость вращения не менее 4000 мин$^{-1}$ и ротором с соответствующим адаптером для пробирок.

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

5.23 Баня ультразвуковая лабораторная с рабочей частотой не менее 20 кГц и вместимостью не менее 1 дм^3.

5.24 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

5.25 Вода по ГОСТ ИСО 3696, не ниже 2-й степени чистоты.

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

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

5.28 Поливинилполипирролидон низкомолекулярный.

5.29 Термометр жидкостной стеклянный по ГОСТ 28498, диапазоном измерений от 0 °С до 100 °С, ценой деления 1 °С.

5.30 Электроплитка лабораторная .

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

6 Отбор и подготовка проб

Отбор проб проводят по ГОСТ 26313, подготовку по ГОСТ 26671.

6.1 Подготовка проб соковой продукции

6.1.1 Подготовку проб соковой продукции для измерений проводят в соответствии с ГОСТ 31643 (раздел 6.2).

Окрашенную соковую продукцию обесцвечивают путем добавления (0,15 ± 0,05) г поливинилполипирролидона на каждые 2 см^3 пробы, центрифугируют при скорости вращения 4000 мин$^{-1}$ в течение 10 мин и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Для определения используют прозрачный фильтрат.

6.1.2 При содержании в пробах соковой продукции аскорбиновой кислоты свыше 100 мг/дм^3 проводят ее удаление.

Для этого в пробирку вместимостью 15–20 см^3 помещают 2 см^3 прозрачного фильтрата и доводят при перемешивании кислотность раствора до (5,5 ± 0,5) ед. pH, регистрируя показания pH-метра, путем прибавления гидроксида натрия молярной концентрацией 2 моль/дм^3.

При этом фиксируют суммарный объем израсходованной гидроокиси натрия для расчета величины фактора разбавления *F* при подготовке рабочего раствора пробы по 7.3.4.

Затем вносят в пробирку 0,1 см^3 аскорбатоксидазы (см. 5.8), перемешивают и выдерживают в течение 10 мин.

6.2 Подготовка проб джемов, повидла, варенья, киселей, компотов

Измельчают в гомогенизаторе 100 г пробы в течение 30 с. В мерную колбу объемом 50 см^3 помещают 5 г гомогенизированной пробы, взвешенной с точностью до 0,0001 г, добавляют около 40 см^3 воды, закрывают мерную колбу и раствор инкубируют в течение 5 мин при температуре 60 °С, периодически помешивая. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры, доводят объем до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. При содержании аскорбиновой кислоты в продукте более 100 мг/дм^3 ее удаляют из пробы по 6.1.3.

6.3 Подготовка проб сушеных фруктов (сухофруктов)

Измельчают в гомогенизаторе 100 г пробы в течение 30 с. В мерную колбу объемом 100 см^3 помещают 2 г гомогенизированной пробы и добавляют к ней 60 см^3 воды температурой (60 ± 5) °С. Закрывают мерную колбу и энергично встряхивают в течение 5 мин, выдерживают в течение 30 ч. Колбу охлаждают до комнатной температуры, и доводят объем до метки водой.

Содержимое из колбы переносят в пробирку для центрифугирования, центрифугируют при

скорости вращения 4000 мин$^{-1}$ в течение 10 мин.

Для определения используют прозрачный фильтрат. При необходимости полученный фильтрат разбавляют в соответствии с требованиями, указанными в таблице 1.

7 Подготовка к проведению измерений

7.1 Подготовка растворов реактивов из готового набора реагентов

7.1.1 Подготовка реактива 1

В качестве реактива 1 используют реагент 1 из набора по 5.13 без разбавления. Перед проведением определения реагент 1 выдерживают при температуре (20 ± 5) °С.

Срок хранения реактива 1 в холодильнике при температуре 4 °С – не более одного года.

7.1.2 Подготовка реактива 2 (НАДН)

Для приготовления реактива 2 растворяют одну таблетку реагента 2 (см. 5.12) в 1 см^3 реактива 1.

Срок хранения реактива 2 в холодильнике при температуре 4 °С – не более семи дней.

7.1.3 Подготовка реактива 3 (НАДН-пероксидаза) и реактива 4 (сульфитоксидаза)

В качестве реактива 3 и реактива 4 используют реагенты 3 и 4 из набора по 5.13 без разбавления.

Срок хранения реактивов 3 и 4 в холодильнике при температуре 4 °С – не более одного года.

7.2 Подготовка растворов реактивов в лабораторных условиях

7.2.1 Приготовление раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3

Раствор гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3 готовят по ГОСТ 25794.1.

7.2.2 Приготовление буферного раствора триэтаноламина молярной концентрацией 0,60 моль/дм^3 и pH 8,0

Растворяют (5,57 ± 0,1) г триэтаноламина в стакане в 40 см^3 воды. Полученный раствор доводят при перемешивании до 8,0 ед. pH прибавлением раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3, подготовленного по 7.2.1, регистрируя показания pH-метра. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3 и доводят его объем до метки водой.

Срок хранения раствора в холодильнике при температуре 4 °С – не более 28 дней.

7.2.3 Приготовление раствора восстановленного никотиамидаденинди-нуклеотида (НАДН) молярной концентрацией $7 \cdot 10^{-3}$ моль/дм^3

Растворяют 0,025 г препарата НАДН-Na_2 (см. 5.5) и 0,050 г гидрокарбоната натрия в 5 см^3 воды.

Срок хранения раствора в холодильнике при температуре 4 °С – не более 28 дней.

7.2.4 Приготовление суспензии НАДН-пероксидазы

Растворяют необходимое количество препарата НАДН-пероксидазы (см. 5.6) в растворе сульфата аммония молярной концентрацией 2 моль/дм^3 для получения суспензии с активностью фермента НАДН-пероксидазы 15 Е в 1 см^3.

Примечание – Необходимое количество препарата определяют в соответствии с его исходной активностью, которая указывается производителем в сопроводительной документации.

Срок хранения суспензии при температуре 4 °С – не более одного года.

7.2.5 Приготовление суспензии сульфит-оксидазы

Растворяют необходимое количество препарата сульфит-оксидазы (см. 5.7) в растворе сульфата аммония молярной концентрацией 2 моль/дм^3 для получения суспензии с активностью фермента НАДН-пероксидазы 2,5 Е в 1 см^3.

Примечание – Необходимое количество препарата определяют в соответствии с его исходной активностью, которая указывается производителем в сопроводительной документации.

Срок хранения суспензии в холодильнике при температуре 4 °С – не более одного года.

7.2.6 Приготовление раствора сульфата аммония $(NH_4)_2SO_4$ молярной концентрацией 2 моль/дм^3

В мерной колбе вместимостью 500 см^3 растворяют (132,0 ± 0,1) г сульфата аммония в 200 см^3 воды. После полного растворения сульфата аммония доводят объем раствора в колбе до метки водой и тщательно пермешивают.

Срок хранения раствора при температуре от 4 °С до 25 °С – не более 28 дней.

7.2.7 Подготовка контрольного раствора общего диоксида серы массовой концентрацией 300 мг/дм^3

Взвешивают (0,0600 ± 0,001) г сульфита натрия и (0,0370 ± 0,001) г Na_2-ЭДТА, растворяют в стакане в воде, количественно переносят раствор в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят объем раствора в колбе до метки водой и перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед проведением измерений.

7.3 Приготовление рабочего раствора пробы

Для обеспечения достоверности результатов определения в кювете должно находиться от 0,3 до 30,0 мг общего диоксида серы. Для достижения этого условия пробу разбавляют водой в соответствии с требованиями, указанными в таблице 1 или в соответствии с инструкцией к набору реагентов для ферментативного анализа.

Т а б л и ц а 1 – Порядок разбавления пробы перед проведением измерений

Ожидаемая массовая концентрация общего диоксида серы в пробе, г/дм^3	Разбавление водой	Фактор разбавления (F)
< 0,3	Не разбавляется	1
0,3–3,0	1 + 9	10
3,0–30	1 + 99	100
> 30	1 + 999	1000

8 Порядок проведения измерений

8.1 Условия проведения измерений

При подготовке к проведению и проведении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха ... ... (25 ± 5) °С;
- атмосферное давление ... ... (97 ± 10) кПа;
- относительная влажность ..... (65 ± 25) %;
- напряжение в питающей сети .....(220 ± 20) В;
- частота тока в питающей сети .....(50 ± 1) Гц.

Помещение, в котором проводят работы с реактивами, должно быть обеспечено приточно-вытяжной вентиляцией.

Все операции с реактивами следует проводить в вытяжном шкафу.

8.2 Проведение измерений

В кювету спектрофотометра (см. 5.2) вносят реактивы 2, 3 и 4, воду и пробы в порядке и количествах, указанных в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 – Порядок добавления реагентов для проведения измерений

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Кюветы	
	Холостая проба (контроль)	Рабочий раствор пробы по 7.3
Реактив 2 по 7.1.2 или раствор по 7.2.3	1,00 см^3	
Проба, подготовленная по разделу 6	–	0,10 см^3
Вода	2,00 см^3	1,90 см^3
Реактив 3 по 7.1.3 или раствор по 7.2.4	0,01 см^3	
Шпателем перемешивают помещенные в кюветы растворы, через 5 мин проводят измерения оптических плотностей растворов (A_1) относительно оптической плотности воздуха		
Реактив 4 по 7.1.3 или раствор по 7.2.5	0,05 см^3	
Осторожно перемешивают помещенные в кюветы растворы и проводят измерения оптических плотностей растворов (A_2) относительно оптической плотности воздуха. Измерения оптических плотностей растворов (A_2) повторяют через каждые 5 мин до окончания реакции (приблизительно через 30 мин), что выражается в установлении постоянного значения оптической плотности раствора.		

Окончание таблицы 2

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Кюветы	
	Холостая проба (контроль)	Рабочий раствор пробы по 7.3
Если ферментативная реакция не закончилась через 30 мин и значения оптической плотности растворов увеличиваются с течением времени, то значения (A_2) определяют методом экстраполяции на момент внесения реактива 3 по 7.1.3. Пробы анализируют два раза в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-1 (пункт 3.14) и ГОСТ ИСО 5725-2.		

9 Обработка и оформление результатов измерений

9.1 Разность в оптической плотности растворов до и после обработки их ферментом, измеренная при длинах волн 334, 340 или 365 нм, пропорциональна массовой концентрации (массовой доле) общего диоксида серы.

Разность значений оптических плотностей ΔA_{SO2} вычисляют по формуле

$$\Delta A_{SO_2} = (A_1 - A_2)_{\text{проба}} - (A_1 - A_2)_{\text{контроль}}, \quad (1)$$

где $(A_1 - A_2)_{\text{проба}}$ – разность оптических плотностей рабочего раствора пробы, е. о. п;

$(A_1 - A_2)_{\text{контроль}}$ – разность оптических плотностей раствора холостой пробы, е. о. п.

Разность оптических плотностей ΔA_{SO2} должна находиться в интервале от 0,1 до 0,5 единиц оптической плотности (измерения при длине волны 365 нм) или от 0,1 до 0,8 единиц оптической плотности (измерения при длинах волн 334 и 340 нм). При превышении указанных значений разности оптических плотностей раствор пробы дополнительно разбавляют водой. При меньшей разности оптических плотностей (менее 0,1) объем пробы, дозируемый в кювету (см. 5.2), увеличивают, а объем воды, соответственно, уменьшают так, чтобы объем пробы в кювете оставался постоянным в соответствии требованиями, указанными в таблице 2.

9.2 Массовую концентрацию общего диоксида серы C_{SO_2}, мг/дм^3 в рабочем растворе пробы, подготовленной по 6.1, вычисляют по формуле

$$C_{SO_2} = \frac{V \cdot F \cdot M \cdot \Delta A_{SO_2}}{\varepsilon \cdot d \cdot v}, \quad (2)$$

где V – суммарный объем добавленных в кювету реагентов по таблице 2 (графы 2, 3), см^3;

F – величина фактора разбавления;

M – молекулярная масса диоксида серы, M = 64,06 г/моль;

ΔA_{SO2} – разность оптических плотностей, е. о. п;

ε – молярный коэффициент поглощения НАДФН, дм^3·ммол$^{-1}$·см$^{-1}$:

- при длине волны 340 нм – 6,3,
- при длине волны 365 нм – 3,5 (ртутная лампа),
- при длине волны 334 нм – 6,18 (ртутная лампа);

d – толщина поглощающего слоя в кювете, см;

v – объем пробы, взятой для определения (см. таблицу 2), см^3.

При толщине поглощающего слоя в кювете 1 см и объеме рабочего раствора пробы 0,10 см^3 формула для вычисления массовой концентрации общего диоксида серы C_{SO_2}, мг/дм^3, преобразуется следующим образом

$$C_{SO_2} = \frac{3{,}06 \cdot F \cdot 64{,}06 \cdot \Delta A_{SO_2}}{\varepsilon \cdot 1{,}00 \cdot 0{,}10} = \frac{1960 \cdot F \cdot \Delta A_{SO_2}}{\varepsilon}. \quad (3)$$

9.3 Массовую долю общего диоксида серы X_{SO_2} млн$^{-1}$, в рабочем растворе пробе, подготовленной по 6.2 и 6.3, вычисляют по формуле

$$X_{SO_2} = \frac{V_к \cdot C_{SO_2}}{m_{нав}}, \quad (4)$$

где $V_к$ – вместимость мерной колбы, использовавшейся при подготовке пробы, см^3;

C_{SO_2} – массовая концентрация общего диоксида серы в растворе, вычисленная по формуле (2), мг/дм^3;

$m_{нав}$ – масса пробы, взятой для определения г.

Все вычисления проводят с точностью до третьего десятичного знака.

Расхождение результатов между двумя параллельными определениями, выполненными в условиях повторяемости, не должно превышать предела повторяемости (сходимости) r, приведенного в таблице 3 при доверительной вероятности $P = 0,95$.

При соблюдении этого условия за окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округленное до второго десятичного знака.

Таблица 3 – Метрологические характеристики метода определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы

Наименование продукта	Диапазон измерений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы, мг/дм^3 (млн$^{-1}$)	Показатель точности (границы относительной погрешности) ± δ, % при $P = 0,95$	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений) $r_{отн}$,%	Предел воспроизводимости, (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами, полученными в условиях воспроизводимости) $R_{отн}$ %
Соки, морсы, нектары, сокосодержащие напитки	От 10 до 500 включ.	10	8	11
Компоты, джемы, повидла, варенья	От 50 до 500 включ.	18	14	25
Фрукты сушеные (сухофрукты)	От 100 до 500 включ.	20	14	25
Примечание – Показатели прецизионности и точности метода были установлены при круговом межлабораторном испытании, проведенном в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-2 (пункт 7.5) и ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 4.2).				

9.4 Дополнительно, для контроля качества реактивов и работы спектрофотометра, вместе с каждой серией (не менее шести) рабочих проб проводят определение массовой концентрации общего диоксида серы в контрольном растворе по 7.2.7.

Относительное отклонение измеренной величины массовой концентрации общего диоксида серы в контрольном растворе не должно превышать 5 % от номинальной. В противном случае результаты измерения всей серии проб признаются неудовлетворительными.

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

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

где $\overline{C}$, $\overline{X}$ – среднеарифметическое значение двух параллельных измерений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы в пробе, выполненных в условиях повторяемости, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

± Δ – абсолютное значение показателя точности определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы, вычисляемое по формулам:

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{C} \text{ или } \Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \quad (5)$$

где ± δ – границы относительной погрешности результатов измерений (см. таблицу 3), %.

Числовое значение результата определения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границы абсолютной погрешности. Значение границ абсолютной погрешности выражают числом, содержащим не более двух значащих цифр.

10 Контроль качества результатов измерений

10.1 Контроль повторяемости результатов измерений

Контроль повторяемости результатов измерений массовой концентрации или массовой доли общего диоксида серы проводят при получении каждого результата путем сравнения расхождения между результатами двух параллельных определений с пределом повторяемости (сходимости), приведенным в таблице 3.

Повторяемость результатов признают удовлетворительной при условии

$$2 \cdot \frac{|C_1 - C_2|}{C_1 + C_2} \le 0{,}01 \cdot r_{отн} \text{ или } 2 \cdot \frac{|X_1 - X_2|}{X_1 + X_2} \le 0{,}01 \cdot r_{отн} \quad (6)$$

где C_1, C_2 – результаты параллельных измерений массовой концентрации общего диоксида серы в пробе, подготовленной по 6.1, мг/дм^3;

X_1, X_2 – результаты параллельных измерений массовой доли общего диоксида серы в пробе, подготовленной по 6.2 и 6.3, млн$^{-1}$;

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

При превышении предела повторяемости (сходимости) определение повторяют. При повторном превышении указанного предела выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

10.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

10.2.1 Проверку приемлемости результатов параллельных определений в условиях воспроизводимости проводят:

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

10.2.2 Для проведения проверки приемлемости результатов параллельных определений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует арбитражные пробы, оставленные на хранение.

Приемлемость результатов параллельных определений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ по формулам:

$$\frac{2 \cdot |\overline{C}_1 - \overline{C}_2| \cdot 100}{\overline{C}_1 + \overline{C}_2} \le CD_{0,95} \text{ или } \frac{2 \cdot |\overline{X}_1 - \overline{X}_2| \cdot 100}{\overline{X}_1 + \overline{X}_2} \le CD_{0,95}, \quad (7)$$

где $\overline{C}_1, \overline{C}_2$ – среднеарифметические значения массовой концентрации общего диоксида серы, полученные в первой и второй лабораториях, мг/дм^3;

$\overline{X}_1, \overline{X}_2$ – среднеарифметические значения массовой доли общего диоксида серы, полученные в первой и второй лабораториях, млн$^{-1}$.

$CD_{0,95}$ – значение критической разности, вычисляемое по формулам:

$$CD_{0,95} = 2{,}77 \cdot 0{,}01 \cdot \overline{C} \cdot \sqrt{\sigma_R^2 - \sigma \left(1 - \frac{1}{2n_1} - \text{——}\right)}$$
$$CD_{0,95} = 2{,}77 \cdot 0{,}01 \cdot \overline{X} \cdot \sqrt{\sigma_R^2 - \sigma \left(1 - \frac{1}{2n_1} - \text{——}\right)}, \quad (8)$$

где 2,77 – коэффициент критического диапазона для двух параллельных определений, полученных в условиях воспроизводимости по ГОСТ ИСО 5725-6;

0,01 – множитель для перехода от процентов к абсолютным значениям;

$\overline{C}$ – среднеарифметические значения массовой концентрации общего диоксида серы, полученные в первой и второй лабораториях, мг/дм^3;

$\overline{X}$ – среднеарифметические значения массовой доли общего диоксида серы, полученные в первой и второй лабораториях, млн$^{-1}$;

σ_R – показатель воспроизводимости, %, (см. таблицу 3);

σ_r – показатель повторяемости, %, (см. таблицу 3);

n – число параллельных определений.

10.2.3 Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата определений, проводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если критическая 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).

10.3 Оперативный контроль погрешности (точности) результатов измерений

Контроль погрешности (точности) результатов измерений осуществляют с использованием контрольного раствора диоксида серы приготовленного по 7.2.7 методом добавок.

Организацию и оценку результатов контроля осуществляют в соответствии с рекомендациями [1].

При проведении контроля пробу делят на две равные части. В одну из них добавляют контрольный раствор общего диоксида серы в таких объемах, чтобы добавка составляла от 50 % до 150 % исходного содержания компонента в пробе, но не превышала верхней границы диапазона определения массовой концентрации или массовой доли компонента с учетом границ погрешности определения (см. таблицу 3). В обеих частях пробы проводят определение в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

Результаты контрольных определений признают удовлетворительными, если погрешность определения массовой концентрации (массовой доли) в добавке не превышает норматива контроля погрешности (точности), то есть выполняется условие

$$\left|\overline{C}_{\text{доб}} - \overline{C} - C_{\text{доб}}\right| \le K_{\text{доб}} \text{ или } \left|\overline{X}_{\text{доб}} - \overline{X} - X_{\text{доб}}\right| \le K_{\text{доб}}, \quad (9)$$

где $\overline{C}_{доб}, \overline{X}_{доб}$ – среднеарифметические значения параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы, в пробе с добавкой, мг/дм^3 или млн$^{-1}$;

$\overline{C}, \overline{X}$ – среднеарифметические значения параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы в пробе без добавки, мг/дм^3 или млн$^{-1}$

$C_{\text{доб}}$ или $X_{\text{доб}}$ – величина добавки, мг/дм^3 или млн$^{-1}$;

$K_{\text{доб}}$ – норматив контроля погрешности, мг/дм^3 или млн$^{-1}$.

При проведении внутрилабораторного контроля (P = 0,90) значение $K_{\text{доб}}$ вычисляют по формулам:

$$K_{доб} = 0{,}84 \cdot 0{,}01 \cdot \delta \cdot \sqrt{C_{доб}^2 + \overline{C}^2} \quad (10)$$

или

$$K_{доб} = 0{,}84 \cdot 0{,}01 \cdot \delta \cdot \sqrt{X_{доб}^2 + \overline{X}^2}, \quad (11)$$

где 0,84 – коэффициент, учитывающий вид контроля;

$\pm\,\delta$ – границы относительной погрешности измерений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы (см. таблицу 3), %.

При проведении внешнего контроля (P = 0,95) значение $K_{\text{доб}}$ вычисляют по формулам:

$$K_{доб} = 0{,}01 \cdot \delta \cdot \sqrt{C_{доб}^2 + \overline{C}^2} \quad (12)$$

или

$$K_{доб} = 0{,}01 \cdot \delta \cdot \sqrt{X_{доб}^2 + \overline{X}^2}. \quad (13)$$

При превышении норматива контроля погрешности проводят повторные контрольные определения. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

Периодичность контроля погрешности (точности) устанавливается самой лабораторией с учетом фактического состояния работ. При смене партий реактивов, экземпляров средств измерений, проведение оперативного контроля погрешности обязательно.

10.4 Контроль стабильности результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ ИСО 5725-6, используя метод контроля стабильности стандартного отклонения промежуточной прецизионности по ГОСТ ИСО 5725-6 с применением контрольных карт Шухарта.

При неудовлетворительных результатах контроля: превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения – выясняют и устраняют причины этих отклонении.

Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025 (пункт 4.2).

11 Требования, обеспечивающие безопасности

11.1 Условия безопасного проведения работ

При работе с химическими реактивами следует соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005 и ГОСТ 12.1.007. При подготовке проб к измерению и выполнении измерений с использованием спектрофотометра соблюдают правила пожаровзрывобезопасности по ГОСТ 12.1.018, по электробезопасности – по ГОСТ 12.1.019 и инструкции по эксплуатации прибора.

11.2 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений, обработке и оформлению результатов допускаются инженер-химик, техник или лаборант, имеющие высшее или среднее специальное образование, опыт работы в химической лаборатории. Первое применение метода в лаборатории следует проводить под руководством специалиста, владеющего теорией и имеющего практические навыки в области ферментативных методов анализа.

Библиография

[1] РМГ 76–2004 Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа

УДК 664.863.001.4:006.354

МКС 67.050
67.080

Ключевые слова: соковая продукция, фруктовые и овощные соки, нектары, морсы, сокосодержащие напитки, фруктовые и овощные концентрированные соки, пюре и концентрированные пюре, концентрированные морсы, компоты, кисели, джемы, повидло, варенье, сушеные фрукты, сульфиты, общий диоксид серы, ферментативный метод, массовая концентрация, массовая доля

Подписано в печать 01.12.2014. Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 1,86. Тираж 42 экз. Зак. 4954

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru