ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54037— 2010

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

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 Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский институт физико-технических и радиотехнических измерений» Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии (ФГУП «ВНИИФТРИ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2010 г. № 651-ст

4 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, 2011

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 Сущность метода 2
5 Средства измерений, оборудование, реактивы, материалы 2
6 Подготовка к выполнению измерений 2
7 Выполнение измерений 4
8 Обработка и контроль точности результатов измерений 4
9 Требования безопасности 5
Библиография 6

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках

Foodstuffs. Determination of water-soluble antioxidants content by amperometric method in vegetables, fruits, products of their processing, alcoholic and soft drinks

Дата введения — 2012—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на овощи, фрукты, продукты их переработки, алкогольные и безалкогольные напитки и устанавливает амперометрический метод определения содержания водорастворимых антиоксидантов (по общей антиоксидантной активности) в диапазоне от 0,2 до 4,0 мг/дм^3 включительно.

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 51144—2009 Продукция винодельческая. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

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

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

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

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4517—87 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе

ГОСТ 6552—80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6687.0—86 Продукция безалкогольной промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 12786—80 Пиво. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 22967—90 Шприцы медицинские инъекционные многократного применения. Общие технические требования и методы испытаний

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

Издание официальное

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 информационному 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 применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **антиоксиданты:** Вещества, прерывающие радикально-цепные процессы окисления в объектах органического и неорганического происхождения.

4 Сущность метода

Амперометрический метод заключается в измерении силы электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале и сравнении полученного сигнала с сигналом от стандарта (кверцетина) при тех же условиях измерения.

5 Средства измерений, оборудование, реактивы, материалы

5.1 Анализатор амперометрический проточный (далее — прибор) со специальным программным обеспечением для сбора и обработки данных, например «Цвет Яуза-01-АА».

5.2 Весы лабораторные специального класса точности по ГОСТ Р 53228 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,2 мг.

5.3 Гомогенизатор — мельница типа «Циклотек» или аналог.

5.4 Центрифуга лабораторная настольная с частотой вращения до 3000 об/мин.

5.5 Колбы мерные 1-10, 1-50, 1-250, 1-1000 по ГОСТ 1770.

5.6 Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема 5—50 мм^3 и 100—1000 мм^3 с погрешностью измерения не более 5 %.

5.7 Шприц медицинский вместимостью 1 см^3 или одноразовый по ГОСТ 22967.

5.8 Стаканчики для взвешивания типа СВ 24/10 вместимостью 24 см^3 по ГОСТ 25336.

5.9 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

5.10 Воронка стеклянная химическая по ГОСТ 25336.

5.11 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

5.12 Бидистиллированная вода.

5.13 Кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552, ч.д.а. или х.ч.

5.14 Спирт этиловый ректификированный из пищевого сырья по ГОСТ Р 51652.

5.15 Кверцетин, ч.д.а.

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

5.17 Хромовая смесь для мытья посуды, приготовленная по ГОСТ 4517.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками, а также других реактивов и материалов по качеству не ниже указанных в настоящем стандарте.

6 Подготовка к выполнению измерений

6.1 Отбор проб

Отбор проб пищевых продуктов проводят в соответствии с требованиями стандартов на отдельные виды пищевых продуктов и продовольственного сырья, например, проб пива по ГОСТ 12786, проб продуктов безалкогольной промышленности по ГОСТ 6687.0, проб продуктов переработки плодов и овощей по ГОСТ 26313, проб продуктов винодельческой промышленности по ГОСТ Р 51144.

6.2 Подготовка лабораторной посуды

Новую и загрязненную стеклянную посуду тщательно промывают раствором хромовой смеси, после чего многократно ополаскивают сначала водопроводной, а затем несколько раз дистиллированной водой. Окончательно посуду трижды ополаскивают бидистиллированной водой.

6.3 Приготовление растворов

6.3.1 Приготовление элюента (раствора ортофосфорной кислоты молярной концентрацией 2,2 ммоль/ дм^3)

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 наливают приблизительно 700 см^3 бидистиллированной воды, добавляют пипеточным дозатором 0,15 мм^3 концентрированной ортофосфорной кислоты и 10,0 см^3 96 %-ного этилового спирта, полученный раствор доводят до метки бидистиллированной водой. Тщательно перемешивают.

Срок хранения в вытяжном шкафу в колбе с притертой пробкой — 1 мес.

6.3.2 Приготовление гидроокиси натрия концентрацией 0,1 моль/дм^3

Навеску гидроокиси натрия массой 1,0 г растворяют не содержащей углекислого газа дистиллированной водой и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3. Объем раствора доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в холодильнике — 1 мес.

6.3.3 Приготовление растворов кверцетина

6.3.3.1 Приготовление исходного раствора кверцетина концентрацией 100 мг/дм^3

В стаканчике для взвешивания отвешивают (20,0 ± 0,1) мг кверцетина, добавляют 6,0 см^3 раствора гидроокиси натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм^3 по 6.3.2. Перемешивают до полного растворения. После растворения кверцетина содержимое стаканчика количественно переносят в мерную колбу вместимостью 200 см^3 и объем раствора доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в холодильнике — 1 мес.

6.3.3.2 Приготовление градуировочных растворов кверцетина концентрацией 0,2; 0,5; 1,0 и 4,0 мг/дм^3

В мерные колбы вместимостью 10 см^3 пипеточным дозатором вводят соответственно 0,02, 0,05, 0,1 и 0,4 см^3 раствора кверцетина по 6.3.3.1, доводят до метки элюентом.

Градуировочные растворы кверцетина готовят каждый раз при построении градуировочных характеристик.

6.4 Подготовка проб

6.4.1 Из жидких проб, отобранных по 6.1, готовят две параллельные пробы по 10 см^3 продукта.

6.4.2 Из подготовленных по 6.4.1 проб отбирают по 1 см^3 и доводят элюентом до 10 см^3.

6.4.3 Подготовленную по 6.4.2 пробу фильтруют через бумажный фильтр.

6.4.4 Твердую пробу, отобранную по 6.1, измельчают и гомогенизируют.

В химический стакан вместимостью 150 см^3 вносят навеску гомогената массой 1,0 г, доводят элюентом до 100 см^3 и тщательно перемешивают.

6.4.5 Раствор переносят в конические центрифужные пробирки и центрифугируют со скоростью 3000 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость сливают, делят на две параллельные пробы и используют для анализа.

При массовой концентрации антиоксидантов в пробе, превышающей диапазон измерений (4 мг/дм^3), пробу кратно разбавляют элюентом.

6.5 Подготовка прибора к работе

Установку, включение и подготовку анализатора и регистрирующего устройства осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации.

Устанавливают рабочий потенциал, равный плюс 1,3 В.

Скорость подачи элюента устанавливают в соответствии с рекомендациями изготовителя прибора.

6.6 Градуировка прибора

6.6.1 Градуировочные растворы кверцетина (см. 6.3.3.2) последовательно, начиная с градуировочного раствора минимальной концентрации, вводят в прибор. Для этого шприц вместимостью 1 см^3 промывают не менее трех раз, полностью заполняя его бидистиллированной водой, а затем однократно соответствующим градуировочным раствором. Заполняют шприц градуировочным раствором и промывают дозировочную петлю этим раствором не менее трех раз.

6.6.2 По окончании операции по 6.6.1 дозируют градуировочный раствор в поток элюента и, используя программное обеспечение, регистрируют выходной сигнал анализатора (площадь выходной кривой).

6.6.3 Каждый градуировочный раствор вводят пять раз и, используя программное обеспечение к анализатору, вычисляют среднеарифметическое значение выходного сигнала анализатора и относительное среднеквадратическое отклонение. Если относительное среднеквадратическое отклонение не превышает 5 %, то за значение выходного сигнала анализатора, соответствующее данному градуировочному раствору, принимают среднеарифметическое значение. В случае обнаружения отклонения результатов измерения концентраций кверцетина более чем на 5 % готовят свежие градуировочные растворы кверцетина и градуировку прибора по 6.6 проводят заново.

6.6.4 Устанавливают градуировочную характеристику анализатора в виде линейной зависимости среднеарифметических значений выходного сигнала (см. 6.6.3) от массовой концентрации кверцетина. Градуировочная характеристика признается приемлемой, если корреляции не ниже 0,99.

6.6.5 Стабильность градуировочной характеристики проверяют перед началом работ в день выполнения измерений. С этой целью один из свежеприготовленных градуировочных растворов кверцетина (см. 6.3.3.2) дозируют в анализатор не менее пяти раз, измеряют выходной сигнал и рассчитывают его среднеарифметическое значение для последовательных вводов (см. 6.6.1—6.6.3). Используя установленную ранее градуировочную характеристику (см. 6.6.4), рассчитывают значение массовой концентрации кверцетина. Градуировочная характеристика признается стабильной, если найденное значение отличается от заданного не более чем на ± 5 %.

Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется только для одного контрольного раствора, то заново готовят этот контрольный раствор и проводят повторные измерения. Результаты повторного контроля считают окончательными.

Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется для двух и более контрольных растворов, то градуировку прибора по 6.6 проводят заново.

7 Выполнение измерений

Измерения суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов проводят согласно инструкции к данному типу приборов.

7.1 Проводят по пять последовательных измерений выходного сигнала анализатора для каждой подготовленной по 6.4 параллельной пробы анализируемого образца (при измерении каждый раз используют свежую порцию раствора) и, с помощью градуировочной характеристики по 6.6, вычисляют значение суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов (в пересчете на кверцетин) для каждого ввода. Вычисляют среднеарифметическое полученных значений и относительное стандартное отклонение. За результат измерений суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов (в пересчете на кверцетин) в подготовленной параллельной пробе принимают среднеарифметическое значение, если относительное стандартное отклонение не превышает 5 %.

7.2 Если значение выходного сигнала анализатора выходит за диапазон градуировочной характеристики, то подготовленную пробу разбавляют элюентом и измеряют суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов (в пересчете на кверцетин) в разбавленной подготовленной пробе по 7.1.

7.3 Процедуры по 7.1 и 7.2 проводят для каждой из двух параллельных проб анализируемого образца. Расхождение между результатами измерений суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов (в пересчете на кверцетин) в подготовленных параллельных пробах не должно превышать значений предела повторяемости, указанного в 8.3. В этом случае за результат измерений массовой концентрации антиоксидантов (в пересчете на кверцетин) в подготовленной пробе анализируемого образца принимают среднеарифметическое полученных значений.

8 Обработка и контроль точности результатов измерений

8.1 Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов в анализируемой пробе CA, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$CA = CA_к N, \quad (1)$$

где $CA_к$ — суммарное содержание антиоксидантов (в пересчете на кверцетин), определенное с использованием градуировочной характеристики по 6.6.3, мг/дм^3;

N — кратность разбавления анализируемой пробы.

Суммарное содержание антиоксидантов в твердой пробе CA, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$CA = \frac{CA_к V_n N}{m_n 1000}. \quad (2)$$

где $CA_к$ — суммарное содержание антиоксидантов (в пересчете на кверцетин), определенное с использованием градуировочной характеристики по 6.6.3, мг/дм^3;

V_n — объем раствора (экстракта) анализируемой пробы, дм^3;

N — кратность разбавления анализируемой пробы;

m_n — навеска анализируемого вещества, мг.

8.2 Оформление результатов измерений

За окончательный результат измерений суммарного содержания определяемого антиоксиданта в пробе, с округлением третьего знака, принимают среднеарифметическое значение ($X_{ср}$, мг/дм^3, или $X_{ср}$, мг/г) из результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (см. 8.3). Результаты измерений суммарного содержания анализируемых антиоксидантов в продукте представляют в виде

$$(X_{ср} \pm \Delta),$$

где Δ — граница абсолютной погрешности измерений, мг/г.

Значение Δ вычисляют по формуле

$$\Delta = \frac{\delta_x X_{ср}}{100}. \quad (3)$$

где δ— границы относительной погрешности измерений суммарного содержания анализируемого антиоксиданта (см. таблицу 1).

8.3 Контроль точности результатов измерений

Контроль точности результатов измерений приведен в таблице 1.

Таблица 1 — Метрологические характеристики

Анализируемый компонент	Диапазон измерения суммарного содержания, мг/дм^3	Границы относительной погрешности измерений ± δ, %	Нормативы оперативного контроля, % (P = 0,95)	
			Предел воспроизводимости $R_{отн}$	Предел повторяемости $r_{отн}$
Антиоксидант	От 0,2 до 4,0 включ.	7	10	5

8.4 Контроль показателей качества измерений

Контроль показателей качества измерений в лаборатории предусматривает проведение контроля стабильности результатов измерений с учетом требований ГОСТ Р ИСО 5725-6 (раздел 6) или [1].

9 Требования безопасности

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами. Электробезопасность при работе с электроустановками — по ГОСТ 12.1.019.

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

Помещение должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021.

Библиография

[1] РМГ 76—2004 Рекомендации по межгосударственной стандартизации «Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа». Приняты Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 26 от 08.12.2004 г.)

УДК 613.26:543.553:006.354	ОКС 67.080 67.160.10 67.160.20	Н09	ОКСТУ 9109

Ключевые слова: антиоксиданты, амперометрический метод, определение суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *А.С. Черноусова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 14.11.2011. Подписано в печать 06.12.2011. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,77. Тираж 216 экз. Зак. 1190.

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