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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32113— 2013

ПРОДУКЦИЯ ВИНОДЕЛЬЧЕСКАЯ

Метод определения массовой концентрации лимонной кислоты

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 пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИПБиВП Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 25 марта 2013 г. № 55-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 5 июня 2013 г. № 145-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32113—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2014 г.

5 Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 52391—2005

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 Требования безопасности . . . 2
4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы . . . 2
5 Отбор проб . . . 3
6 Подготовка к выполнению измерений . . . 3
6.1 Условия выполнения измерений . . . 3
6.2 Подготовка и отбор кювет . . . 3
6.3 Приготовление рабочих растворов . . . 3
6.4 Подготовка приборов . . . 4
7 Выполнение измерений . . . 4
7.1 Подготовка пробы . . . 4
7.2 Измерение оптической плотности . . . 5
8 Обработка результатов измерений . . . 5
9 Контроль точности результатов . . . 6
9.1 Контроль повторяемости (сходимости) . . . 6
9.2 Контроль воспроизводимости . . . 6
9.3 Контроль погрешности . . . 6

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

ПРОДУКЦИЯ ВИНОДЕЛЬЧЕСКАЯ

Метод определения массовой концентрации лимонной кислоты

Wine production.
Method for determination of citric acid mass concentration

Дата введения — 2014—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на винодельческую продукцию и устанавливает метод определения массовой концентрации лимонной кислоты в диапазоне от 3 до 2000 мг/дм^3.

Метод основан на спектрофотометрическом/фотометрическом определении количества окисленного в ходе ферментативных реакций никотинамид-адениндинуклеотида (НАД+), эквивалентного массовой концентрации лимонной кислоты.

Оптическую плотность измеряют в кювете номинальной толщиной 10 мм при длине волны λ = 340 нм (максимум поглощения NADH) либо 334 или 365 нм — при использовании фотометра с прерывистым спектром.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

ГОСТ 12.2.007.0—75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

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

ГОСТ 12.4.103—83 Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная защитная, средства индивидуальной защиты ног и рук. Классификация

ГОСТ 908—2004 Кислота лимонная моногидрат пищевая. Технические условия

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

ГОСТ 3769—78 Реактивы. Аммоний сернокислый. Технические условия

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

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

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

ГОСТ 4529—78 Реактивы. Цинк хлористый. Технические условия

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

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 17299—78 Спирт этиловый технический. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

Издание официальное

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 31730—2012 Продукция винодельческая. Правила приемки и методы отбора проб

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 выпускам ежемесячно издаваемого информационного указателя за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Требования безопасности

3.1 Требования электробезопасности при работе с приборами — по ГОСТ 12.2.007.0.

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

3.3 При выполнении анализов необходимо выполнять требования безопасности при работе с химическими реактивами согласно ГОСТ 12.4.103.

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

Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 340 нм, шириной полосы пропускания не более 5 нм; основная погрешность измерения коэффициента светопропускания не более ±0,1 %; кварцевые или стеклянные кюветы номинальной толщиной 10 мм. При отсутствии спектрофотометра можно пользоваться фотометром с прерывистым спектром, позволяющим проводить измерения при длине волны λ, равной 334 нм или 365 нм.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,05 мг.

pH-метр с диапазоном измерения от 1 до 10 ед. pH; погрешность измерения — не более ± 0,05 ед. pH.

Секундомер с диапазоном измерения от 60 с до 30 мин; погрешность измерения — не более ± 0,5 мин.

Пипетки по ГОСТ 29169 вместимостью 1, 2, 5, 10 и 25 $см^3$, 1-го или 2-го класса.

Пипетки по ГОСТ 29227 вместимостью от 0,5 до 2 $см^3$, 1-го или 2-го класса.

Микропипетки вместимостью 5—50, 100—1000 мкл.

Колбы мерные по ГОСТ 1770 вместимостью 100, 500 $см^3$, 1-го или 2-го класса.

Термометр жидкостный стеклянный по ГОСТ 28498 с диапазоном измерения от 10 °С до 50 °С, цена деления 1 °С.

Гигрометр психрометрический.

Колба коническая по ГОСТ 25336 вместимостью 50 $см^3$.

Воронка химическая по ГОСТ 25336.

Стаканы химические по ГОСТ 25336 вместимостью 10 и 25 $см^3$.

Цилиндры по ГОСТ 1770 вместимостью 50, 100, 250 $см^3$.

Палочка стеклянная или пластмассовая.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.

Кислота лимонная пищевая по ГОСТ 908, экстра.

Глицилглицин.

Цинк хлористый по ГОСТ 4529, х. ч.

Никотинамид-аденин-динуклеотид.

Малат-дегидрогеназа (МДГГ), раствор массовой концентрацией 5 мг/$см^3$, активность 136 U (ЕС 1.1.1.37).

Лактат-дегидрогеназа (ЛДГГ), раствор массовой концентрацией 5 мг/см^3, активность 280 U (ЕС 1.1.1.27).

Цитрат-лиаза (ЦЛ), раствор массовой концентрацией 5 мг/см^3, активность 12 U (ЕС 4.1.3.6).

Аммоний сернокислый по ГОСТ 3769, х. ч.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Вода бидистиллированная по ГОСТ 4517.

Натрий углекислый кислый по ГОСТ 4201, х. ч.

Поливинилполипирролидон.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Спирт этиловый технический по ГОСТ 17299.

Допускается применение средств измерений, вспомогательного оборудования с аналогичными метрологическими и техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже вышеуказанных.

5 Отбор проб

Отбор проб — по ГОСТ 31730.

6 Подготовка к выполнению измерений

6.1 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений необходимо соблюдать следующие условия:

- температура окружающей среды . . . . . от 20 °С до 30 °С;
- относительная влажность воздуха, не более . . . . . 90 %;
- атмосферное давление . . . . . 630—800 мм рт. ст.

6.2 Подготовка и отбор кювет

Кюветы, предназначенные для определения, моют 10 %-ным раствором соляной кислоты; затем трижды промывают дистиллированной водой и один раз этиловым спиртом. Не допускаются применение растворов щелочей, концентрированных кислот и механическая чистка кювет с помощью абразивных средств. Затем кюветы высушивают на фильтровальной бумаге под стеклянным стаканом при комнатной температуре.

Выполняют три параллельных измерения оптической плотности на спектрофотометре/фотометре при длине волны 340 нм (334 нм или 365 нм). Для выполнения измерения используют только те кюветы, для которых выполняется условие $\Delta_{Ki} \leq 0{,}005$.

Для выполнения измерений на однокюветных спектрофотометрах/фотометрах используют одну и ту же кювету.

6.3 Приготовление рабочих растворов

6.3.1 Приготовление раствора хлористого цинка ($ZnCl_2$) массовой концентрацией 80 мг/100 см^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 переносят 80 мг хлористого цинка, добавляют 10 см^3 бидистиллированной воды, перемешивают до полного растворения. Затем объем доводят до метки бидистиллированной водой.

6.3.2 Приготовление раствора натрия гидроокиси молярной концентрацией *с* (NaOH) = = 5 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 наливают 200—250 см^3 бидистиллированной воды. Затем постепенно, не допуская разогрева свыше 50 °С, вносят 100 г натрия гидроокиси. Закрывают колбу пробкой и перемешивают круговыми движениями до полного растворения щелочи. Раствор охлаждают до температуры 20 °С — 25 °С, доводят до метки бидистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 3 мес.

6.3.3 Приготовление раствора сернокислого аммония молярной концентрацией *с* [$(NH)_2SO_4$] = 3,2 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 переносят 42,28 г сернокислого аммония, добавляют 60 см^3 бидистиллированной воды и перемешивают круговыми вращениями. Затем объем доводят до метки бидистиллированной водой.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 3 мес.

6.3.4 Приготовление буферного раствора *с* pH = 7,8 ед. pH

В мерную колбу вместимостью 500 $см^3$ переносят 7,13 г глицилглицина, добавляют 70 $см^3$ бидистиллированной воды и перемешивают. Затем добавляют 13 $см^3$ раствора натрия гидроокиси молярной концентрацией 5 $моль/дм^3$, приготовленного по 6.3.2, 10 $см^3$ раствора хлористого цинка, приготовленного по 6.3.1, и доводят объем до метки бидистиллированной водой.

Срок хранения раствора при температуре 4 °С — не более четырех недель. Еженедельно проверяют значение pH.

6.3.5 Приготовление раствора восстановленного никотинамид-аденин-динуклеотида молярной концентрацией *с* (NADH) = $6 \cdot 10^{-3}$ моль/$дм^3$

В стакан вместимостью 25 $см^3$ вносят 30 мг NADH, растворяют в 6 $см^3$ бидистиллированной воды. Затем добавляют 60 мг углекислого кислого натрия и перемешивают.

6.3.6 Приготовление раствора малат-дегидрогеназы/лактат-дегидрогеназы (МДГГ/ЛДГГ)

В стакан вместимостью 10 $см^3$ вносят микропипеткой 1 $см^3$ раствора МДГГ массовой концентрацией 5 $мг/см^3$, 0,4 $см^3$ раствора сернокислого аммония молярной концентрацией 3,2 $моль/дм^3$ (приготовленного по 6.3.3), 0,5 $см^3$ раствора ЛДГГ массовой концентрацией ферментного препарата 5 $мг/см^3$ и перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре минус 20 °С — не более четырех недель.

6.3.7 Приготовление раствора цитрат-лиазы молярной концентрацией *с* (ЦЛ) = 5 $мг/см^3$

В стакан вместимостью 10 $см^3$ вносят 168 мг ЦЛ. Затем добавляют 1 $см^3$ ледяной бидистиллированной воды и перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре минус 20 °С — не более четырех недель.

6.3.8 Приготовление суспензии поливинилполипирролидона (ПВПП)

В стакан вместимостью 25 $см^3$ переносят 0,2 г ПВПП, добавляют 10—15 $см^3$ дистиллированной воды и перемешивают. Затем отстаивают в течение 15 мин и фильтруют через складчатый фильтр. Осадок, оставшийся на фильтре, используют для обесцвечивания красных вин.

Примечание — Вместо приготовления рабочих растворов по 6.3.1—6.3.7 допускается использование готовых импортных растворов по качеству не хуже предусмотренных по 6.3.1—6.3.7.

6.4 Подготовка приборов

Подготовку спектрофотометра/фотометра и pH-метра к измерениям осуществляют в соответствии с руководствами по эксплуатации этих приборов.

Нулевое показание по шкале оптической плотности устанавливают по воздуху.

7 Выполнение измерений

7.1 Подготовка пробы

7.1.1 Удаление двуокиси углерода, содержащейся в вине и винном коктейле

Избыток двуокиси углерода удаляют в соответствии с порядком, установленным нормативными документами, действующими на территории государств, принявших стандарт.

7.1.2 Обесцвечивание красного вина

При анализе интенсивно окрашенных красных вин проводят обесцвечивание пробы. К 10 $см^3$ вина, помещенного в коническую колбу вместимостью 50 $см^3$, добавляют ПВПП, приготовленный по 6.3.8, смесь перемешивают в течение 2—3 мин, а затем фильтруют через складчатый бумажный фильтр. Для измерения используют прозрачный или слегка окрашенный фильтрат.

7.1.3 Разбавление пробы

В зависимости от проведенной оценки значения массовой концентрации лимонной кислоты пробу разбавляют дистиллированной водой в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

Диапазон измерений массовой концентрации лимонной кислоты, $мг/дм^3$	Коэффициент разбавления *К*
От 3 до 240 включ.	1
Св. 240 » 850 »	4
» 850 »1250 »	5
» 1250 »2000 »	10

7.2 Измерение оптической плотности

В кюветы с помощью пипетки и микропипетки дозируют растворы реактивов и пробу в количествах и в порядке, указанном в таблице 2.

Таблица 2

Наименование растворов	Объем, $см^3$	
	Контрольный раствор ($A_{1К}$)	Испытуемый раствор ($A_{1ПР}$)
Буферный раствор по 6.3.4	1,00	1,00
Раствор NADH по 6.3.5	0,10	0,10
Проба	—	0,20
Бидистиллированная вода	2,00	1,80
Раствор МДГГ/ЛДГГ по 6.3.6	0,02	0,02

Растворы в кювете осторожно перемешивают стеклянной или пластмассовой палочкой и выдерживают в течение (5,0 ± 0,5) мин.

Проводят измерение оптической плотности относительно воздуха контрольного ($A_{1К}$) и испытуемого ($A_{1ПР}$) растворов с записью результата измерения до третьего знака после запятой.

Затем в растворы добавляют по 0,02 $см^3$ раствора цитрат-лиазы, приготовленного по 6.3.7, перемешивают и выдерживают в течение (5,0 ± 0,5) мин. Повторно проводят измерение оптической плотности относительно воздуха контрольного ($A_{2К}$) и испытуемого ($A_{2ПР}$) растворов с записью результата измерения до третьего десятичного знака.

8 Обработка результатов измерений

8.1 Массовую концентрацию лимонной кислоты C, $мг/дм^3$, вычисляют по формуле

$$C = \alpha \cdot \Delta A \cdot K, \quad (1)$$

где α = 488 $мг/дм^3$ для измерений при λ = 334 нм;

α = 479 $мг/дм^3$ для измерений при λ = 340 нм;

α = 887 $мг/дм^3$ для измерений при λ = 365 нм;

ΔA — разность оптических плотностей, вычисленная по формуле (2);

K — коэффициент разбавления по 7.1.3.

8.2 Разность значений оптических плотностей вычисляют по формуле

$$\Delta A = (A_{1ПР} - A_{2ПР}) - (A_{1К} - A_{2К}), \quad (2)$$

где $A_{1ПР}$ и $A_{2ПР}$ — значения оптической плотности испытуемого раствора до и после реакции с цитрат-лиазой по 7.2;

$A_{1К}$ и $A_{2К}$ — значения оптической плотности контрольного раствора до и после реакции с цитрат-лиазой по 7.2.

Примечание — Если ($A_{1К} - A_{2К}$) имеет отрицательное значение, то его суммируют с ($A_{1ПР} - A_{2ПР}$). Определенная по формуле (2) разность значений оптических плотностей ΔA, как правило, составляет не менее 0,100 и не более 0,800. В противном случае изменяют коэффициент разбавления по 7.1.3.

Вычисления проводят до первого десятичного знака.

За результат анализа принимают среднеарифметическое значение двух результатов параллельных определений, округленное до целого числа, абсолютное расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (сходимости) r.

Значения предела повторяемости (сходимости) r приведены в таблице 4. Результаты измерений считают приемлемыми при условии

$$|X_1 - X_2| \le r, \quad (3)$$

где X_1, X_2 — массовая концентрация лимонной кислоты в двух параллельных определениях.

Если условие (3) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.2.2).

9 Контроль точности результатов

9.1 Контроль повторяемости (сходимости)

При контроле повторяемости (сходимости) абсолютное значение разности двух результатов параллельных определений, полученных в условиях повторяемости (на одной и той же пробе, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования, в пределах короткого промежутка времени), не должно превышать абсолютного предела повторяемости (сходимости) r, т. е. с вероятностью $P = 0{,}95$ должно выполняться условие (3).

9.2 Контроль воспроизводимости

При контроле воспроизводимости абсолютное значение разности двух результатов анализа одной и той же пробы, полученных в условиях воспроизводимости (в двух лабораториях, разными операторами, с использованием различного оборудования), не должно превышать предела воспроизводимости R. Значения R приведены в таблице 4. Результаты измерений считают приемлемыми при условии

$$|X_1 - X_2| \le R. \quad (4)$$

9.3 Контроль погрешности

При проведении контроля погрешности метода используют стандартный раствор лимонной кислоты лабораторного приготовления. Схема дозирования представлена в таблице 3.

Таблица 3

Наименование раствора	Объем, $см^3$			
	Контрольный раствор	Испытуемый раствор	Стандартный раствор	Стандартный раствор + испытуемый раствор
Буферный раствор по 6.3.4	1,00	1,00	1,00	1,00
Раствор NADH по 6.3.5	0,10	0,10	0,10	0,10
Проба	—	0,20	—	0,10
Стандартный раствор	—	—	0,20	0,10
Бидистиллированная вода	2,00	1,80	1,80	1,80
Раствор МДГГ/ЛДГГ по 6.3.6	0,02	0,02	0,02	0,02

Растворы в кюветах осторожно перемешивают стеклянной или пластмассовой палочкой и выдерживают в течение (5,0 ± 0,5) мин. Проводят измерение оптической плотности A_1 (для контрольного, испытуемого, стандартного и стандартного + испытуемого растворов). Далее процедуру анализа продолжают в соответствии с 7.2.

Разность значений оптических плотностей вычисляют по формуле (2) и формулам

$$\Delta A_{\text{пр + станд}} = (A_{1\text{ПР + станд}} - A_{2\text{ПР + станд}}) - (A_{1\text{К}} - A_{2\text{К}}), \quad (5)$$

$$\Delta A_{\text{станд}} = (A_{1\text{станд}} - A_{2\text{станд}}) - (A_{1\text{К}} - A_{2\text{К}}). \quad (6)$$

Вычисляют степень повторного нахождения стандарта, %, по формуле

$$ПН = \frac{2\Delta A_{\text{пр+станд}} - \Delta A}{\Delta A_{\text{станд}}} 100. \quad (7)$$

Степень повторного нахождения должна находиться в интервале:

$$95\ \% \le ПН \le 100\ \%.$$

Диапазоны измерения массовых концентрацией лимонной кислоты и значения показателей точности метода измерений при $P = 0,95$ приведены в таблице 4.

Таблица 4

Диапазон измерений концентраций лимонной кислоты, мг/дм^3	Предел повторяемости (сходимости) r, мг/дм^3	Предел воспроизводимости R, мг/дм^3	Границы относительной погрешности $\pm \delta$, %
От 3 до 400 включ.	14	39	5
Св. 400 » 2000 »	32	65	4,5

УДК 663.5.001.4:006.354 МКС 67.160.10 Н79

Ключевые слова: винодельческая продукция, лимонная кислота, ферментативные реакции, спектрофотометрический метод, фотометрический метод, требования безопасности, выполнение измерений, обработка результатов, контроль точности результатов

Редактор *М.Е. Никулина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 11.11.2013. Подписано в печать 24.12.2013. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,95. Тираж 123 экз. Зак. 1512.

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.

Изменение № 1 ГОСТ 32113—2013 Продукция винодельческая. Метод определения массовой концентрации лимонной кислоты

Принято Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол № 47—2015 от 18.06.2015)

Зарегистрировано Бюро по стандартам МГС № 11113

За принятие изменения проголосовали национальные органы по стандартизации следующих государств: AM, KG, KZ [коды альфа-2 по МК (ИСО 3166) 004]

Дату введения в действие настоящего изменения устанавливают указанные национальные органы по стандартизации*

Наименование стандарта изложить в новой редакции:

«Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Ферментативный метод определения массовой концентрации лимонной кислоты

Alcoholic products and raw materials for their production. Enzymatic method for determination of citric acid mass fraction».

Раздел 1 изложить в новой редакции:

«**1 Область применения**

Настоящий стандарт распространяется на вина, виноматериалы, игристые вина (шампанское), винные напитки и сырье для их производства (далее — продукт) и устанавливает ферментативный метод определения массовой концентрации лимонной кислоты в указанных продуктах. Диапазон измерений — от 0,01 до 2,00 г/дм^3».

Раздел 2 дополнить ссылками:

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 32095—2013 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Метод определения объемной доли этилового спирта»;

ссылку на ГОСТ ИСО 5725-6—2003 дополнить знаком сноски: *;

дополнить сноской — *;

«* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике»;

исключить ссылки:

«ГОСТ 17299—78 Спирт этиловый технический. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические условия».

Раздел 4. Первый, второй абзацы изложить в новой редакции:

«Спектрофотометр с шириной спектральной полосы не более 10 нм для измерений при длинах волн 334, или 340, или 365 нм, с пределами допускаемых значений абсолютной погрешности при измерении коэффициента пропускания ± 1 % (кюветы из оптического стекла или полимерных материалов с толщиной поглощающего свет слоя 1 см).

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности ± 0,001 г.»;

пятый, шестой абзацы изложить в новой редакции:

«Пипетки с одной меткой 1-2-1, 1-1-1, 1-2-2, 1-1-2, 1-2-5, 1-1-5, 1-2-10, 1-1-10, 1-2-25, 1-1-25 по ГОСТ 29169.

Пипетки градуированные 1-1-1-0,5; 1-1-2-0,5; 2-1-1-0,5; 2-1-2-0,5; 2-1-1-0,5; 1-1-1-1; 1-1-2-1; 2-1-1-1; 2-1-2-1; 2-1-1-1; 1-1-1-2; 1-1-2-2; 2-1-1-2; 2-1-2-2; 2-1-1-2; 1-1-1-5; 1-1-2-5; 2-1-1-5; 2-1-2-5; 2-1-1-5 по ГОСТ 29227.»;

восьмой абзац изложить в новой редакции:

«Колбы мерные 1-100-2, 2-100-2, 3-100-2, 1-500-2, 2-500-2, 3-500-2 по ГОСТ 1770.»;

одиннадцатый — четырнадцатый абзацы изложить в новой редакции:

«Колбы Кн-1-50, Кн-2-50 по ГОСТ 25336.

---

* Дата введения в действие на территории Российской Федерации — 2016—01—01.

Воронка В-56-80 ХС по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-10 ТС, Н-1-10 ТС, В-1-25 ТС, Н-1-25 ТС по ГОСТ 25336.

Цилиндры 1-50-2, 1-100-2, 1-250-2 по ГОСТ 1770.»;

восемнадцатый абзац изложить в новой редакции:

«глицилглицин, препарат массовой долей не менее 99 % основного вещества»;

двадцатый — двадцать третий абзацы изложить в новой редакции:

«Никотинамидадениндинуклеотид восстановленный (НАДН), препарат массовой долей основного вещества не менее 90 %.

L-малатдегидрогеназа (L-МДГ), ферментативная активность не менее 136 Е (ЕС 1.1.1.37).

L-лактатдегидрогеназа (L-ЛДГ), ферментативная активность не менее 280 Е (ЕС 1.1.1.27).

Цитратлиаза (ЦЛ), ферментативная активность не менее 12 Е (ЕС 4.1.3.6).»;

двадцать восьмой абзац изложить в новой редакции:

«Поливинилполипирролидон (ПВПП)»;

предпоследний, последний абзацы изложить в новой редакции:

«Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья по ГОСТ 5962.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.»;

дополнить абзацем (после последнего):

«Допускается применение средств измерений, вспомогательного оборудования с аналогичными метрологическими и техническими характеристиками, а также посуды, реактивов и материалов, по качеству не хуже вышеуказанных».

Подраздел 6.2. Первый абзац после слов «соляной кислоты» дополнить словами: «приготовленной по ГОСТ 4517»;

второй, третий абзацы исключить.

Пункт 6.3.1 дополнить абзацем:

«Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 1 мес».

Пункт 6.3.5. Наименование изложить в новой редакции:

«**Приготовление раствора никотинамидадениндинуклеотида восстановленного**»;

первый абзац. Заменить обозначение: «NADH» на «НАДН».

Пункт 6.3.6. Наименование изложить в новой редакции:

«**Приготовление раствора L-малатдегидрогеназы/L-лактатдегидрогеназы**»;

первый абзац. Заменить обозначения: «МДГГ» на « L-МДГ», «ЛДГГ» на «L-ЛДГ».

Пункт 6.3.7. Наименование изложить в новой редакции:

«**Приготовление раствора цитратлиазы**»;

первый абзац. Заменить значение: «168 мг» на «50 мг».

Пункт 6.3.8 изложить в новой редакции:

«**6.3.8 Приготовление контрольного раствора лимонной кислоты**

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ вносят от 0,200 до 0,500 г лимонной кислоты и доводят до метки раствором этилового ректификованного спирта объемной долей 10 %.

Срок хранения раствора при комнатной температуре — не более 6 мес».

Пункт 6.4. Первый абзац. Исключить слово: «/фотометра».

Пункты 7.1.1, 7.1.2 изложить в новой редакции:

«**7.1.1 Удаление диоксида углерода (двуокиси углерода)**

Пробы продуктов, насыщенных диоксидом углерода, предварительно дегазируют. Избыток диоксида углерода удаляют в соответствии с ГОСТ 32095 (пункт 6.1).

7.1.2 Обесцвечивание интенсивно окрашенных проб продуктов

Интенсивно окрашенные красные пробы продуктов предварительно подвергают обесцвечиванию с помощью ПВПП.

В стакан вместимостью 25 $см^3$ вносят 0,2 г ПВПП, добавляют 10—15 $см^3$ дистиллированной воды и перемешивают. Затем отстаивают в течение 15 мин и фильтруют через бумажный складчатый фильтр из фильтровальной бумаги по ГОСТ 12026. Осадок, оставшийся на фильтре, переносят в коническую колбу вместимостью 50 $см^3$, добавляют 10 $см^3$ пробы продукта, перемешивают в течение двух-трех минут, а затем фильтруют через бумажный складчатый фильтр из фильтровальной бумаги по ГОСТ 12026. Полученный обесцвеченный фильтрат используют для дальнейших определений».

Пункт 7.1.3. Таблицу 1 изложить в новой редакции:

Таблица 1

Диапазон измерений массовой концентрации лимонной кислоты, г/дм^3	Коэффициент разбавления K
От 0,01 до 0,24 включ.	1
Св. 0,24 » 0,85 »	4
» 0,85 » 1,25 »	5
» 1,25 » 2,00 »	10

Пункт 7.2. Таблица 2. Заменить обозначения и слово: «*A*» на «*D*», «NADH» на «НАДН», «МДГГ/ЛДГГ» на «L-МДГ/L-ЛДГ», «Контрольный» на «Холостой»;

предпоследний, последний абзацы. Заменить обозначение: «*A*» на «*D*»;

последний абзац после слов «в растворы» дополнить словами: «находящиеся в кюветах,».

Подразделы 8.1, 8.2 изложить в новой редакции:

«8.1 Массовую концентрацию лимонной кислоты C, г/дм^3, вычисляют по формуле

$$C = \frac{M \cdot V_1 \cdot F \cdot \Delta D}{\varepsilon \cdot d \cdot V_2 \cdot 1000}, \quad (1)$$

где M — молярная масса лимонной кислоты, равная 192,1 г/моль;

V_1 — общий объем раствора в кювете, равный 3,12 см^3 (см. таблицу 2);

F — коэффициент предварительного разбавления пробы;

ΔD — разность значений оптических плотностей, вычисляемая по формуле

$$\Delta D = (D_{1ПР} - D_{2ПР}) - (D_{1X} - D_{2X}), \quad (2)$$

где $D_{1ПР}$ и $D_{2ПР}$ — значения оптической плотности раствора с пробой продукта до и после добавления раствора МДГГ/ЛДГГ (см. 6.3.6);

D_{1X} и D_{2X} — значения оптической плотности холостой пробы до и после добавления раствора L-МДГГ/L-ДГГ (см. 6.3.6);

ε — молярный коэффициент поглощения НАДН, (дм^3 · ммоль$^{-1}$ · см$^{-1}$):

- при 340 нм — 6,30;
- при 365 нм — 3,40;
- при 334 нм — 6,18;

d — толщина поглощающего свет слоя кюветы, равная 1 см;

V_2 — объем пробы продукта, равный 0,20 см^3 (см. таблицу 2);

1000 — коэффициент пересчета ммоль в моль.

Примечание — Если ($D_{1X} - D_{2X}$) имеет отрицательное значение, то его суммируют с ($D_{1ПР} - D_{2ПР}$). Определенная разность значений оптических плотностей ΔD, как правило, составляет не менее 0,100 и не более 0,800. В противном случае изменяют коэффициент разбавления по 7.1.3.

8.2 За результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, абсолютное расхождение между которыми не превышает предела повторяемости (сходимости) r.

Результаты измерений считают приемлемыми при условии

$$|C_1 - C_2| \le 0{,}01 \cdot r \cdot \overline{C}, \quad (3)$$

где C_1, C_2 — результаты двух параллельных определений массовой концентрации лимонной кислоты, г/дм^3;

$\overline{C}$ — среднеарифметическое значение двух параллельных определений массовой концентрации лимонной кислоты, г/дм^3;

r — предел повторяемости (сходимости), приведенный в таблице 2а, %.

Если условие (3) не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 4.2)».

Раздел 8 дополнить подразделом 8.3:

«8.3 Результат определений в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$\overline{C} \pm 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{C}, \text{ при } P = 0{,}95,$$

где $\overline{C}$ — среднеарифметическое значение результатов n определений, признанных приемлемыми по 8.2, г/дм^3;

$\pm\ \delta$ — границы относительной погрешности измерений (см. таблицу 2а), %.

Таблица 2а

Диапазон измерений массовой концентрации лимонной кислоты, г/дм^3	Предел повторяемости (сходимости) r, %, при P = 0,95	Предел воспроизводимости R, %, при P = 0,95	Границы относительной погрешности $\pm\ \delta$, %, при P = 0,95
От 0,01 до 2,00 включ.	5	7	5

Если содержание лимонной кислоты выходит за пределы границы диапазона измерений, приводят следующую запись в журнале: «Массовая концентрация лимонной кислоты менее 0,01 г/дм^3 (более 2,00 г/дм^3)».

Пункт 9.2. Заменить слова: «анализа одной и той же пробы» на «определений в одной и той же пробе»; «в таблице 4» на «в таблице 2а».

Пункт 9.3. Первый, второй абзацы. Заменить слово: «стандартный» на «контрольный» (3 раза);

таблицу 3 изложить в новой редакции:

Таблица 3

Наименование раствора	Объем, см^3		
	Контрольный раствор	Проба	Контрольный раствор + проба
Буферный раствор по 6.3.4	1,00		
Раствор НАДН по 6.3.5	0,10		
Проба	—	0,20	0,10
Контрольный раствор	0,20	—	0,10
Бидистиллированная вода	1,80		
Раствор L-МДГ/L-ЛДГ по 6.3.6	0,02		

формулу 5 изложить в новой редакции; дополнить экспликацией:

$$«\Delta D_{\text{ПР + КОНТ}} = (D_{1\text{ПР + КОНТ}} - D_{2\text{ПР + КОНТ}}) - (D_{1\text{X}} - D_{2\text{X}}), \quad (5)$$

где $D_{1\text{ПР + КОНТ}}$ и $D_{2\text{ПР + КОНТ}}$ — значения оптической плотности смеси контрольного раствора с пробой продукта до и после добавления раствора МДГГ/ЛДГГ (см. 6.3.6);

$D_{1\text{X}}$ и $D_{2\text{X}}$ — значения оптической плотности холостой пробы до и после добавления раствора L-МДГГ/L-ДГГ (см. 6.3.6).»;

формулу 6 изложить в новой редакции; дополнить экспликацией:

$$«\Delta D_{\text{КОНТ}} = (D_{1\text{КОНТ}} - D_{2\text{КОНТ}}) - (D_{1\text{X}} - D_{2\text{X}}), \quad (6)$$

где $D_{1\text{КОНТ}}$ и $D_{2\text{КОНТ}}$ — значения оптической плотности контрольного раствора до и после добавления раствора МДГГ/ЛДГГ (см. 6.3.6).»;

формулу 7 изложить в новой редакции; дополнить экспликацией:

$$«\text{ПН} = \frac{100 \cdot (\Delta D_{\text{ПР + КОНТ}} - \Delta D_{\text{КОНТ}})}{2\Delta D_{\text{КОНТ}}}, \quad (7)$$

где $\Delta D_{ПР + КОНТ}$ — значение разности оптических плотностей, найденное по формуле (5);

$\Delta D_{КОНТ}$ — значение разности оптических плотностей, найденное по формуле (6).»;

последний абзац и таблицу 4 исключить.

Библиографические данные. Ключевые слова изложить в новой редакции:

«продукция алкогольная и сырье для ее производства, лимонная кислота, массовая концентрация, ферментативный метод, L-малатдегидрогеназа, L-лактатдегидрогеназа, цитратлиаза, поливинилполипирролидон, никотинамидадениндинуклеотид восстановленный».

(ИУС № 11 2015 г.)

gost.e-ecolog.ru