ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54894— 2012

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

Определение общего диоксида серы ферментативным методом

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2012

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС) при участии ОАО «Вимм-Билль-Данн»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 93 «Продукты переработки фруктов, овощей и грибов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 19 апреля 2012 г. № 50-ст

4 В настоящем стандарте учтены отдельные нормативные 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)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 2012

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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ФРУКТОВ И ОВОЩЕЙ

Определение общего диоксида серы ферментативным методом

Fruit and vegetable products. Determination of total sulphur dioxide by enzymatic method

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на продукты переработки фруктов и овощей в части: фруктовые и овощные соки, нектары, морсы и сокосодержащие напитки, фруктовые и овощные концентрированные соки, пюре и концентрированные пюре, морсы и концентрированные морсы (далее — соковая продукция), соковую продукцию из фруктов и овощей обогащенную и для детского питания, компоты, кисели, в т. ч. из сушеных фруктов (сухофруктов), джемы, повидло, варенья, сушеные фрукты, 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$^{-1}$).

Пределы обнаружения для конкретных видов продуктов переработки фруктов и овощей приведены в таблице 3.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р 12.1.019—2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ Р 51940—2002 Соки фруктовые и овощные. Метод определения D-яблочной кислоты

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 52467—2005 Продукты переработки фруктов, овощей и грибов. Термины и определения

ГОСТ Р 53693—2009 Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

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. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042-8-3, ИСО 4788 80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

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

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

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

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 ежегодно издаваемому указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. 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 термины по ГОСТ Р 52467 и следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **сульфит (SO_3^{2-}):** Связанная форма диоксида серы.

3.2 **общий диоксид серы:** Сумма не связанного диоксида серы (SO_2) и связанного диоксида серы (сульфита -SO_3^{2-}) в пересчете на SO_2.

3.3 **НАД (NAD):** Никотинамидадениндинуклеотид, окисленная форма.

3.4 **НАДН (NADH):** Никотинамидадениндинуклеотид, восстановленная форма.

3.5 **НАДН-пероксидаза (NADH-POD):** Никотинамидадениндинуклеотид-пероксидаза.

3.6 **Е** (единица активности): Количество ферментов, которое является катализатором превращения (образования) 1 мкмоля вещества в минуту при температуре 25 °С.

3.7 **аскорбатоксидаза:** Фермент, катализирующий реакцию окисления аскорбиновой кислоты кислородом.

4 Сущность метода

Метод определения общего диоксида серы в соковой продукции основан на проведении нижеприведенных ферментативных реакций:

сульфит в присутствии кислорода окисляется 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 преобразуется под действием НАДН-пероксидазы (NADH-POD) при взаимодействии с никотинамидадениндинуклеотидом (NADH):

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

Массовая концентрация общего диоксида серы должна быть эквивалентной количеству израсходованного 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, $NaHCO_3$, ч. д. а.

5.5 Натриевая соль никотинамидадениндинуклеотида, НАДН-Na_2, ч.

5.6 НАДН-пероксидаза (NADH-POD), ч.

5.7 Сульфитоксидаза (SO_2-OD), ч.

5.8 Сульфит натрия для приготовления стандартного раствора, ч. д. а.

5.9 Сульфат аммония, $(NH_4)_2SO_4$, ч. д. а.

5.10 Этилендиаминтетрауксусная кислота, ЭДТА, ч. д. а.

5.11 Триэталонамин марки А массовой долей основного вещества не менее 95 %, ч.

5.12 Комплект реагентов для ферментативного определения сульфита[1)], включающий:

- реагент 1—30 $см^3$ триэтаноламинового буфера с кислотностью 8,0 ед. pH;
- реагент 2—30 таблеток сухого препарата, каждая таблетка должна содержать по 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.

5.13 Иономер или pH-метр с погрешностью измерений не более ± 0,05 ед. pH.

5.14 Весы по ГОСТ Р 53228, обеспечивающие точность взвешивания с пределами допускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 мг.

5.15 Измельчитель лабораторный (гомогенизатор) угловой скоростью вращения от 3000 до 5000 $мин^{-1}$.

5.16 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 с аналогичными или изменяемыми объемами доз с относительной погрешностью дозирования ± 1 %.

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

- цилиндры 1-50-2 и 1-1000-2,
- колбы мерные с притертой пробкой 4-50-2, 4-100-2 и 4-1000-2,
- пробирки стеклянные 1-10-0,1 ХС, 1-15-0,1 ХС и 1-20-0,1 ХС.

5.18 Посуда лабораторная стеклянная по ГОСТ 25336:

- воронки лабораторные,
- стаканы вместимостью В-1-100 и В-2-1000.

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

5.20 Центрифуга лабораторная с величиной фактора разделения (g-фактор) не менее 1000.

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

5.22 Баня ультразвуковая.

5.23 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

5.24 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 свежеприготовленная.

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

5.26 Гомогенизатор (миксер) лабораторный, обеспечивающий тонкое измельчение, в т. ч. сухофруктов до однородного состояния.

5.27 Аскорбатоксидаза (сухой лиофилизат/АО) массовой долей основного вещества не менее 95 %.

5.28 Поливинилполипирролидон (Е1202) с массовой долей основного вещества не менее 95 %.

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

5.30 Электроплитка по ГОСТ 14919.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающим необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных[2)].

[1)] Комплекты реагентов для определения общего диоксида серы фирм Roche Diagnostics и Megazyme обеспечивают требуемую эффективность метода. Данная информация не является рекламой указанных реагентов и не исключает возможность применения комплектов реагентов других фирм.

[2)] Допускается использовать как комплекты реагентов для ферментативного анализа сульфитов по 5.12, так и растворы реактивов, приготовленные в лабораторных условиях по 7.2.

6 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 26313.

7 Подготовка к проведению измерений

7.1 Предварительная подготовка растворов реактивов из набора реагентов

7.1.1 Подготовка реактива 1 (триэтаноламиновый буфер)

Реагент 1 из набора реагентов по 5.12 применяют, как реактив, без разбавления. Перед проведением определения реагент 1 нагревают до температуры от 20 °С до 25 °С.

Срок хранения реактива 1 при температуре 4 °С — не более одного года.

7.1.2 Подготовка реактива 2 (НАДН)

Для приготовления реактива 2 растворяют одну таблетку реагента 2 по 5.12 в 1 $см^3$ реактива 1.

Срок хранения реактива 2 при температуре 4 °С — не более 7 дней.

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

Реагенты 3 и 4 применяют, как реактивы, без разбавления.

Срок хранения реактивов 3 и 4 при температуре 4 °С — не более одного года.

7.1.4 Стабильность реагентов

Все реагенты стабильны при температуре 4°С в течение одного года.

7.2 Подготовка растворов реактивов в лабораторных условиях

7.2.1 Приготовление буферного раствора триэтаноламина (0,60 моль/$дм^3$, pH 8,0)

Растворяют 5,57 г триэтаноламина в 40 $см^3$ дистиллированной воды в химическом стакане. Полученный раствор доводят до 8,0 ед. pH при помощи раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 0,1 моль/$дм^3$. Раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ и доводят его объем до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора при температуре 4 °С — не более 28 дней.

7.2.2 Приготовление восстановленного никотинамидадениндинуклеотида, НАДН 7×10^{-3} моль/$дм^3$

В химическом стакане растворяют 25 мг препарата НАДН-Na_2 по 5.5 и 50 мг гидрокарбоната натрия ($NaHCO_3$) по 5.4 в 5 $см^3$ дистиллированной воды.

Срок хранения раствора при температуре 4 °С — не более 28 дней.

7.2.3 Приготовление суспензии НАДН-пероксидазы

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

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

7.2.4 Приготовление суспензии сульфит-оксидазы

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

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

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

В мерной колбе вместимостью 1000 $см^3$ растворяют 264 г сухого сульфата аммония в 500 $см^3$ дистиллированной воды. После полного растворения сульфата аммония доводят объем раствора в колбе дистиллированной водой до метки.

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

7.2.6 Подготовка стандартного раствора общего диоксида серы массовой концентрации 305 мг/$дм^3$

600 мг сухого сульфита натрия и 37 мг ЭДТА, взвешенных с точностью до 0,1 мг, растворяют в дистиллированной воде. Количественно переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1000 $см^3$. Доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой.

Стандартный раствор применяют для контроля достоверности результатов измерений.

Срок хранения раствора при температуре от 4 °С до 25 °С — не более семи дней с момента изготовления.

7.3 Подготовка проб для измерений

7.3.1 Соковая продукция

Подготовку проб соковой продукции для измерений проводят в соответствии с ГОСТ Р 53693 (подраздел 6.2). Если массовая концентрация природной или добавленной аскорбиновой кислоты в анализируемой соковой продукции превышает 100 мг/дм^3, то осуществляют ее удаление из анализируемой пробы. Для этого в стеклянную пробирку объемом 10—15 см^3 отбирают 2,0 см^3 пробы, содержащей аскорбиновую кислоту, и корректируют кислотность до 5,0—6,0 ед. pH при помощи pH-метра раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 2 моль/дм^3. Затем в течение 10 мин при перемешивании шпателем пробу обрабатывают препаратом аскорбатоксидазы активностью 20 Е. После ферментативной обработки препаратом аскорбатоксидазы pH пробы доводят до 7,5—8,0 ед. pH раствором гидроокиси натрия молярной концентрации 2 моль/дм^3. При этом фиксируют объем израсходованной гидроокиси натрия для расчета величины разбавления при подготовке рабочего раствора пробы по 7.3.4.

Для обесцвечивания окрашенной соковой продукции к пробе добавляют примерно 0,1 г поливинилполипирролидона по 5.28, перемешивают ее в течение 1 мин, затем фильтруют.

7.3.2 Джемы, повидло, варенья, кисели, компоты

В гомогенизаторе обрабатывают 100 г пробы в течение 30 с. В мерную колбу объемом 50 см^3 помещают 5 г гомогенизированной пробы, добавляют около 40 см^3 дистиллированной воды, закрывают мерную колбу и раствор инкубируют в течение 5 мин при температуре 60 °С и периодическом помешивании. Затем колбу охлаждают до комнатной температуры, доводят объем до метки, перемешивают и фильтруют. При массовой концентрации аскорбиновой кислоты в продукте более 100 мг/дм^3 проводят ее удаление из анализируемой пробы по 7.3.1.

7.3.3 Сушеные фрукты (сухофрукты)

В гомогенизаторе обрабатывают 100 г пробы в течение 30 с. В мерную колбу объемом 100 см^3 помещают 2 г измельченной и гомогенизированной фруктовой пробы. Добавляют 60 см^3 горячей дистиллированной воды (температура 65 °С). Закрывают мерную колбу и энергично встряхивают в течение 5 мин, выдерживают в течение 30 ч. Объем пробы в колбе доводят до метки дистиллированной водой, центрифугируют в течение 10 мин при частоте вращения ротора центрифуги 8000 мин$^{-1}$, обеспечивающей фактор разделения не менее 1000g.

Для определения используют прозрачный фильтрат. При необходимости пробу разбавляют в соответствии с таблицей разбавлений по 7.3.4.

7.3.4 Приготовление рабочего раствора пробы

Для обеспечения достоверности результатов определения общего диоксида серы в кювете спектрофотометра с анализируемой пробой должно находиться от 0,3 до 30,0 мг общего диоксида серы. Для достижения этого условия анализируемую пробу разбавляют дистиллированной водой с помощью мерных колб и пипеток подходящей вместимости в соответствии с таблицей 1 или в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов для ферментативного анализа сульфитов.

Таблица 1 — Разбавления пробы перед проведением измерений

Ожидаемая массовая концентрация общего диоксида серы в анализируемой пробе, г/дм^3	Разбавление дистиллированной 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 Проведение измерений ферментативным методом

8.1 Условия проведения измерений

Измерения проводят в следующих лабораторных условиях:

температура окружающего воздуха . . . . . (25 ± 5) °С;

атмосферное давление . . . . . (97 ± 10) кПа;

относительная влажность . . . . . (65 ± 15) %.

8.2 Анализ проб

В кювету спектрофотометра по 5.2 с длиной оптического пути 1 см приливают реактивы 2, 3 и 4, дистиллированную воду и анализируемую пробу в порядке и количествах, указанных в таблице 2. Для определения используют только свежеприготовленную дистиллированную воду.

Таблица 2 — Порядок проведения анализа

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Кюветы	
	Стандартный раствор по 7.2.6 (контроль)	Проба
Реактив 2 по 7.1.2 или раствор по 7.2.2	1,00 см^3	1,00 см^3
Проба	—	0,10 см^3
Вода дистиллированная	2,00 см^3	1,90 см^3
Реактив 3 по 7.1.3 или раствор по 7.2.3	0,01 см^3	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 7.2.4	0,05 см^3	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. Если ферментативная реакция не закончилась через 30 мин и значения оптической плотности растворов увеличиваются с течением времени, то значения (A_2) определяют методом экстраполяции по ГОСТ Р 51940 (приложение А) на момент внесения реактива 3 по 7.1.3. При проведении серийных испытаний анализируемой соковой продукции используют только одну контрольную пробу. Пробы анализируют два раза в условиях повторяемости.		

9 Обработка и оформление результатов определения

Измеряемой величиной является разность в оптической плотности растворов до и после обработки ферментом при длинах волн 334, 340 или 365 нм, которая пропорциональна массовой концентрации (массовой доле) общего диоксида серы в анализируемой пробе.

Разницу значений оптических плотностей ΔA_{SO_2} рассчитывают как

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

где $(A_1 - A_2)_{\text{контроль}}$ — разница оптических плотностей стандартного раствора;

$(A_1 - A_2)_{\text{проба}}$ — разница оптических плотностей анализируемой пробы.

Разница оптических плотностей ΔA_{SO_2} должна находиться в интервале от 0,1 до 0,5 ед. оптической плотности (измерения при длине волны 365 нм) или от 0,1 до 0,8 ед. оптической плотности (измерения при длинах волн 334 и 340 нм). При превышении указанных значений разности оптических плотностей раствор анализируемой пробы дополнительно разбавляют дистиллированной водой. При меньшей разности оптических плотностей (менее 0,1) объем анализируемой пробы, дозируемый в кювету по 5.2, увеличивают, а объем дистиллированной воды соответственно уменьшают так, чтобы объем анализируемой пробы в кювете оставался постоянным в соответствии с таблицей 2.

Массовую концентрацию C_{SO_2} общего диоксида серы в анализируемой пробе, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$C_{SO_2} = \frac{V \cdot M \cdot \Delta A_{SO_2}}{\varepsilon \cdot d \cdot v}, \quad (1)$$

где V — окончательный объем растворов в кювете по таблице 2, см^3;

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

ε — молярный коэффициент поглощения НАДФН, л · 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 анализируемой пробы по таблице 2, см^3;

ΔA_{SO_2} — разница оптических плотностей.

При проведении анализа по 8.2 при толщине поглощающего слоя в кювете 1 см и объеме анализируемой пробы 0,10 см^3 формула для расчета массовой концентрации общего диоксида серы C_{SO_2}, мг/дм^3, преобразуется следующим образом:

$$C_{SO_2} = \frac{3{,}06 \cdot 64{,}06 \cdot \Delta A_{SO_2}}{\varepsilon \cdot 1{,}00 \cdot 0{,}10} = \frac{1960 \cdot \Delta A_{SO_2}}{\varepsilon}. \quad (2)$$

Если проба предварительно была разбавлена по 7.3.4, результат необходимо умножить на фактор разбавления F.

Массовую долю X_{SO_2} общего диоксида серы в пробе для твердых продуктов, млн$^{-1}$, рассчитывают по формуле

$$X_{SO_2} = \frac{V_{Mk} \cdot C_{SO_2}}{m_{нав}}, \quad (3)$$

где V_{Mk} — объем мерной колбы, использовавшейся при подготовке пробы, см^3;

C_{SO_2} — массовая концентрация общего диоксида серы в растворе, полученного в мерной колбе в результате подготовки пробы по 7.3.3 и определяемой по формуле (1), мг/дм^3;

$m_{нав}$ — масса анализируемой пробы, г.

Вычисления проводят до второго десятичного знака.

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

При соблюдении этого условия за окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений $X_{ср}$, округленное до первого десятичного знака.

Границы абсолютной погрешности определения массовой концентрации или массовой доли общего диоксида серы $\pm\Delta$, мг/дм^3, при соблюдении условий, регламентированных настоящим методом, при вероятности P = 0,95 не должны превышать значения, приведенного в таблице 3.

Дополнительно, для контроля качества реактивов и работы фотометра, вместе с каждой серией испытуемых образцов проводят определение массовой концентрации общего диоксида серы в его стандартном растворе (СР) по 7.2.6.

Возможно использование коммерчески доступных СР содержания сульфита в дистиллированной воде, открытую емкость с СР необходимо использовать в течение рабочего дня. Отклонение измеренной величины массовой концентрации сульфита в стандартном растворе не должно превышать 5 % номинальной. В противном случае результаты измерения всей серии образцов признаются неудовлетворительными.

Таблица 3 — Метрологические характеристики метода определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы при P = 0,95

Наименование показателя	Значение показателя при диапазонах измерений массовой концентрации, мг/м^3 или массовой доли, млн$^{-1}$
	От 10,0 до 500,0 включ.
Предел повторяемости (сходимости) r, мг/дм^3	3,60
Предел воспроизводимости R, мг/дм^3	5,40

Окончание таблицы 3

Наименование показателя	Значение показателя при диапазонах измерений массовой концентрации, мг/м^3 или массовой доли, млн$^{-1}$
	От 10,0 до 500,0 включ.
Границы погрешности $\pm\Delta$, мг/дм^3	4,0
Предел обнаружения метода, мг/дм^3 (млн$^{-1}$): - для прозрачных неокрашенных соков, нектаров, напитков	10,0
- соков, нектаров, напитков с мякотью, компотов	20,0
- соков, нектаров, напитков, окрашенных в красные тона, джемов, повидла, варенья;	50,0
- фруктов сушеных (сухофруктов)	100,0

Окончательный результат определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы представляют в следующем виде:

$$X_{ср} \pm \Delta, \quad (4)$$

где $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

$\pm\Delta$ — границы абсолютной погрешности определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы, приведенные в таблице 3, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

10 Контроль точности результатов определения

10.1 Контроль повторяемости результатов определения

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

Повторяемость результатов признают удовлетворительной при условии

$$|X_1 - X_2| \le r. \quad (5)$$

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

10.2 Контроль воспроизводимости результатов определения

Абсолютное расхождение между результатами двух независимых определений, которые получены в условиях воспроизводимости (одна и та же методика, идентичный объект определения, разные лаборатории, разные операторы, различное оборудование), не должно превышать предела воспроизводимости, приведенного в таблице 3. При превышении указанного предела воспроизводимости поступают в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6 (пункт 5.3.3).

10.3 Контроль погрешности (точности) результатов определения

Для проведения контроля погрешности определение проводят в пробах, объем или масса которых должны соответствовать удвоенному их количеству, необходимому для проведения определения. Пробу делят на две равные части. В одну из них добавляют стандартный 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 выполняется условие:

$$|X_{доб} - X_{ср} - c_{доб}| \le K_{доб}, \quad (6)$$

где $X_{доб}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы в анализируемой пробе с добавкой, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

$X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы в пробе без внесения добавки, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

$c_{доб}$ — значение добавки общего диоксида серы, мг/дм^3 (млн$^{-1}$);

$K_{доб}$ — норматив контроля погрешности, мг/дм^3 (млн$^{-1}$).

При проведении внутрилабораторного контроля (P = 0,95) значение $K_{доб}$ рассчитывают по формуле

$$K_{доб} = 0{,}84\sqrt{\Delta^2_{X_{доб}} + \Delta^2_{X_{ср}}}. \quad (7)$$

При проведении внешнего контроля (P = 0,95) значение $K_{доб}$ рассчитывают по формуле:

$$K_{доб} = \sqrt{\Delta^2_{X_{доб}} + \Delta^2_{X_{ср}}}, \quad (8)$$

где $\Delta^2_{X_{доб}}$ и $\Delta^2_{X_{ср}}$ — границы абсолютной погрешности определения массовой концентрации (массовой доли) общего диоксида серы при анализе пробы с добавкой и при анализе пробы без внесения добавки, мг/дм^3 (млн$^{-1}$).

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

11 Требования 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 анализу и выполнении измерений с использованием спектрофотометра соблюдают правила пожаровзрывобезопасности по ГОСТ 12.1.018, по электробезопасности — по ГОСТ Р 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.

УДК 664.863.001.4:006.354 ОКС 67.080, 67.050 Н59 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: соковая продукция, сульфиты, общий диоксид серы, термины и определения, ферментативный метод, массовая концентрация, массовая доля, проведение измерения, обработка и оформление результатов измерений, контроль точности результатов определения, требования безопасности

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 11.07.2012. Подписано в печать 13.08.2012. Формат 60x84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,20. Тираж 201 экз. Зак. 695.

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