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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 31683— 2012

ЗЕРНОВОЕ КРАХМАЛОСОДЕРЖАЩЕЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ЭТИЛОВОГО СПИРТА

Методы определения массовой доли сбраживаемых углеводов

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

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 Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии» Россельхозакадемии (ГНУ ВНИИПБТ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 15 ноября 2012 г. № 42)

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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1660-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31683—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2013 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 52934—2008

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, 2013

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 и определения . . . 2
4 Отбор проб . . . 2
5 Физико-химические (поляриметрические) методы . . . 2
5.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы . . . 3
5.2 Метрологические характеристики . . . 3
5.3 Подготовка к анализу . . . 4
5.4 Проведение анализа . . . 5
5.5 Обработка результатов . . . 6
5.6 Контроль точности результатов определений . . . 7
5.7 Требования безопасности . . . 8
6 Экспресс-метод . . . 8
6.1 Область применения метода . . . 8
6.2 Сущность метода . . . 8
6.3 Средства измерений и вспомогательное оборудование . . . 8
6.4 Метрологические характеристики . . . 8
6.5 Подготовка к выполнению измерений . . . 9
6.6 Выполнение измерений . . . 10
6.7 Обработка результатов измерений . . . 11
6.8 Контроль точности результатов измерений . . . 11
6.9 Требования безопасности . . . 12
7 Биологический метод (метод бродильной пробы) . . . 12
7.1 Сущность метода . . . 12
7.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы . . . 12
7.3 Метрологические характеристики . . . 13
7.4 Подготовка к анализу . . . 13
7.5 Проведение сбраживания зерна . . . 14
7.6 Анализ продуктов брожения . . . 14
7.7 Обработка результатов . . . 15
7.8 Контроль точности результатов определений . . . 16
7.9 Требования безопасности . . . 16
8 Требования к квалификации оператора . . . 16
Библиография . . . 17

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

ЗЕРНОВОЕ КРАХМАЛОСОДЕРЖАЩЕЕ СЫРЬЕ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ЭТИЛОВОГО СПИРТА

Методы определения массовой доли сбраживаемых углеводов

Grain starch-containing raw material for production of ethanol. Methods for determination of fermented carbohydrates mass fraction

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на зерновое крахмалосодержащее сырье (далее — зерно) для производства этилового спирта и устанавливает следующие методы определения массовой доли сбраживаемых углеводов (далее — условной крахмалистости зерна):

физико-химические (поляриметрические) методы: для зерна (кроме пшеницы) и зерносмеси; для зерна пшеницы;

экспресс-метод с использованием спектроскопии в ближней инфракрасной области для зерна ржи, пшеницы, ячменя и тритикале;

биологический метод (метод бродильной пробы) для зерна всех культур и зерносмеси, являющийся арбитражным.

Диапазон измеряемых массовых долей сбраживаемых углеводов для физико-химических и биологического методов соответствует их природному содержанию в каждой культуре зерна, а для экспресс-метода составляет от 40 % до 65 % включительно.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3765—78 Реактивы. Аммоний молибденовокислый. Технические условия

ГОСТ 4174—77 Реактивы. Цинк сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4207—75 Реактивы. Калий железистосинеродистый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13586.3—83 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 13586.5—93 Зерно. Метод определения влажности

ГОСТ 14262—78 Реактивы. Кислота серная особой чистоты. Технические условия

Издание официальное

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

ГОСТ 18481—81 Ареометры и цилиндры стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

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

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

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

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

ГОСТ 29251—91 (ИСО 385-1—84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по 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 и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **пищевое сырье спиртового производства:** Пищевое сырье, за исключением плодово-ягодного, содержащее достаточное для промышленной переработки количество крахмала или сахара, и головная фракция этилового спирта, полученная при производстве этилового спирта из пищевого сырья.

3.2 **крахмалосодержащее сырье:** Органы растений, содержащие крахмал в количестве, достаточном для их промышленной переработки.

Примечание — В зависимости от вида растений различают корнеклубневое, зерновое и зернобобовое крахмалосодержащее сырье.

3.3 **условная крахмалистость зерна:** Массовая доля сбраживаемых углеводов (крахмала и сахаров) в зерновом крахмалосодержащем сырье.

3.4 **зерносмесь:** Смесь основной культуры зерна с одной или несколькими другими зерновыми культурами, в которой массовая доля других зерновых культур превышает 15 %.

3.5 **сорная примесь зерна:** Минеральная и/или органическая сорная примесь, не содержащая крахмала.

3.6 **двухуровневая сеть:** Совокупность анализаторов, работающих с применением одних и тех же градуировочных моделей, разрабатываемых только на одном из этих приборов с последующим переносом данных моделей на остальные приборы сети.

3.7 **мастер-прибор сети:** Один из анализаторов в двухуровневой сети, на котором разрабатываются градуировочные модели для последующего переноса на все остальные анализаторы данной сети.

4 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 13586.3. Отобранные средние пробы помещают в стеклянные или пластмассовые контейнеры (банки, бутылки) с герметично закрывающимися крышками. Пробы хранят в сухом помещении при комнатной температуре.

5 Физико-химические (поляриметрические) методы

Сущность методов заключается в растворении крахмала и других углеводов, содержащихся в зерне, кроме пшеницы, или в зерносмеси в горячем разбавленном растворе соляной кислоты или насыщенном растворе хлорида кальция (при анализе пшеницы), осаждении белковых веществ, фильтровании и измерении оптического угла вращения полученного раствора.

5.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы

Поляриметр или сахариметр любой марки.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 любого типа, среднего класса точности, наибольшим пределом взвешивания до 1000 г, с дискретностью 10 мг.

Секундомер любой марки или часы с секундной стрелкой.

Ареометры стеклянные по ГОСТ 18481.

Термометр стеклянный диапазоном измерений от 0 °С до 50 °С включительно и погрешностью измерения ± 1 °С по ГОСТ 28498.

Цилиндр 1-50 по ГОСТ 1770.

Колбы мерные исполнения 2 по ГОСТ 1770 вместимостью 100 $см^3$.

Пипетки 1-2-2-25; 1-2-2-10; 1-1-2-1; 1-1-2-2 и 1-2-2-5 по ГОСТ 29227.

Пипетки 1-2-1 по ГОСТ 29169.

Мельница лабораторная.

Шкаф сушильный электрический диапазоном температуры в рабочей зоне высушивания от 100 °С до 140 °С включительно и погрешностью стабилизации температуры ± 2 °С.

Шкаф сушильный электрический или термостат диапазоном температуры от 40 °С до 200 °С включительно и погрешностью стабилизации температуры ± 5 °С.

Эксикатор исполнения 2 по ГОСТ 25336.

Сита № 1 и № 05.

Плитка электрическая нагревательная по ГОСТ 14919 или газовая горелка.

Баня водяная.

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

Колбы Кн-100 по ГОСТ 25336.

Стакан В-1-2000 по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания любого типа по ГОСТ 25336.

Воронки лабораторные по ГОСТ 25336.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, ч., раствор массовой концентрации 1,6 г/100 $см^3$.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, ч., раствор массовой концентрации 1,124 г/100 $см^3$.

Цинк сернокислый 7-водный по ГОСТ 4174, ч., раствор массовой концентрации 30 г/100 $см^3$.

Калий железистосинеродистый 3-водный по ГОСТ 4207, ч., раствор массовой концентрации 15 г/100 $см^3$.

Аммоний молибденовокислый по ГОСТ 3765, ч., раствор массовой концентрации 2,5 г/100 $см^3$.

Кальций хлорид 6-водный или кальций хлорид 2-водный, насыщенный раствор плотностью 1,300 $г/см^3$.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, ч. д. а., раствор молярной концентрации $c(NaOH) = 0{,}1$ моль/$дм^3$.

Индикатор метиловый оранжевый, раствор массовой концентрации 0,1 г/100 $см^3$.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применение средств измерений, вспомогательного оборудования и реактивов с характеристиками и по качеству не ниже указанных.

5.2 Метрологические характеристики

5.2.1 Физико-химические (поляриметрические) методы обеспечивают получение результатов определений массовых долей сбраживаемых углеводов в зерне с показателями точности, приведенными в таблице 1.

Таблица 1

Определяемое вещество	Диапазон измеряемых массовых долей, %	Показатели точности		
		Границы абсолютной погрешности ± Δ, %, при $P = 0{,}95$	Предел повторяемости (сходимости) r, %, при $P = 0{,}95$, $n = 2$	Значение критической разности для результатов анализа, полученных в двух разных лабораториях, $CD_{0,95}$, %, ($n_1 = n_2 = 2$)
Сбраживаемые углеводы	Природное содержание в каждой культуре зерна	0,7		

5.3 Подготовка к анализу

5.3.1 Приготовление реактивов

5.3.1.1 Приготовление раствора соляной кислоты массовой концентрации 1,124 г/100 см^3

Отмеривают цилиндром вместимостью 50 см^3 24,9 см^3 соляной кислоты плотностью 1,189 г/см^3 в мерную колбу вместимостью 1000 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой при температуре (20 ± 1) °С, перемешивают.

Массовую концентрацию соляной кислоты в полученном растворе определяют титрованием раствором гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 0,1 моль/дм^3.

В коническую колбу вместимостью 50 см^3 пипеткой вместимостью 5 см^3 вносят 5,0 см^3 раствора соляной кислоты, приливают 10 см^3 дистиллированной воды, перемешивают и титруют в присутствии двух капель метилоранжа. На титрование должно быть израсходовано (15,40 ± 0,02) см^3 раствора гидроокиси натрия. Отклонение массовой концентрации соляной кислоты в растворе не должно превышать 0,002 г/100 см^3.

5.3.1.2 Приготовление раствора сернокислого цинка массовой концентрации 30 г/100 см^3

Навеску массой (30,00 ± 0,01) г сернокислого цинка переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, приливают от 60 до 70 см^3 дистиллированной воды, помешивают до полного растворения соли (в случае необходимости раствор нагревают в водяной бане) и доводят объем до метки дистиллированной водой при температуре (20 ± 1) °С.

5.3.1.3 Приготовление раствора железистосинеродистого калия массовой концентрации 15 г/100 см^3

Навеску массой (17,65 ± 0,01) г железистосинеродистого калия переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, приливают от 60 до 70 см^3 дистиллированной воды, помешивают до полного растворения соли (в случае необходимости раствор нагревают в водяной бане) и доводят до метки дистиллированной водой при температуре (20 ± 1) °С.

5.3.1.4 Приготовление раствора молибденовокислого аммония массовой концентрации 2,5 г/100 см^3

Навеску массой (2,50 ± 0,01) г молибденовокислого аммония переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, приливают от 60 до 70 см^3 дистиллированной воды, помешивают до полного растворения соли и доводят до метки дистиллированной водой при температуре (20 ± 1) °С.

5.3.1.5 Приготовление раствора уксусной кислоты массовой концентрации 1,6 г/100 см^3

1,7 см^3 уксусной кислоты пипеткой вместимостью 2 см^3 вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, объем доводят до метки дистиллированной водой при температуре (20 ± 1) °С и перемешивают.

5.3.1.6 Приготовление насыщенного раствора хлорида кальция плотностью 1,300 г/см^3

Навеску хлорида кальция 2-водного массой (750 ± 1) г или 6-водного массой (1100 ± 1) г помещают в химический стакан вместимостью 2000 см^3, который ставят в водяную баню с температурой 45 °С, и постепенно порциями при помешивании в него приливают 1 дм^3 дистиллированной воды температурой от 50 °С до 60 °С. Полученный раствор охлаждают до (20 ± 1) °С и измеряют относительную плотность раствора ареометром.

Если относительная плотность раствора выше или ниже 1,300 г/см^3, то к раствору добавляют дистиллированную воду или хлорид кальция и снова измеряют относительную плотность раствора, добиваясь значения, равного 1,300 г/см^3.

5.3.2 Подготовка пробы зерна к анализу

5.3.2.1 Выделение навесок

При подработке зерна на складе среднюю пробу составляют из зерна, передаваемого в производство, то есть частично очищенного от сорной примеси. При подработке зерна в производстве среднюю пробу составляют из неочищенного зерна.

Из средней пробы зерна на делителе или ручным способом, указанным в ГОСТ 13586.3, выделяют по две параллельные навески зерна массой от 20 до 100 г (кукурузы — от 90 до 100 г, проса — от 20 до 25 г, всех остальных культур — от 40 до 50 г). Одну навеску используют для определения сорной примеси, влажности помола, условной крахмалистости, а другую — для определения влажности зерна.

5.3.2.2 Определение содержания сорной примеси зерна

Одну из выделенных навесок помещают на стекло или любую гладкую ровную поверхность и вручную отбирают сорную примесь органического происхождения, не содержащую крахмала (солому, мякину, лузгу, полову, колосья после извлечения из них зерен, кусочки початков кукурузы и другие), минерального происхождения (гальку, шлак, руду, камешки, комочки земли и другие).

Семена дикорастущих трав, культурных растений, испорченные зерна и другую примесь, содержащую крахмал, к сорной примеси не относят.

Отобранную сорную примесь взвешивают с точностью до 0,01 г.

Массовую долю сорной примеси M_c, %, вычисляют по формуле

$$M_c = \frac{m_c 100}{m}, \quad (1)$$

где m_c — масса сорной примеси, г;

m — масса навески зерна, г.

5.3.2.3 Определение влажности зерна

Влажность исходного или предварительно подсушенного зерна (W_1), также влажность помола (W_2) определяют в соответствии с ГОСТ 13586.5 согласно руководству, приложенному к прибору.

Влажность зерна определяют в выделенной навеске без отделения сорной примеси.

Зерно, содержащее более 17 % влаги, перед размолом предварительно подсушивают на воздухе или в сушильном шкафу при температуре не выше 50 °С до остаточной влажности в пределах от 9 % до 15 % включительно. Для зерна овса и кукурузы предварительное подсушивание проводят при влажности более 15 %. При обработке результатов по 5.5 в формуле (2) используют значение влажности W_1 исходного зерна.

5.3.2.4 Приготовление помола зерна для определения условной крахмалистости и влажности помола

Очищенное от сорной примеси и при необходимости подсушенное зерно размалывают на лабораторной мельнице так, чтобы все размолотое зерно при просеивании прошло через сито с диаметром отверстий 1 мм, для кукурузы — 0,5 мм.

Размолотое зерно помещают на ровную гладкую поверхность и двумя плоскими совками перемешивают и разравнивают слоем толщиной от 3 до 5 мм.

При анализе с применением соляной кислоты отбирают совком не менее чем из 10 разных мест слоя две параллельные навески массой (5,00 ± 0,01) г для определения условной крахмалистости и одновременно две параллельные навески массой (5,00 ± 0,01) г для определения влажности помола.

При анализе пшеницы с применением насыщенного раствора хлорида кальция отбирают две параллельные навески массой (2,00 ± 0,01) г для определения условной крахмалистости и одновременно две параллельные навески массой (5,00 ± 0,01) г для определения влажности помола.

5.3.3 Подготовка пробы зерносмеси к анализу

Для определения состава зерновой смеси (массовой доли отдельных культур в смеси) отбирают навеску массой (50,00 ± 0,01) г, помещают ее на гладкую ровную поверхность и вручную разбирают по видам зерна.

Засоренность и содержание составных частей выражают в процентах к массе исходной навески зерносмеси.

Семена дикорастущих и культурных растений, испорченные зерна, не отнесенные к основным частям зерносмеси, содержащие крахмал, следует относить к основной культуре.

Влажность исходной зерносмеси и размолотой зерносмеси (помола) определяют по ГОСТ 13586.5.

5.4 Проведение анализа

5.4.1 Проведение анализа зерна (кроме пшеницы) или зерносмеси с применением раствора соляной кислоты массовой концентрации 1,124 г/100 см^3

Две параллельные навески размолотого зерна массой (5,00 ± 0,01) г каждая переносят без потерь в две сухие мерные колбы вместимостью 100 см^3, приливают в каждую по 50 см^3 раствора соляной кислоты в два приема по 25 см^3. После добавления первой порции раствора соляной кислоты содержимое колб взбалтывают до полного смачивания продукта и исчезновения комочков. Следующими 25 см^3 раствора соляной кислоты смывают частицы муки со стенок горловины колб, смесь осторожно перемешивают и помещают колбы в кипящую водяную баню на 15 мин. В течение первых трех минут, не вынимая колб из бани, размешивают их содержимое плавными круговыми движениями. Необходимо, чтобы вода в бане была выше уровня жидкости в колбах и непрерывно кипела.

Через (15,0 ± 0,5) мин колбы вынимают из бани и быстро приливают в них по (25—30) см^3 холодной дистиллированной воды, перемешивают и растворы охлаждают до температуры (20,0 ± 0,2) °С в холодной проточной воде.

В колбы приливают для осаждения белков и осветления растворов по 1 см^3 раствора сернокислого цинка и после перемешивания добавляют по 1 см^3 раствора железистосинеродистого калия. Содержимое колб снова перемешивают.

Взамен указанных растворов допускается проводить осветление и осаждение белков путем добавления 6 $см^3$ раствора молибденовокислого аммония.

Объем жидкости в колбах доводят до метки дистиллированной водой при температуре (20,0 ± 0,2) °С и после тщательного перемешивания растворы фильтруют через сухие складчатые бумажные фильтры в чистые сухие конические колбы.

При фильтровании первые порции фильтрата отбрасывают, остальной фильтрат используют для измерения угла вращения плоскости поляризации.

Измерение проводят в поляризационной кювете длиной 200 мм при температуре (20,0 ± 0,2) °С; при анализе овса используют кювету длиной 100 мм, удваивая при этом результаты измерений.

Для определения поляризации кювету ополаскивают фильтратом, затем осторожно, чтобы в жидкость не попали пузырьки воздуха, заполняют ее фильтратом, закрывают покровным стеклом и пробкой с винтовой нарезкой и досуха вытирают снаружи.

Измерения на поляриметре или сахариметре проводят согласно инструкциям, приложенным к приборам.

Значения условной крахмалистости для каждой пробы зерна (кроме пшеницы) и зерносмеси рассчитывают в соответствии с 5.5.

5.4.2 Проведение анализа зерна пшеницы с применением насыщенного раствора хлорида кальция

В две сухие круглодонные колбы вместимостью 100 $см^3$ с горловиной диаметром не менее 2,5 см вносят по (2,00 ± 0,01) г помола зерна пшеницы, добавляют по 5 $см^3$ дистиллированной воды и размешивают стеклянной палочкой до исчезновения комочков. Затем приливают по 60 $см^3$ насыщенного раствора хлорида кальция и по 2 $см^3$ раствора уксусной кислоты по 5.3.1.5.

Содержимое колб тщательно перемешивают. Колбы закрепляют в штативе на некотором расстоянии от источника нагрева и равномерно нагревают до кипения в течение 5 мин (пламя газовой горелки должно быть покрыто асбестовой сеткой). Во время нагрева содержимое колб перемешивают стеклянной палочкой. Кипячение проводят в течение 15 мин. В процессе кипячения следят за тем, чтобы кипение было умеренным, без вспенивания жидкости и образования комочков помола зерна на стенках колб.

После кипячения содержимое колбы в горячем состоянии переносят в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ и охлаждают в проточной холодной воде до комнатной температуры. Круглодонную колбу и стеклянную палочку ополаскивают дистиллированной водой, сливая ее в мерную колбу.

Для осаждения белков и осветления растворов добавляют к содержимому мерной колбы по 1 $см^3$ раствора сернокислого цинка и после перемешивания по 1 $см^3$ раствора железистосинеродистого калия. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой при температуре (20,0 ± 0,2) °С, тщательно перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр в сухие колбы. Если растворы плохо фильтруются, то анализ повторяют, увеличивая количество уксусной кислоты до 3 $см^3$.

Фильтрование и снятие показаний на поляриметре или сахариметре проводят аналогично изложенному в 5.4.1.

Значения условной крахмалистости для каждой пробы зерна пшеницы рассчитывают в соответствии с 5.5.

5.5 Обработка результатов

5.5.1 Условную крахмалистость зерна X, %, при проведении анализа с раствором соляной кислоты и с раствором хлорида кальция и при использовании сахариметра с нормальной сахарной шкалой вычисляют по формуле

$$X = \frac{K\Pi(100 - W_1)(100 - M_c)}{(100 - W_2)100}, \quad (2)$$

где K — градуировочный коэффициент (% крахмала / градус шкалы сахариметра) при анализе с применением раствора соляной кислоты, равный:
для ячменя — 1,912, овса — 1,914, ржи — 1,957, кукурузы — 1,849, риса — 1,866, проса и чумизы — 1,818, вики, гороха и чечевицы — 1,847, сорго и гаоляна — 1,865, гречихи — 1,805, тритикале — 1,883, тапиоки — 1,854; при анализе пшеницы с применением раствора хлорида кальция — 4,271;

$П$ — показание сахариметра (поляриметра), градусы шкалы;

W_1 — влажность исходного зерна, %;

W_2 — влажность помола, %;

M_c — массовая доля сорной примеси в зерне, %, по 5.3.2.2;

100 — перевод из процентов в доли.

При анализе зерносмеси градуировочный коэффициент ($K_{см}$) рассчитывают по формуле

$$K_{см} = \frac{K_1Q_1 + K_2Q_2 + \ldots + K_nQ_n}{(100 - M_c)}, \quad (3)$$

где K_1, K_2 ...K_n — градуировочные коэффициенты для культур зерна, входящих в состав зерносмеси, приведенные выше; для пшеницы градуировочный коэффициент равен 1,813;

Q_1, Q_2 ...Q_n — массовая доля отдельных культур в смеси, %;

M_c — массовая доля сорной примеси в зерносмеси, %.

При использовании поляриметров с круговой шкалой показания прибора ($П$) в формуле (2) делят на 0,3468 — коэффициент перевода градусов круговой шкалы в градусы нормальной сахарной шкалы.

Вычисления по формуле (2) проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

5.5.2 За результат измерений условной крахмалистости зерна принимают среднеарифметическое значение $X_{ср}$, %, двух параллельных определений, полученных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости по формуле

$$|X_1 - X_2| \le r, \quad (4)$$

где X_1, X_2 — результаты параллельных определений условной крахмалистости зерна, %;

r — значение предела повторяемости, % (см. таблицу 1).

Если условие приемлемости не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с 5.4.

5.5.3 Результат определения условной крахмалистости, %, представляют в виде:

$$X_{ср} \pm \Delta \text{ при } P = 0{,}95,$$

где $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов определений условной крахмалистости зерна, признанных приемлемыми, %;

$\pm\Delta$ — границы абсолютной погрешности, %, (см. таблицу 1).

5.6 Контроль точности результатов определений

5.6.1 Проверку приемлемости результатов проводят при выполнении каждого анализа в соответствии с 5.5.2.

5.6.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

5.6.2.1 Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях в соответствии с 5.4.1 и 5.4.2, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ (см. таблицу 1):

$$|X_{ср1} - X_{ср2}| \le CD_{0,95}, \quad (5)$$

где $X_{ср1}$, $X_{ср2}$ — среднеарифметические значения результатов определений условной крахмалистости, %, полученные в каждой лаборатории.

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, полученные двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если критическая разность превышена, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.3). При разногласиях руководствуются ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.4).

5.6.2.2 Приемлемость результатов измерений, когда измерения выполняются в одной лаборатории, но с длительным интервалом времени между измерениями (при проведении внутреннего контроля), оценивают положительно, если разность этих измерений не превышает 0,5 %:

$$|X_{ср1} - X_{ср2}| \le 0{,}5\ \%, \quad (6)$$

где $X_{ср1}$, $X_{ср2}$ — среднеарифметические значения результатов определений условной крахмалистости, %, полученные ранее в лаборатории и в период проведения внутреннего контроля.

Если условие приемлемости не выполняется, выявляют и устраняют причины расхождений и повторяют выполнение измерений.

5.6.3 Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6, используя метод контроля стабильности стандартного отклонения

повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-6 с применением контрольных карт Шухарта. При неудовлетворительных результатах контроля, например при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют и устраняют причины этих отклонений.

Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений устанавливают в Руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025.

5.7 Требования безопасности

При выполнении анализов соблюдают правила работы с концентрированными кислотами. Все работы проводят в вытяжных шкафах.

При переливании кислоты следят за тем, чтобы ее не разлить, не капнуть на стол, не облить бутыль. Если это произошло, то переливание следует прекратить, а разлитую жидкость нейтрализовать раствором питьевой соды массовой концентрации 5 г/100 $см^3$.

При попадании кислоты на тело промывают это место большим количеством воды, затем раствором питьевой соды, затем снова водой.

6 Экспресс-метод

6.1 Область применения метода

Метод применяется для зерна ржи, пшеницы, ячменя и тритикале, используемого в производстве этилового спирта, с использованием инфракрасного анализатора (далее — ИК-анализатор). С помощью этого анализатора одновременно определяют влажность испытуемого зерна, поскольку показатель «условная крахмалистость» относится к зерну с той влажностью, которую оно имеет на момент испытания.

Метод пригоден для зерна, в котором массовая доля других культур не превышает 5 %.

Диапазоны измеряемых значений условной крахмалистости и влажности зависят от набора образцов зерна, используемых для градуировки анализатора.

6.2 Сущность метода

Сущность метода заключается в измерении спектров пропускания образцов зерна в ближней инфракрасной области и автоматическом вычислении значений условной крахмалистости и влажности с помощью предварительно разработанных градуировочных моделей.

6.3 Средства измерений и вспомогательное оборудование

6.3.1 Средства измерений

ИК-анализатор для регистрации спектров поглощения в ближней инфракрасной области от 13000 до 9000 $см^{-1}$ с программным обеспечением, предназначенным для управления работой прибора и обработки результатов измерений, в том числе создания градуировочных моделей.

6.3.2 Вспомогательное оборудование

Кювета с длиной оптического пути 18 мм.

Шпатель.

Воронка для засыпания зерна.

Кисточка.

Ткань хлопчатобумажная.

Герметично закрывающиеся стеклянные или пластмассовые емкости вместимостью 250 $см^3$ с притертой пробкой или завинчивающейся крышкой, либо полиэтиленовые пакеты вместимостью 250 $см^3$ для отбора и хранения проб.

Сушильный шкаф с диапазоном температуры в рабочей зоне высушивания 100 °С—140 °С.

Допускается применение средств измерения и вспомогательного оборудования с характеристиками и по качеству не ниже указанных.

6.4 Метрологические характеристики

Метод обеспечивает получение результатов анализа условной крахмалистости и массовой доли влаги зерна ржи, пшеницы, ячменя и тритикале с показателями точности, приведенными в таблице 2.

Таблица 2

Определяемое вещество	Диапазон измеряемых массовых долей, %	Показатели точности			
		Предел повторяемости (сходимости) r, %, при $P = 0,95$, $n = 2$	Границы абсолютной погрешности $\pm \Delta$, %, при $P = 0,95$	Предельное значение среднеквадратического отклонения SEV при проверке градуировочной модели SEV, %	Значение критической разности для результатов анализа, полученных в двух разных лабораториях $\pm CD_{0,95}$, %, ($n_1 = n_2 = 2$)
Сбраживаемые углеводы	От 40 до 65 включ.	0,6	0,5	0,6	0,6
Влага	От 8 до 17 включ.	0,2	0,6	0,3	0,3

6.5 Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений должны быть выполнены следующие операции: отбор средней пробы зерна; выделение навесок для анализа; определение сорной примеси; подготовка анализатора к работе; градуировка анализатора (разрабатывается для мастер-прибора сети и переносится на рабочие приборы); проверка градуировки анализатора; подготовка и заполнение кюветы анализатора.

6.5.1 Отбор и подготовка средней пробы — по разделу 4.

6.5.2 Выделение навесок

Из средней пробы зерна на делителе или ручным способом, указанным в ГОСТ 13586.3, выделяют навеску зерна массой 100 г для определения сорной примеси, условной крахмалистости и влажности.

6.5.3 Определение сорной примеси

Определение сорной примеси проводят по 5.3.2.2.

6.5.4 Подготовка анализатора к работе

Подготовку ИК-анализатора к работе проводят в соответствии с Руководством по эксплуатации.

После включения ИК-анализатора и его перехода в рабочий режим, но не ранее, чем через 30 мин после включения, проводят проверку его работоспособности в соответствии с Руководством по эксплуатации.

6.5.5 Градуировка анализатора

Градуировка анализатора заключается в выборе набора образцов для градуировки, дополнительного набора образцов для проверки градуировки, в анализе образцов обоих наборов физико-химическими методами, получении спектров пропускания образцов, градуировочной модели, описывающей связь значений показателей со спектральными данными, и проверке полученной градуировочной модели.

6.5.5.1 Выбор набора образцов для градуировки

Отбор и подготовку образцов для градуировки осуществляют согласно 6.5.1—6.5.3, 6.5.6. Значения показателей в образцах для градуировки должны быть равномерно распределены по всему предполагаемому рабочему диапазону.

Рекомендуемое минимальное число образцов для создания градуировочной модели составляет 40 образцов.

6.5.5.2 Выбор дополнительного набора образцов для проверки градуировки

Отбор и подготовку образцов осуществляют согласно 6.5.5.1.

Значения показателей в образцах дополнительного набора должны быть равномерно распределены по всему предполагаемому рабочему диапазону.

Число образцов дополнительного набора должно быть не менее 20. Образцы из дополнительного набора не должны входить в основной набор градуировочных образцов.

6.5.5.3 Физико-химический анализ образцов

Аттестацию образцов градуировочного набора и дополнительного набора для проверки градуировки проводят следующими методами:

- условную крахмалистость определяют в зерне ржи, ячменя и тритикале с применением раствора соляной кислоты по 5.4.1, в зерне пшеницы — с применением насыщенного раствора хлорида кальция по 5.4.2;
- содержание влаги определяют по ГОСТ 13586.5.

Образцы до момента регистрации их спектров хранят в условиях, обеспечивающих сохранность полученных значений показателей.

6.5.5.4 Получение спектров пропускания для образцов градуировочного и дополнительного наборов

Спектры пропускания образцов регистрируют на ИК-анализаторе согласно Руководству по эксплуатации.

Измерения выполняют сразу после заполнения кюветы.

6.5.5.5 Получение градуировочной модели

Расчет градуировочной модели проводят согласно Руководству по эксплуатации ИК-анализатора.

6.5.5.6 Проверка градуировочной модели

Проверку градуировочной модели осуществляют по спектрам образцов дополнительного набора в следующей последовательности:

Определяют значения среднеквадратического отклонения по спектрам дополнительного набора для каждого определяемого показателя, которые рассчитывают по формуле

$$SEV = \sqrt{\frac{\sum_{m=1}^{M}(Y_m - \mu_m)^2}{M-1}}, \quad (7)$$

где M — число образцов для проверки градуировки;

μ_m — аттестованное значение показателя для i-го образца, %, (значение, полученное по 6.5.5.3);

Y_m — среднеарифметическое значение показателя, %, вычисляемое по формуле

$$Y_m = \frac{\sum_{i=1}^{K} Y_{mk}}{K}, \quad (8)$$

где Y_{mk} — результат k-го определения в условиях повторяемости (k = 1,..., K) для образца m, %;

K — число параллельных измерений в условиях повторяемости.

Расчет по формуле для каждого определяемого показателя с выводом на экран значения *SEV* (Standard error of validation) проводят с помощью программного обеспечения к ИК-анализатору.

Рассчитанные значения *SEV* не должны превышать значений норматива контроля правильности градуировки (см. таблицу 2).

Если рассчитанное значение *SEV* для какого-либо показателя выходит за указанные пределы, то данная градуировочная модель не обеспечивает требуемую точность определения. В таком случае необходимо проанализировать причины и откорректировать существующую градуировочную модель, либо создать новую модель на другом градуировочном наборе.

6.5.6 Подготовка пробы к анализу и заполнение кюветы

Анализ очищенного от сорной примеси зерна проводят при условиях, указанных в 6.6.2. Если образцы хранились в других условиях, то перед измерением пробу выдерживают в указанных условиях не менее 2 ч либо до достижения пробой температуры помещения. Зерно, содержащее более 17 % влаги, предварительно подсушивают в сушильном шкафу или на воздухе до остаточной влажности в пределах от 9 % до 15 %.

Кювета и окна кюветы должны быть очищены перед каждым заполнением с помощью спринцовки, кисточки или сухой хлопчатобумажной ткани.

Очищенное от сорной примеси зерно перемешивают и на гладкой поверхности распределяют в виде квадрата толщиной от 1,5 до 2,0 см. Затем с помощью шпателя зерно небольшими порциями, взятыми из разных мест, засыпают в кювету. Заполняют кювету анализируемой пробой так, чтобы зерно равномерно распределялось по всему объему кюветы и отсутствовали пустоты при просматривании содержимого на просвет (за исключением пространства непосредственно у боковых стенок кюветы). Заполненную кювету не следует встряхивать или уплотнять ее содержимое постукиванием.

6.6 Выполнение измерений

6.6.1 Порядок выполнения измерений

Измерения осуществляют согласно Руководству по эксплуатации ИК-анализатора.

6.6.2 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха . . . . . (25 ± 10) °С;
- относительная влажность воздуха . . . . . не более 80 %;
- атмосферное давление . . . . . от 84 до106,7 кПа;
- напряжение питания сети переменного тока. . . . . от 198 до 242 В;
- частота переменного тока . . . . . (50 ± 1) Гц.

В помещении, где проводят измерения, не должно быть механических вибраций, сильных электрических и магнитных полей, сильной запыленности, паров кислот и щелочей.

6.7 Обработка результатов измерений

6.7.1 Результаты единичного измерения условной крахмалистости X_i и влажности W_i зерна, очищенного от сорной примеси, вычисляют с помощью программного обеспечения к ИК-анализатору.

6.7.2 За результат анализа условной крахмалистости $X_ч$ и влажности $W_ч$ принимают среднеарифметическое значение двух параллельных измерений, если выполняется условие приемлемости по 6.8:

$$X_ч = (X_1 + X_2)/2, \quad (9)$$

$$W_ч = (W_1 + W_2)/2. \quad (10)$$

Условную крахмалистость исходного (сорного) зерна (X) вычисляют по формуле

$$X = X_ч\,(100 - M_c)/100, \quad (11)$$

где M_c — массовая доля сорной примеси в зерне, %.

Для зерна с влажностью $W_з$ более 17 % и подсушенного перед анализом до влажности $W_ч$ условную крахмалистость исходного зерна $X_{вл}$ вычисляют по формуле

$$X_{вл} = X\,(100 - W_з)/(100 - W_ч). \quad (12)$$

Результат округляют до трех значащих цифр.

6.7.3 Результаты определения условной крахмалистости X и массовой доли влаги W зерна представляют в виде:

$$X \pm \Delta_X \text{ при } P = 0{,}95,$$

$$W \pm \Delta_W \text{ при } P = 0{,}95,$$

где Δ_X, Δ_W — границы абсолютной погрешности, %, (см. таблицу 2).

6.8 Контроль точности результатов измерений

6.8.1 Проверка приемлемости результатов

Проверку приемлемости результатов измерений проводят при выполнении каждого анализа.

За результаты измерений условной крахмалистости и влажности принимают среднеарифметические значения двух параллельных определений, полученных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости по формулам

$$|X_1 - X_2| \le r_X \text{ и } |W_1 - W_2| \le r_W, \quad (13)$$

где X_1, X_2; W_1, W_2 — результаты параллельных определений условной крахмалистости зерна и массовой доли влаги;

r_X, r_W — значения пределов повторяемости для условной крахмалистости зерна и массовой доли влаги (см. таблицу 2).

Если условие приемлемости не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений.

6.8.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

6.8.2.1 Приемлемость результатов измерений, полученных в двух лабораториях в соответствии с 6.6, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ (см. таблицу 2):

$$|X_{ср1} - X_{ср2}| \le CD_{0,95}, \quad (14)$$

$$|W_{ср1} - W_{ср2}| \le CD_{0,95}, \quad (15)$$

где $X_{ср1}$, $X_{ср2}$; $W_{ср1}$, $W_{ср2}$ — среднеарифметические значения результатов определений условной крахмалистости зерна и массовой доли влаги в каждой лаборатории.

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если критическая разность превышена, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.3). При разногласиях руководствуются ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.4).

6.8.2.2 Приемлемость результатов измерений, когда измерения выполняются в одной лаборатории, но с длительным интервалом времени между измерениями (при проведении внутреннего контроля), оценивают положительно, если разность этих измерений не превышает 0,5 %:

$$|X_{ср1} - X_{ср2}| \le 0{,}5\ \%, \quad (16)$$

где $X_{ср1}$, $X_{ср2}$ — среднеарифметические значения результатов определений условной крахмалистости зерна, %, полученные ранее в лаборатории в период проведения внутреннего контроля.

Если условие приемлемости не выполняется, выясняют и устраняют причины расхождений и повторяют выполнение измерений.

6.8.3 Периодическая проверка градуировки

Проверку проводят не реже одного раза в год по 6.5.5.6 с использованием дополнительного набора образцов, удовлетворяющих требованиям 6.5.5.2.

Если результаты проверки не удовлетворяют требованиям 6.5.5.6 (в части норматива *SEV*), то необходимо создать новую градуировочную модель по 6.5.5 либо дополнить существующую модель.

Внеочередную проверку градуировки проводят после ремонта анализатора, результаты которого могли повлиять на метрологические характеристики анализатора.

6.8.4 Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6, используя метод контроля стабильности стандартного отклонения повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-6 с применением контрольных карт Шухарта. При неудовлетворительных результатах контроля, например при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют и устраняют причины этих отклонений.

Периодичность контроля и процедуры контроля стабильности результатов измерений устанавливают в Руководстве по качеству лаборатории в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025.

6.9 Требования безопасности

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019 и требования, изложенные в технической документации на ИК-анализатор.

7 Биологический метод (метод бродильной пробы)

Биологический метод используют в качестве арбитражного для определения условной крахмалистости зерна. Результаты, полученные биологическим методом, принимают как окончательные.

7.1 Сущность метода

Биологический метод основан на лабораторном сбраживании углеводов зерна в стандартных условиях подготовки пробы зерна к сбраживанию.

Условную крахмалистость зерна определяют по количеству получаемых продуктов брожения.

Для сбраживания используют размолотое зерно, которое клейстеризуют, разваривают под давлением, осахаривают ферментами и сбраживают дрожжами.

В зрелой бражке определяют объемную долю спирта и содержание несброженных углеводов. Все эти продукты пересчитывают на массу крахмала. Полученное значение массы крахмала принимают равным 93,7 % от количества крахмала, введенного с размолотым зерном. Остальные 6,3 % — это потери на различных стадиях процесса: 1,5 % — при разваривании, 1,5 % — на образование биомассы дрожжей, 2,5 % — на образование побочных продуктов брожения, 0,2 % — при перегонке бражки и 0,6 % — потери спирта с отходящим при брожении углекислым газом.

7.2 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 любого типа, среднего класса точности, наибольшим пределом взвешивания от 200 до 1000 г, с дискретностью 10 мг.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 любого типа, высокого класса точности, наибольшим пределом взвешивания 200 г, с дискретностью 0,1 мг.

Ареометры стеклянные для спирта типа АСП-1 или АСП-2 по ГОСТ 18481.

Термометры стеклянные с ценой деления 0,1 °С и 0,5 °С по ГОСТ 28498.

Фотоэлектроколориметр.

Секундомер.

Колбы мерные 1-100-2; 1-200-2; 1-250-2 и 1-1000-2 по ГОСТ 1770.

Бюретки 1-1-2-25-0,1 по ГОСТ 29251.

Пипетки 2-2-5; 2-2-10 по ГОСТ 29169 и 1-2-2-5 по ГОСТ 29227.

Цилиндры 1-50, 1-250, 1-500 по ГОСТ 1770.

Шкаф сушильный электрический.

Анализатор влажности.

Холодильник стеклянный лабораторный шариковый ХШ-3-400 или с прямой трубкой ХПТ-3-400 по ГОСТ 25336.

Каплеуловитель КО-14/23-100ХС или КО-60ХС по ГОСТ 25336.

Автоклав лабораторный.

Мельница лабораторная.

Электроплитка бытовая по ГОСТ 14919 или газовая горелка.

Баня водяная.

Центрифуга лабораторная любого типа.

Затвор (шариковый).

Палочки стеклянные.

Колбы Кн-1-500; Кн-1-750 по ГОСТ 25336.

Стаканчики для взвешивания по ГОСТ 25336.

Воронки лабораторные по ГОСТ 25336.

Пробирки вместимостью 25 $см^3$ с пришлифованными пробками.

Штатив для пробирок.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Антрон с массовой долей основного вещества не менее 98 %, раствор с массовой долей 0,2 %.

Ферментные препараты глюкоамилазы и альфа-амилазы любого происхождения.

Кислота серная по ГОСТ 14262, ос. ч., концентрированная.

Допускается применение средств измерений, вспомогательных материалов и реактивов с характеристиками и по качеству не ниже указанных.

7.3 Метрологические характеристики

Метод обеспечивает получение результатов измерений с показателями точности, приведенными в таблице 3, при доверительной вероятности $P = 0,95$.

Таблица 3

Определяемое вещество	Диапазон измерений массовых долей, %	Показатели точности	
		Значение критического диапазона $CR_{0,95}$, %, $n = 3$	Границы абсолютной погрешности $\pm \Delta$,%, при $P = 0,95$
Сбраживаемые углеводы	Природное содержание в каждой культуре зерна	1,5	0,6

7.4 Подготовка к анализу

7.4.1 Приготовление дрожжей

Производственное ржаное или пшеничное сусло разбавляют водопроводной водой до концентрации от 11 % до 12 %, разливают в бутылки вместимостью 500 $см^3$ по 200 $см^3$ в каждую, закрывают пробками из ваты и стерилизуют 30 мин под давлением 0,05 МПа (0,5 атм). Стерильное сусло можно использовать в течение года по мере необходимости.

Чистую культуру дрожжей из пробирки стерильно пересевают на 200 $см^3$ подготовленного сусла в бутылке, помещают в термостат с температурой 30 °С на 24 ч.

Односуточную культуру дрожжей пересевают на 200 $см^3$ свежего сусла в количестве от 10 % до 12 % от объема сусла и снова выдерживают в термостате 24 ч. Двухсуточную культуру дрожжей в количестве от 10 % до 12 % от объема сусла пересевают в две бутылки с 200 $см^3$ сусла и вновь выдерживают в термостате при температуре 30 °С 24 ч. Готовые дрожжи в одной бутылке используют для анализа, в другой — хранят в холодильнике для проведения генерации при постановке следующего опыта. Срок хранения — 2 мес. Содержание дрожжевых клеток в зрелых дрожжах должно быть не менее 90 млн/$см^3$, мертвых клеток — не более 1 % от содержания дрожжевых клеток, посторонняя микрофлора должна отсутствовать. Микробиологический контроль дрожжей проводят по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

Готовые дрожжи центрифугируют, осадок промывают водопроводной водой и снова центрифугируют. Эти операции повторяют не менее трех раз. За этот период дрожжи оказываются полностью отмытыми от углеводов и спирта. Промытые дрожжи переносят в цилиндр с помощью 50 $см^3$ водопроводной

воды и получают дрожжевую суспензию, которую приливают по 10 см^3 в каждую колбу для проведения процесса сбраживания углеводов.

7.4.2 Осахаривающие материалы

В качестве осахаривающих материалов используют ферментные препараты, содержащие альфа-амилазу и глюкоамилазу. Количество осахаривающих материалов дозируют по нормам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

7.4.3 Характеристика пробы зерна и подготовка ее к анализу

При поступлении проб зерна в бутылках вместимостью 500 см^3 одну бутылку используют для анализа, сохраняя другую в течение двух месяцев на случай возникновения разногласий в результатах анализа.

В зерне, поступающем на проведение арбитражного анализа, определяют показатели сорной примеси по 5.3.2.2, влажности по 5.3.2.3 и условной крахмалистости по 5.4.

Для анализа биологическим методом отбирают пробу массой 200 г. После отделения сорной примеси пробу измельчают на лабораторной мельнице, добиваясь прохода через сито с диаметром отверстий 1 мм не менее 90 % помола.

Измельченное зерно перемешивают. При взятии навесок помола для биологического метода одновременно берут навеску для определения влажности помола по ГОСТ 13586.5.

7.4.4 Приготовление реактивов

7.4.4.1 Приготовление раствора антрона с массовой долей 0,2 %

Навеску антрона массой (0,9175 ± 0,0005) г количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3 с помощью 100—150 см^3 концентрированной серной кислоты особой чистоты. Для этого в стаканчик с навеской кислоту приливают порциями и перемешивают. Затем перемешивают содержимое колбы до полного растворения антрона. Объем раствора доводят до метки концентрированной серной кислотой и перемешивают. Полученный раствор выдерживают при комнатной температуре в темном месте в течение 4 ч, затем используют для анализа.

Раствор хранят в холодильнике при температуре (5 ± 2) °С не более 12 сут.

7.5 Проведение сбраживания зерна

Навески помола зерна (50,00 ± 0,01) г помещают в три сухие конические колбы вместимостью 500 см^3, предварительно взвешенные до сотых долей грамма, добавляют 70 см^3 дистиллированной (или водопроводной) воды и перемешивают стеклянной палочкой до образования однородной массы. Затем добавляют ферментный препарат, содержащий альфа-амилазу, и 100 см^3 воды. После перемешивания колбы с содержимым помещают в кипящую водяную баню на 40 мин для клейстеризации крахмала, тщательно размешивая массу стеклянной палочкой в течение первых 10 мин.

Колбы вынимают из бани, закрывают стеклянными и бумажными колпачками и помещают в нагретый автоклав для разваривания. Давление в автоклаве повышают в течение 20—30 мин до избыточного, равного 0,15 МПа (1,5 атм) и выдерживают колбы в течение 90 мин. Затем колбы охлаждают до температуры 60 °С и добавляют ферментные препараты, содержащие глюкоамилазу и альфа-амилазу, согласно нормам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

Осахаривание ферментами проводят при температуре (59 ± 1) °С в термостате в течение 60 мин.

По истечении этого времени колбы вынимают из термостата, охлаждают содержимое до температуры 30 °С и добавляют по 10 см^3 суспензии дрожжей, приготовленных по 7.4.1.

Для обеспечения стерильности приливают раствор формалина из расчета 0,02 % от массы осахаренного сусла. Содержимое колб перемешивают, палочки обмывают, используя от 40 до 50 см^3 воды.

Колбы взвешивают, затем закрывают резиновыми пробками, в которые вставлены затворы, заполненные наполовину водой.

Колбы помещают в термостат с температурой от 29 °С до 30 °С и проводят брожение в течение 72 ч.

После окончания брожения колбы вынимают из термостата, охлаждают до температуры 20 °С, удаляют затворы и взвешивают.

7.6 Анализ продуктов брожения

7.6.1 Определение количества спирта в бражке

Из каждой колбы отбирают (100,00 ± 0,01) г нефильтрованной бражки, помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3, добавляют 50 см^3 дистиллированной воды и проводят перегонку разбавленной бражки до получения в приемной мерной колбе вместимостью 100 см^3 3/4 ее объема. После перегонки объем в приемной колбе доводят до метки дистиллированной водой при температуре (20,0 ± 0,1) °С.

Объемную долю спирта в дистилляте $C_{дист}$ определяют по нормативным документам, действующим на территории государства, принявшего стандарт.

Объем спирта в полученной бражке $V_{бр}$, см^3, рассчитывают по формуле

$$V_{бр} = C_{дист} \cdot m_{бр}/100, \quad (17)$$

где $m_{бр}$ — масса бражки (разность масс колбы после брожения и пустой колбы), г.

7.6.2 Определение содержания несброженных углеводов в бражке

Отбирают навеску бражки массой (25,00 ± 0,01) г в стаканчик вместимостью 50 см^3, смывают навеску дистиллированной водой в мерную колбу вместимостью 200 см^3, доводят объем до метки дистиллированной водой при температуре (20,0 ± 0,2) °С, перемешивают и фильтруют.

Фильтрат разбавляют дистиллированной водой с таким расчетом, чтобы в разбавленном растворе массовая концентрация углеводов составляла от 4 мг/100 см^3 до 10 мг/100 см^3 (примерно в 10 раз).

Определение углеводов проводят фотоколориметрическим методом с применением раствора антрона.

В пробирку с пришлифованной пробкой вносят 5,0 см^3 раствора антрона, осторожно по стенке пробирки приливают 2,5 см^3 разбавленного фильтрата бражки так, чтобы жидкости не смешивались, образуя два слоя.

Параллельно готовят контрольный раствор, добавляя к 5 см^3 раствора антрона в пробирке с пришлифованной пробкой 2,5 см^3 дистиллированной воды.

Пробирки герметично закрывают пробками, энергично перемешивают в течение 10 с и помещают в бурно кипящую водяную баню на 6 мин. Кипение воды в водяной бане должно возобновиться через 0,5 мин с момента погружения пробирок. После кипячения пробирки вынимают и охлаждают в проточной воде или в воде со льдом.

Интенсивность образовавшейся сине-зеленой окраски растворов измеряют на фотоэлектроколориметре, используя два светофильтра с длинами волн 440 и 590 нм в кюветах с шириной рабочей грани 5 мм. В качестве раствора сравнения используют контрольный раствор светло-желтого цвета.

В результате измерений получают два значения оптической плотности — D_1 и D_2.

Массовую концентрацию несброженных углеводов в бражке $C_{н.у}$, г/100 см^3, в пересчете на крахмал, вычисляют по формулам

$$C_{н.у} = 19{,}53\,(D_1 - D_2)\,n \cdot 0{,}9/1000 \text{ — для КФК-2}, \quad (18)$$

$$C_{н.у} = (21{,}33\,D_1 - 16{,}84\,D_2)\,n \cdot 0{,}9/1000 \text{ — для КФК-3}, \quad (19)$$

где 19,53; 21,33; 16,84 — градуировочные коэффициенты, полученные экспериментальным путем;

n — коэффициент, учитывающий разведение;

0,9 — коэффициент пересчета глюкозы в крахмал.

За результат анализа принимают среднеарифметическое двух параллельных определений, расхождения между которыми не превышают ± 5 % отн.

Пример составления расчетных формул приведен в [1].

Содержание несброженных углеводов в бражке q, г, в пересчете на крахмал, определяют по формуле

$$q = C_{н.у}\, m_{бр}/100. \quad (20)$$

7.7 Обработка результатов

7.7.1 Расчет условной крахмалистости X, %, выполняют по формуле

$$X = \frac{(V_{бр}100/71{,}98 + q)(100 - W_1)(100 - M_c)100}{93{,}7 \cdot 50(100 - W_2)}, \quad (21)$$

где $V_{бр}$ — количество спирта в бражке, см^3;

71,98 — теоретический выход спирта из 100 г крахмала, см^3;

q — содержание несброженных углеводов в бражке, г;

93,7 — количество углеводов, в пересчете на крахмал, израсходованных на образование спирта и оставшихся в бражке несброженными, в процентах от введенных с помолом;

50 — навеска помола, г;

W_1 — влажность зерна, %;

W_2 — влажность помола, %;

M_c — массовая доля сорной примеси.

7.7.2 За результат измерений условной крахмалистости зерна принимают среднеарифметическое значение $X_{ср}$, %, трех параллельных определений, полученных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости

$$|X_{макс} - X_{мин}| \le CR_{0,95}, \quad (22)$$

где $X_{макс}$, $X_{мин}$ — максимальный и минимальный результаты параллельных определений условной крахмалистости, %;

$CR_{0,95}$ — значение критического диапазона (см. таблицу 3).

Если условие приемлемости не выполняется, за результат принимают второй по величине результат из трех параллельных определений.

7.7.3 Результаты определения условной крахмалистости зерна в документах, предусматривающих их использование, представляют в виде:

$$X_{ср} \pm \Delta \text{ при } P = 0,95,$$

где $\pm \Delta$ — границы абсолютной погрешности (см. таблицу 3).

7.8 Контроль точности результатов определений

7.8.1 Проверку приемлемости результатов проводят при выполнении каждого анализа в соответствии с 7.7.2.

7.9 Требования безопасности

7.9.1 К обслуживанию сосудов, работающих под давлением, допускаются лица, прошедшие специальное обучение.

7.9.2 При выполнении анализов необходимо соблюдать правила работы с концентрированными кислотами по 5.8.

8 Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке результатов допускают специалиста, имеющего высшее или среднее специальное образование или опыт работы в химической лаборатории, освоившего методику выполнения измерений с требующейся точностью.

Библиография

[1] Инструкция по технохимическому и микробиологическому контролю спиртового производства», М.; Агропромиздат, 1986 г.

УДК 633.1.001.4:006.354 МКС 67.160.10 Н79

Ключевые слова: зерно, условная крахмалистость, влажность, сбраживаемые углеводы, отбор проб, физико-химические (поляриметрические) методы, экспресс-метод, биологический метод (метод бродильной пробы), продукты брожения, спирт, несброженные углеводы

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.М. Малахова*
Компьютерная верстка *О.Д. Черепковой*

Сдано в набор 15.10.2013. Подписано в печать 31.10.2013. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 1,95. Тираж 93 экз. Зак. 1259.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru