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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32365 — 2013

АРОМАТИЗАТОРЫ ПИЩЕВЫЕ

Методы определения содержания этилового спирта

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 «Межгосу-дарственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударствен-ные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всерос-сийским научно-исследовательским институтом пищевых ароматизаторов, кислот и красителей Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПАКК Россельхозакадемии), Федеральным государственным бюджетным учреждением «Научно-исследовательский институт питания» Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИ питания» РАМН)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (ТК 154)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 60-П от 18 октября 2013 г.)

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
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 1709–ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32365–2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 г.

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

© 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

АРОМАТИЗАТОРЫ ПИЩЕВЫЕ

Методы определения содержания этилового спирта

Food flavorings. Methods for determination of ethanol content

Дата введения — 2015—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на пищевые ароматизаторы и устанавливает газохроматографический и ферментативный методы определения содержания этилового спирта.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.0.004–90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

ГОСТ 12.1.004–91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

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 12.2.007.0–75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.4.009–83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

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 427–75 Линейки измерительные металлические. Технические условия

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

ГОСТ 2493–75 Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный. Технические условия

ГОСТ 2603–79 Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3022–80 Водород технический. Технические условия

ГОСТ 3639–79 Растворы водно-спиртовые. Методы определения концентрации этилового спирта

ГОСТ 3769–78 Реактивы. Аммоний сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4204–77 Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 5955–75 Бензол. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9293–74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 14618.5–78 Масла эфирные, вещества душистые и полупродукты их синтеза. Газохроматографический метод анализа

ГОСТ 17433–80 Промышленная чистота. Сжатый воздух. Классы загрязненности

ГОСТ 18300–87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 20015–88 Хлороформ. 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 29169–91 (ИСО 648–77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 32049–2013 Ароматизаторы пищевые. Общие технические условия

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 Требования безопасности

3.1 При выполнении анализов необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007 и ГОСТ 12.4.103.

3.2 Помещение, в котором проводят анализы, должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021.

3.3 Электробезопасность при работе с электроустановками – по ГОСТ 12.2.007.0 и по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

3.4 Организация обучения работающих безопасности труда – по ГОСТ 12.0.004.

3.5 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

3.6 Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005.

3.7 При работе на газовом хроматографе необходимо соблюдать требования охраны труда и правила безопасности в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

4 Отбор проб

Отбор проб – по ГОСТ 32049.

5 Условия проведения анализов

При подготовке и проведении измерения должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха .....от 10 °С до 35 °С;
- относительная влажность воздуха .....от 40 % до 95 %;
- напряжение в электросети .....от + 10 до − 15 В;
- частота тока в электросети .....от 49 до 51 Гц.

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

Все операции с реактивами следует проводить в вытяжном шкафу.

6 Определение содержания этилового спирта методом газовой хроматографии

Настоящий метод предназначен для определения массовой доли этилового спирта в жидких ароматизаторах. Диапазон измерения массовой доли этилового спирта от 1,0 % до 90,0 %.

6.1 Сущность метода

Метод основан на хроматографическом разделении компонентов ароматизатора и этилового спирта на сорбенте и последующем детектировании этилового спирта пламенно-ионизационным детектором.

6.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

Весы со значением среднего квадратического отклонения (СКО) не превышающим 0,3 мг и погрешностью от нелинейности ± 0,6 мг.

Линейка с диапазоном измерений от 0 до 300 мм, погрешностью ± 0,5 мм по ГОСТ 427.

Секундомер 2-го класса точности с емкостью шкалы счетчика 30 мин, ценой деления 0,20 с, погрешностью ± 0,60 с.

Газовый хроматограф, оснащенный пламенно-ионизационным детектором с чувствительностью по нонану не менее $1 \cdot 10^{-11}$ г/см^3.

Колонка хроматографическая стеклянная длиной 3 м, внутренним диаметром 2 мм.

Сорбент – 10 % Карбовакса 20 М (полиэтиленгликоля молекулярной массой от 15000 до 20000) на Хроматоне N-AW-HMDS (стандартном диатомитовом носителе, обработанном гексаметилдисилазаном $(CH_3)_3SiNHSi(CH_3)_3$) зернением от 0,20 до 0,25 мм.

Газ-носитель – азот особой чистоты по ГОСТ 9293.

Водород технический марки А по ГОСТ 3022. Допускается использовать генераторы водорода.

Воздух сжатый по ГОСТ 17433. Допускается использовать компрессоры любого типа, обеспечивающие необходимое давление и чистоту воздуха.

Микрошприц вместимостью 1,0 мм^3 (1 мкл), ценой деления не более 0,02 мм^3 (0,02 мкл).

Флаконы (микровиалы) вместимостью 5 см^3 с завинчивающимися крышками и тефлонированной уплотнительной мембраной.

Интегратор цифровой автоматический для обработки хроматограмм или компьютер с программным обеспечением.

Спирт этиловый ректификованный высшей очистки по ГОСТ 18300.

Бензол по ГОСТ 5955.

Ацетон по ГОСТ 2603.

Хлороформ технический по ГОСТ 20015.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение других средств измерений и вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

6.3 Подготовка к анализу

6.3.1 Заполнение газохроматографических колонок

Колонки перед заполнением промывают последовательно бензолом, хлороформом, ацетоном, затем высушивают.

Заполнение газохроматографической колонки осуществляют по ГОСТ 14618.5 (раздел 2).

Количество сорбента, израсходованное на заполнение колонки, составляет (4,7 ± 0,2) г.

6.3.2 Кондиционирование колонок

Заполненную колонку устанавливают в термостат хроматографа, подсоединяя один конец к испарителю хроматографа.

Колонку продувают газом-носителем в течение 24 ч, увеличивая температуру термостата колонок ступенчато до 150 °С со скоростью нагрева 5 °С/ч.

После кондиционирования колонку соединяют с детектором и продувают до установления стабильной нулевой линии. Для стабилизации работы хроматографической колонки в нее вводят 5–7 доз по 0,5 мм^3 анализируемой пробы.

Монтаж, наладку и вывод хроматографа на рабочий режим проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

6.3.3 Режим работы хроматографа:

- начальная температура термостата колонок, °С	50 ± 2;
- конечная температура термостата колонок, °С	150 ± 2;

- продолжительность выдержки при 50 °С, мин	6;
- температура термостата испарителя, °С	190 ± 2;
- скорость нагрева термостата, °С/мин	20;
- температура детектора, °С	200 ± 2;
- объемная скорость газа-носителя, $см^3$/мин	30 ± 1;
- объемная скорость подачи водорода в детектор, $см^3$/мин	30 ± 2;
- объемная скорость воздуха, $см^3$/мин	300 ± 3;
- газ-носитель	Азот;
- объем пробы, $мм^3$	От 0,05 до 1,00;
- эффективность хроматографической колонки, число теоретических тарелок/мм, не менее	2.

6.4 Градуировка прибора

Для градуировки прибора готовят не менее 7 градуировочных смесей этилового спирта в воде.

Градуировку прибора проводят в интервале измерения массовой доли этилового спирта от 1,0 % до 90,0 %.

6.4.1 Приготовление градуировочных смесей

Градуировочные смеси готовят из этилового спирта объемной долей основного вещества не менее 96,2 %. Объемную долю этилового спирта определяют по ГОСТ 3639.

Во флакон (микровиалу) вносят дистиллированную воду в соответствии с таблицей 1 и взвешивают на лабораторных весах. Затем добавляют этиловый спирт и снова взвешивают.

Срок хранения градуировочных смесей в герметично закрытых флаконах (микровиалах) при температуре от 4 °С до 10 °С – не более 2 мес.

Таблица 1

Номер градуировочной смеси	Масса, г	
	этилового спирта	дистиллированной воды
1	5,000	0,000
2	4,000	1,000
3	3,000	2,000
4	2,000	3,000
5	1,000	4,000
6	0,500	4,500
7	0,005	4,995

6.4.2 Массовую долю этилового спирта в градуировочной смеси Сгр, %, вычисляют по формуле

$$C_{gp} = \frac{m_i}{m_{gpi}} 100, \quad (1)$$

где m_i – масса безводного этилового спирта в i-той градуировочной смеси, г;

$m_{грi}$ – масса i-той градуировочной смеси, г;

100 – коэффициент перевода в %.

6.5 Построение графика градуировочной зависимости

Для построения калибровочного графика градуировочной зависимости каждую градуировочную смесь хроматографируют не менее 5 раз в условиях, указанных в 6.3.3, вводя в колонку через испаритель один и тот же объем пробы каждого раствора.

Регистрируют время удерживания и площадь пика этилового спирта при помощи автоматического интегратора или программного обеспечения.

Строят график зависимости площади пика от массовой доли этилового спирта. Общий вид градуировочного графика приведен на рисунке 1.

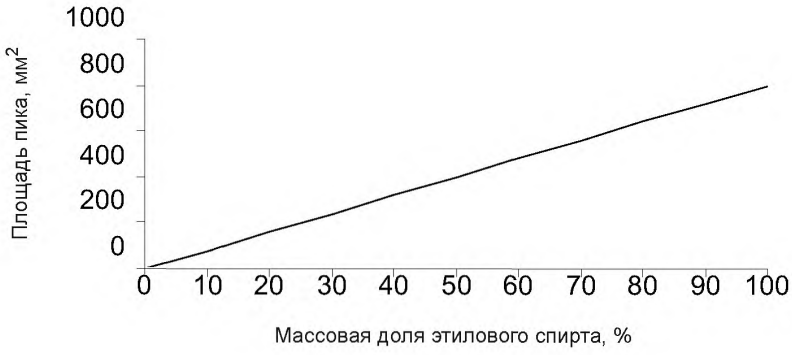


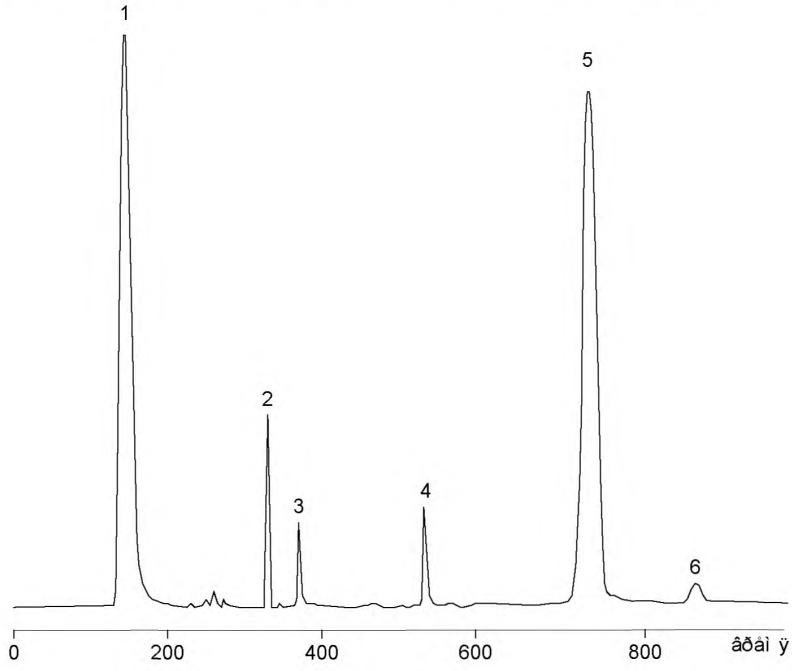
Рисунок 1 – Зависимость площади пика от массовой доли этилового спирта

Процедуру градуировки проводят периодически не менее одного раза в неделю, при постановке методики на хроматограф, после ремонта хроматографа.

6.6 Проведение анализа

Анализируемую пробу ароматизатора помещают во флакон (микровиалу). Микрошприц промывают три раза анализируемой пробой. Помещают иглу шприца в испаритель на полную длину и быстро вводят пробу. Регистрируют время удерживания и площадь пика этилового спирта.

Обобщенная хроматограмма пищевого ароматизатора приведена на рисунке 2.



1 – этиловый спирт, 2–6 – вкусоароматические вещества

Рисунок 2 – Общий вид хроматограммы пищевого ароматизатора

Анализ проводят в условиях, регламентированных в 6.3.3, выполняя два параллельных определения в условиях повторяемости.

6.7 Обработка результатов

Обработку результатов измерений выполняют используя программное обеспечение автоматического интегратора или персонального компьютера в соответствии с инструкциями по их эксплуатации.

Массовую долю этилового спирта в анализируемой пробе ароматизатора X_1, %, определяют согласно графику градуировочной зависимости по 6.5 с точностью до первого десятичного знака.

6.8 Контроль точности результатов измерений

За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение $X_{1ср}$, %, двух параллельных определений массовой доли этилового спирта, полученных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости

$$(X_{1макс} - X_{1мин})\ 100/X_{1ср} \le r, \quad (2)$$

где $X_{1макс}$ – максимальная массовая доля этилового спирта в пробе;

$X_{1мин}$ – минимальная массовая доля этилового спирта в пробе;

$X_{1ср}$ – среднее значение двух параллельных измерений массовой доли этилового спирта в пробе;

r – значение предела повторяемости, %, приведенное в таблице 2.

Результат анализа представляют в виде

$$X_{1ср} \pm 0{,}01\ \delta\ X_{1ср} \text{ при } P = 0{,}95 \quad (3)$$

где $X_{1ср}$ – среднеарифметическое значение результатов двух определений, признанных приемлемыми, %;

δ – границы относительной погрешности измерений, %.

Пределы повторяемости r и воспроизводимости R, а также показатель точности δ для диапазона измерений массовой доли этилового спирта от 1,0 % до 90,0 % представлены в таблице 2.

Таблица 2

Предел повторяемости r, % отн., при P = 0,95	Предел воспроизводимости R, % отн., при P = 0,95	Показатель точности (границы относительной погрешности) ± δ, %, при P = 0,95
10	12	15

7 Определение содержания этилового спирта ферментативным методом

Метод предназначен для определения массовой доли этилового спирта в жидких и пастообразных ароматизаторах. Диапазон измерения массовой доли этилового спирта от 0,002 % до 12,000 %.

7.1 Сущность метода

Метод основан на окислении этилового спирта в присутствии никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и алкогольдегидрогеназы (АДГ), дальнейшем окислении образовавшегося ацетальдегида в присутствии альдегиддегидрогеназы (АЛДГ) до уксусной кислоты и фотометрическом измерении массовой доли образовавшегося никотинамидадениндинуклеотида (восстановленная форма) (НАДН), эквивалентного массовой доле этилового спирта в соответствии с уравнениями (4), (5).

$$\text{Этанол} + \text{НАД}^+ \xleftrightarrow{\text{АДГ}} \text{Ацетальдегид} + \text{НАДН} + \text{H}^+ \quad (4)$$

$$\text{Ацетальдегид} + \text{НАД}^+ \xleftrightarrow{\text{АЛДГ}} + \text{H}_2\text{O}\ \text{Уксусная кислота} + \text{НАДН} + \text{H}^+ \quad (5)$$

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

Весы со значением среднего квадратического отклонения (СКО) не превышающим 0,3 мг и погрешностью от нелинейности ± 0,6 мг.

Спектрофотометр с диапазоном измерения длин волн от 210 до 700 нм, допустимой абсолютной погрешностью коэффициента пропускания не более 1 %, спектральной шириной не более 1 нм.

Дозаторы пипеточные объемами 0,5; 0,1; 0,05 $см^3$ и относительной погрешностью ± 1 %.

Секундомер 2-го класса точности с емкостью шкалы счетчика 30 мин, ценой деления 0,20 с, погрешностью ± 0,60 с.

Пипетки 2–1–10; 2–1–15 по ГОСТ 29169.

Колбы 2–250–2; 2–500–2; 2–1000–2 по ГОСТ 1770.

Кюветы фотометрические из оптического стекла или полистирола (одноразовые) толщиной поглощающего слоя 1 см для измерений при длинах волн 334, 340 или 365 нм.

Шпатели пластиковые одноразовые или палочки стеклянные оплавленные длиной от 10 до 15 см для перемешивания содержимого кюветы при проведении фотометрических измерений.

Бумага индикаторная универсальная для интервала измерений активной кислотности от 1 до 10 ед. pH.

Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный по ГОСТ 2493, ч. д. а.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Кислота серная по ГОСТ 4204, х. ч.

Аммоний сернокислый по ГОСТ 3769, ч. д. а.

Алкогольдегидрогеназы ЕС1.1.1.1 лиофилизат из дрожжей Saccharomyces cerevisiae, активностью 4500 мкмоль·$мин^{-1}$.

Альдегиддегидрогеназы ЕС1.2.1.5 лиофилизат из дрожжей Saccharomyces cerevisiae, активностью 5,6 мкмоль·$мин^{-1}$.

Никотинамидадениндинуклеотид фосфат с содержанием основного вещества не менее 98 %.

Спирт этиловый ректификованный высшей очистки по ГОСТ 18300.

Допускается применение других средств измерений и вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

7.3 Подготовка к анализу

7.3.1 Приготовление раствора серной кислоты молярной концентрации с (1/2 H_2S0_4) = 2 моль/$дм^3$

Раствор серной кислоты молярной концентрации *с* (1/2 H_2S0_4) = 2 моль/$дм^3$ готовят по ГОСТ 25794.1 в колбе вместимостью 1000 $см^3$ разбавлением 58,0 $см^3$ серной кислоты плотностью 1,830 г/$см^3$ или 57,2 $см^3$ серной кислоты плотностью 1,835 г/$см^3$ дистиллированной водой до объема 1000 $см^3$, или из стандарт-титра молярной концентрации *с* (1/2 H_2S0_4) = 0,1 моль/$дм^3$, переводя количественно содержимое двух ампул в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и добавляя дистиллированную воду до метки.

Срок хранения раствора при температуре (20 ± 2) °С – не более 6 мес.

7.3.2 Приготовление раствора аммония сернокислого молярной концентрации с (1/2 $(NH_4)_2SO_4$) = 2,2 моль/$дм^3$

В мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 1000 $см^3$ вносят 299,55 г аммония сернокислого, добавляют 300 $см^3$ дистиллированной воды и перемешивают до полного растворения. Доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре (20 ± 2)°С – не более 6 мес.

7.3.3 Приготовление буферного раствора

В мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 50 $см^3$ вносят 8,3 г фосфорнокислого калия двузамещенного 3-водного, добавляют 40 $см^3$ дистиллированной воды и перемешивают до полного растворения. Доводят значение pH раствора до 9,0 ед. pH раствором серной кислоты по 7.3.1. Доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Срок хранения буферного раствора при температуре (4 ± 1) °С – не более 6 мес.

7.3.4 Приготовление суспензии АДГ

В мерную колбу (с пришлифованной пробкой) вместимостью 5 $см^3$ вносят 0,125 г АДГ лиофилизата и добавляют до метки раствор аммония сернокислого по 7.3.2, закрывают колбу пробкой и тщательно перемешивают.

Срок хранения суспензии АДГ при температуре (4 ± 1) °С – не более 2 мес.

7.3.5 Приготовление реакционной смеси

0,0028 г АЛДГ лиофилизата и 0,028 г НАД растворяют в 7 $см^3$ буферного раствора по 7.3.3.

Срок хранения раствора при температуре (4 ± 1) °С – не более 24 ч.

7.3.6 Приготовление раствора этилового спирта

0,060 г этилового ректификованного спирта высшей очистки вносят в мерную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 1 дм^3 и доводят объем до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора при температуре (4 ± 1) °С – не более 1 мес.

7.3.7 Проверка активности реактивов

7.3.7.1 Проверку активности ферментов проводят при приготовлении каждой новой порции реактивов, хранении готовых реактивов без использования более двух недель или нарушении условий хранения.

7.3.7.2 Для проверки активности ферментов в две фотометрические кюветы последовательно дозируют по 3,0 см^3 реакционной смеси по 7.3.5. Затем в кювету № 1$_{контр}$ ($A_{1контр}$) добавляют 0,1 см^3 дистиллированной воды, а в кювету № 2$_{пров}$ ($A_{1пров.}$) – 0,1 см^3 раствора этилового спирта по 7.3.6. Содержимое кювет перемешивают пластиковым шпателем и оставляют при температуре от 20 °С до 25 °С на 3 мин (по секундомеру). Измеряют оптическую плотность полученного раствора относительно оптической плотности воды.

Затем в обе кюветы добавляют по 0,05 см^3 суспензии АДГ по 7.3.4. Содержимое кювет перемешивают пластиковыми шпателями и оставляют при температуре от 20 °С до 25 °С на 15 мин (по секундомеру). Измеряют оптическую плотность содержимого в кювете № 1$_{контр}$ ($A_{1контр}$) и № 2$_{пров}$ ($A_{2пров.}$) относительно оптической плотности воды.

7.3.7.3 Обработка и оформление результатов измерений

Изменение оптических плотностей, которые вызваны окислением этилового спирта до ацетальдегида и уксусной кислоты (ΔA) вычисляют по формуле

$$\Delta A = (A_{2пров} - A_{1пров}) - (A_{2контр} - A_{1контр}), \quad (6)$$

где $A_{2пров}$ – оптическая плотность реакционной смеси с АДГ в кювете № 2$_{пров.}$;

$A_{1пров}$ – оптическая плотность реакционной смеси в кювете № 1$_{пров.}$;

$A_{2контр}$ – оптическая плотность реакционной смеси с АДГ в кювете № 2$_{контр}$;

$A_{1контр}$ – оптическая плотность реакционной смеси в кювете № 1$_{контр}$.

Массовую концентрацию этилового спирта в растворе по 7.3.6 X_3, г/дм^3, вычисляют по формуле

$$x_3 = \frac{V_1 M}{\varepsilon d \cdot 2 \cdot V_2 \cdot 100} \Delta A \quad (7)$$

где V_1 – общий объем раствора в кювете по 7.3.7.2, см^3; V_1 = 3,15 см^3;

M – молярная масса этилового спирта, г/моль; M = 46,07 г/моль;

ε – молярный коэффициент поглощения НАДН, дм$^3 \cdot$ см$^{-1} \cdot$ ммоль$^{-1}$;

ε = 6,30 при длине волны 340 нм;

ε = 3,40 при длине волны 334 нм;

ε = 6,18 при длине волны 360 нм;

d – толщина поглощающего слоя в кювете, см; d = 1 см;

2 – количество молекул НАДН, образующихся при окислении 1 молекулы этилового спирта;

V_2 – объем раствора этилового спирта в кювете по 7.3.7.2, см^3; V_2 = 0,1 см^3;

1000 – коэффициент пересчета моль в ммоль;

ΔA – изменение оптических плотностей, рассчитанное по формуле (6).

Вычисления проводят до третьего десятичного знака.

Измеренное содержание этилового спирта в растворе по 7.3.6 должно составлять (0,057 ± 0,003) г/дм^3. Если содержание этилового спирта составляет менее (0,057 ± 0,003) г/дм^3, то измерение следует повторить со свежеприготовленными растворами реактивов.

7.3.8 Приготовление раствора ароматизатора

Пробу жидкого или пастообразного ароматизатора, взвешенную с записью результата до четвертого десятичного знака, вносят в мерную колбу и доводят объем до метки дистиллированной водой. Массу пробы, вместимость колбы и коэффициент разбавления выбирают таким образом, чтобы массовая концентрация этилового спирта в анализируемом растворе была в интервале от 0,02 до 0,12 г/дм^3 (см. таблицу 3).

Таблица 3

Массовая концентрация этилового спирта в анализируемом растворе, г/дм^3		Разбавление, объемные части (анализируемый раствор : вода)	Коэффициент разбавления n
измеренная при			
340, 334 нм	365 нм		
До 0,06	До 0,12		1
От 0,06 до 0,60	От 0,12 до 1,20	1: 10	10
От 0,60 до 6,00	От 1,20 до 12,00	1:100	100
От 6,00 до 60,00	От 12,00 до 120,00	1:1000	1000
Свыше 60,00	Свыше 120,00	1:10000	10000

Для предотвращения испарения этилового спирта при приготовлении растворов, в мерную колбу сначала вносят дистиллированную воду в количестве, равном половине объема колбы, а затем вносят анализируемый раствор, помещая конец пипетки с анализируемым раствором ниже поверхности воды в колбе, после чего доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают колбу притертой пробкой и тщательно перемешивают.

7.4 Проведение анализа

В две фотометрические кюветы последовательно дозируют по 3,0 см^3 реакционной смеси по 7.3.5. Затем в кювету № 1 ($A_{1контр}$) добавляют 0,1 см^3 дистиллированной воды, а в кювету № 2 ($A_{1опыт}$) – 0,1 см^3 анализируемого раствора ароматизатора. Содержимое кювет перемешивают пластиковыми шпателями и оставляют при температуре от 20 °С до 25 °С на 3 мин (по секундомеру). Измеряют оптическую плотность растворов относительно оптической плотности воды.

Затем в обе кюветы добавляют по 0,05 см^3 суспензии АДГ по 7.3.4. Содержимое кювет перемешивают пластиковыми шпателями и оставляют при температуре от 20 °С до 25 °С на 15 мин (по секундомеру). Измеряют оптическую плотность содержимого в кювете № 1 ($A_{2контр}$) и № 2 ($A_{2опыт}$) относительно оптической плотности воды.

7.5 Обработка и оформление результатов измерений

Изменение оптических плотностей, которые вызваны окислением этилового спирта до ацетальдегида и уксусной кислоты (ΔA) рассчитывают по формуле

$$\Delta A = (A_{2опыт} - A_{1опыт}) - (A_{2контр} - A_{1контр}), \quad (8)$$

где $A_{2опыт}$ – оптическая плотность реакционной смеси с АДГ в опытной кювете;

$A_{1опыт}$ – оптическая плотность реакционной смеси в опытной кювете;

$A_{2контр}$ – оптическая плотность реакционной смеси с АДГ в контрольной кювете;

$A_{1контр}$ – оптическая плотность реакционной смеси в контрольной кювете.

Значение ΔA не должно быть менее 0,1 ед. оптической плотности. Если значение ΔA менее 0,1 ед. оптической плотности, необходимо повторить анализ, приготовив анализируемый раствор с меньшим разведением.

Массовую долю этилового спирта в пробе ароматизатора X_4, %, вычисляют по формуле

$$X_4 = \frac{V_1 M_n}{\varepsilon d \cdot 2 \cdot V_2 m \cdot 100} \Delta A \cdot 100 \quad (9)$$

или

$$X_2 = 72{,}56 \frac{\Delta A \cdot n}{\varepsilon \cdot m}, \quad (10)$$

где V1 – общий объем раствора в кювете по 7.4, см3; V1 = 3,15 см^3;

M – молярная масса этилового спирта, г/моль; М = 46,07 г/моль;

n – коэффициент разбавления пробы по 7.3.7 (таблица 2);

ε – молярный коэффициент поглощения НАДН, дм^3·см$^{-1}$·м·моль$^{-1}$;

ε = 6,30 при длине волны 340 нм; ε = 3,40 при длине волны 334 нм; ε = 6,18 при длине волны 360 нм;
d – толщина поглощающего слоя в кювете, см; d = 1 см;
2 – количество молекул НАДН, образующихся при окислении 1 молекулы этилового спирта;
V_2 – объем пробы анализируемого раствора в кювете по 7.4, см^3;
V_2 = 0,1 см^3;
m – массовая концентрация ароматизатора в анализируемом растворе (см.7.3.7), г;
1000 – коэффициент пересчета моль в ммоль;
100 – коэффициент пересчета в проценты.

Вычисления проводят до третьего десятичного знака.

7.6 Контроль точности результатов измерений

За окончательный результат измерений принимают среднеарифметическое значение $X_{2ср}$, %, двух параллельных определений массовой доли этилового спирта, полученных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости

$$(X_{2макс} - X_{2мин})\ 100/X_{2ср} \le r, \quad (9)$$

где $X_{2макс}$ – максимальная массовая доля этилового спирта в пробе;
$X_{2мин}$ – минимальная массовая доля этилового спирта в пробе;
$X_{2ср}$ – среднее значение двух параллельных измерений массовой доли этилового спирта в пробе;
r – значение предела повторяемости, %, приведенное в таблице 2.

Результат анализа представляют в виде

$$X_{2ср} \pm 0{,}01\ \delta\ X_{2ср} \text{ при } P = 0{,}95 \quad (10)$$

где $X_{2ср}$ – среднеарифметическое значение результатов двух определений, признанных приемлемыми, %;
δ – границы относительной погрешности измерений, %.

Пределы повторяемости r и воспроизводимости R, а также показатель точности δ для диапазона измерений массовой доли этилового спирта от 0,002 % до 12,000 % представлены в таблице 4.

Таблица 4

Предел повторяемости r, % отн., при P = 0,95	Предел воспроизводимости R, % отн., при P = 0,95	Показатель точности (границы относительной погрешности) ± δ,%, при P = 0,95
3	5	3

УДК: 663.051:006.354 МКС 67.220.20

Ключевые слова: ароматизаторы пищевые, этиловый спирт, метод газовой хроматографии, ферментативный метод

Подписано в печать 01.09.2014. Формат 60х841/8.
Усл. печ. л. 1,40. Тираж 63 экз. Зак. 3420.

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