
МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
32713—
2014

Продукция алкогольная и сырье
для ее производства

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Ферментативный метод определения
массовой концентрации *D*-яблочной кислоты

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2015

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 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом 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 июня 2014 г. № 45)

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
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 июля 2014 г. № 834-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32713—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2016 г.

5 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

© Стандартиформ, 2015

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

II

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины, определения, обозначения и сокращения	2
4 Сущность метода	2
5 Условия измерений	2
6 Средства измерений, оборудование, посуда, реактивы и материалы	3
7 Отбор проб	3
8 Подготовка к выполнению измерений	3
9 Выполнение определений	5
10 Обработка результатов измерений	5
11 Проверка приемлемости результатов определений, полученных в условиях воспроизводимости	6
12 Контроль качества результатов определений при реализации метода в лаборатории	7
13 Требования безопасности, охраны окружающей среды	7

Продукция алкогольная и сырье для ее производства

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

**Ферментативный метод определения
массовой концентрации *D*-яблочной кислоты**

Alcoholic beverages and raw materials for its production. Identification.
Enzymatic method for determination of *D*-malic acid mass concentration

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на вина, виноматериалы, ликерные вина, ликерные виноматериалы, фруктовые (плодовые) вина, фруктовые (плодовые) виноматериалы, игристые вина (шампанское), сидры, винные напитки и другое сырье для их производства (далее — продукт) и устанавливает ферментативный метод определения массовой концентрации *D*-яблочной кислоты в указанных продуктах, выраженной в г/дм³.

Диапазон измерений — от 0,05 до 10,00 г/дм³.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

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

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

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

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

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

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

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

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

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009.

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

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

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

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

Часть I. Общие требования

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

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

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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного 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 Термины, определения, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1.1 ***D*-яблочная кислота [*D* (+)-яблочная кислота]**: Оптический изомер яблочной кислоты.

Примечание — В природе, в том числе в плодах, винограде и продуктах их переработки, распространен другой оптический изомер яблочной кислоты: *L* (–)-яблочная кислота.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие обозначения и сокращения:

НАД — β-никотинамидадениндинуклеотид;

НАДН — β-никотинамидадениндинуклеотид, восстановленная форма;

D-МДГ — *D*-малатдегидрогеназа;

U — международная стандартная единица, характеризующая активность фермента;

ПВПП — поливинилпирролидон;

HEPES-буфер — раствор 4-(2-оксиптил)1-пиперазинэтан-сульфоновой кислоты молярной концентрации 0,03 моль/дм³ (рН = 9,0).

4 Сущность метода

Метод основан на ферментативном преобразовании *D*-яблочной кислоты в оксалоацетат под действием НАД в присутствии фермента *D*-МДГ (1) и последующем спектрофотометрическом определении массовой концентрации образовавшегося восстановленного НАДН при длине волны 334 нм, или 340 нм, или 365 нм, количество которого пропорционально массовой концентрации *D*-яблочной кислоты.

D-МДГ

D-яблочная кислота + НАД ↔ пируват + CO₂ + НАДН + H⁺

Оксалоацетат в конце реакции распадается на пируват и углекислый газ.

Присутствие в пробе винной кислоты массовой концентрацией до 5 г/дм³ не влияет на результаты определения массовой концентрации *D*-яблочной кислоты.

5 Условия измерений

При выполнении измерений массовой концентрации *D*-яблочной кислоты соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С — (20 ± 5);
- относительная влажность воздуха, % — 30—80;
- напряжение переменного тока, В — 220⁺²²₋₃₃;
- частота переменного тока, Гц — (50 ± 1).

6 Средства измерений, оборудование, посуда, реактивы и материалы

Спектрофотометр с шириной спектральной полосы не более 10 нм для измерений при длинах волн 334 нм, или 340 нм, или 365 нм, пределы 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 максимальной нагрузкой 210 г, ценой деления 0,0001 г, пределами погрешности измерений $\pm 0,001$ г.

Пипетки градуированные номинальной вместимостью 1-2-1-0,5, 1-2-1-1, 1-2-1-2, 1-2-1-5 и 1-2-1-10 см³ по ГОСТ 29227.

Пипетка с одной отметкой 2-2-20 по ГОСТ 29169.

Дозаторы пипеточные с относительной погрешностью дозирования ± 1 %, постоянной вместимости с объемами дозирования 0,05 см³, 0,1 см³, 1 см³ и переменной вместимости с объемом дозирования 5 см³.

Колбы мерные 2-100-2, 2-250-2, 2-500-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

Колбы конические вместимостью 50 см³ по ГОСТ 25336.

Цилиндры мерные 1-50-2, 1-100-2 по ГОСТ 1770.

Секундомер по нормативному документу, действующему на территории государства, принявшего стандарт.

Воронка лабораторная по ГОСТ 25336.

Стаканы химические вместимостью 25 и 100 см³ по ГОСТ 25336.

Баня ультразвуковая или прибор вакуумного фильтрования.

Шпатели пластиковые или палочки стеклянные оплавленные длиной от 8 до 10 см с диаметром 2—3 мм.

НАД — препарат массовой долей основного вещества не менее 90 %.

D-МДГ — лиофильно высушенная, удельная ферментативная активность не менее 13 U/см³.

4-(2-оксизтил)1-пипераинтансульфоновая кислота, препарат, массовой долей основного вещества не менее 98 %.

D (+)-яблочная кислота, препарат, массовой долей основного вещества не менее 98 %.

ПВПП — поливинилполипирролидон.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Вода бидистиллированная, приготовленная по ГОСТ 4517.

Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья по ГОСТ 5962.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

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

7 Отбор проб

7.1 Отбор проб вин, виноматериалов, ликерных вин, ликерных виноматериалов, фруктовых (плодовых) вин, фруктовых (плодовых) виноматериалов, игристых вин (шампанского), сидров, винных напитков, виноградного сусла — по ГОСТ 31730.

7.2 Отбор проб виноградного концентрированного сусла, виноградного концентрированного ректификованного сусла, фруктового концентрированного сока — по ГОСТ 26313.

8 Подготовка к выполнению измерений

8.1 Подготовка прибора

Подготовку спектрофотометра к измерениям проводят в соответствии с руководством по эксплуатации.

8.2 Подготовка посуды и кювет

8.2.1 Лабораторную посуду моют хромовой смесью, промывают водопроводной водой, затем тщательно ополаскивают дистиллированной водой, далее ополаскивают этиловым ректификованным спиртом. Высушивают под слоем фильтровальной бумаги.

Готовят отдельный набор посуды, который используют только для определения массовой концентрации *D*-яблочной кислоты.

8.2.2 Кюветы, используемые для определений, предварительно моют раствором соляной кислоты массовой долей 10 %, затем трижды промывают дистиллированной водой и один раз этиловым ректифицированным спиртом.

Не допускается применение растворов щелочей, концентрированных кислот и механическая чистка кювет с помощью абразивных средств!

Кюветы высушивают на фильтровальной бумаге под стеклянным стаканом при комнатной температуре.

Проверка чистоты кювет проводится в автоматическом режиме.

8.3 Приготовление растворов

8.3.1 Приготовление *HEPES*-буфера (раствор № 1)

0,170 г 4-(2-оксизтил)1-пиперазинэтансульфоновой кислоты растворяют в 20 см³ бидистиллированной воды, отмеренной пипеткой. Полученный раствор встряхивают до полного растворения кислоты.

Срок хранения раствора № 1 при температуре 4 °С — в течение 20 сут или при температуре минус 20 °С — в течение 60 сут.

Перед использованием приготовленный раствор № 1 выдерживают в лабораторном помещении в течение 1 ч.

8.3.2 Приготовление раствора НАД (раствор № 2)

0,21 г НАД растворяют в 4 см³ бидистиллированной воды, отмеренной пипеткой вместимостью 5 см³. Полученный раствор встряхивают до полного растворения НАД.

Срок хранения раствора № 2 при температуре 4 °С — в течение 20 сут или при температуре минус 20 °С — в течение 60 сут.

Перед использованием приготовленный раствор № 2 выдерживают в лабораторном помещении в течение 1 ч.

8.3.3 Приготовление раствора *D*-МДГ (раствор № 3)

3 мг лиофильно высушенной *D*-МДГ растворяют в 0,6 см³ бидистиллированной воды, отмеренной градуированной пипеткой вместимостью 1 см³. Полученный раствор встряхивают до полного растворения *D*-МДГ.

Срок хранения раствора № 3 при температуре 2 °С—8 °С — в течение 5 сут.

Перед использованием приготовленный раствор № 3 выдерживают в лабораторном помещении в течение 1 ч.

8.3.4 Приготовление раствора соляной кислоты массовой долей 10 %

Раствор соляной кислоты массовой долей 10 % готовят по ГОСТ 4517.

Срок хранения раствора не ограничен.

8.4 Подготовка пробы

8.4.1 Удаление диоксида углерода (двуокиси углерода)

Пробы продуктов, насыщенных диоксидом углерода, предварительно дегазируют. Избыток диоксида углерода удаляют с помощью прибора вакуумного фильтрования или ультразвуковой бани в соответствии с ГОСТ 32095.

8.4.2 Обесцвечивание интенсивно окрашенных проб продуктов

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

В стакан вместимостью 25 см³ вносят 0,2 г ПВПП, добавляют 10—15 см³ дистиллированной воды и перемешивают. Затем отстаивают в течение 15 мин и фильтруют через складчатый фильтр. Осадок, оставшийся на фильтре, переносят в коническую колбу вместимостью 50 см³, добавляют 10 см³ пробы продукта, перемешивают в течение двух-трех минут, а затем фильтруют через складчатый фильтр. Полученный обесцвеченный фильтрат используют для дальнейших определений.

8.5 Разбавление пробы продукта

При превышении верхней границы диапазона определения пробу разбавляют бидистиллированной водой, но не более чем в 10 раз. Коэффициент разбавления учитывают при расчете массовой концентрации *D*-яблочной кислоты.

9 Выполнение определений

Помещают в прибор пустую кювету или кювету с дистиллированной водой. Устанавливают нуль. Далее в кюветы с холостой пробой и пробой, подготовленной по 8.4, с помощью пипетки или дозатора вносят раствор № 1, раствор № 2, в количествах и в последовательности, указанных в таблице 1, затем в кювету с холостой пробой вносят бидистиллированную воду, в кювету с пробой — соответственно 0,10 см³ пробы, подготовленной по 8.4, и бидистиллированную воду.

Таблица 1

Наименование раствора и порядок внесения растворов в кюветы	Кювета с холостой пробой	Кювета с пробой, подготовленной по 8.4
Раствор № 1, приготовленный по 8.3.1	1,00 см ³	1,00 см ³
Раствор № 2, приготовленный по 8.3.2	0,10 см ³	0,10 см ³
Проба, подготовленная по 8.4	—	0,10 см ³
Бидистиллированная вода	1,80 см ³	1,70 см ³
Раствор № 3, приготовленный по 8.3.3	0,05 см ³	0,05 см ³

Содержимое обеих кювет перемешивают пластиковыми шпателями или стеклянными палочками. Через шесть минут измеряют оптическую плотность в кювете с холостой пробой D_{1xp} и в кювете с пробой продукта, $D_{1пр}$ соответственно. Затем в каждую кювету добавляют раствор № 3 в количестве, указанном в таблице 1. Вновь перемешивают пластиковым шпателем или стеклянной палочкой. Помещают в прибор кювету с воздухом или с дистиллированной водой. Через 20 мин измеряют оптическую плотность в кювете с холостой пробой D_{2xp} и с пробой продукта $D_{2пр}$ соответственно. Выполняют два параллельных определения.

Примечание — Время, необходимое для протекания ферментативной реакции, может варьироваться. Для установления времени протекания реакции рекомендуется перед каждой серией определений провести определение в растворе с известной массовой концентрацией *D*-яблочной кислоты.

10 Обработка результатов измерений

10.1 Массовую концентрацию *D*-яблочной кислоты *C*, г/дм³, 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 *D*-яблочной кислоты, равная 134,09 г/моль;

V_1 — общий объем раствора в кювете, равный 2,95 см³ (см. таблицу 2);

F — коэффициент предварительного разбавления пробы;

ΔD — разность значений оптических плотностей, вычисляемая по формуле

$$\Delta D = (D_{2пр} - D_{1пр}) - (D_{2xp} - D_{1xp}), \quad (2)$$

где $D_{1пр}$ и $D_{2пр}$ — значения оптической плотности раствора с пробой продукта до и после добавления раствора № 3 в соответствии с разделом 9;

D_{1xp} и D_{2xp} — значения оптической плотности холостой пробы до и после добавления раствора № 3 в соответствии с разделом 9;

ε — молярный коэффициент поглощения НАДН (дм³ 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 0,1 см³ (см. таблицу 2);

1000 — коэффициент пересчета ммоль в моль.

Результат вычислений записывают до третьего десятичного знака. Окончательный результат вычислений округляют до второго десятичного знака.

Таблица 2

Диапазон измерений массовой концентрации, г/дм ³	Показатель точности (границы относительной погрешности) $\pm \delta$, %, при $P = 0,95$	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_D , %	Предел повторяемости r , %, $P = 0,95, n = 2$
От 0,05 до 0,25 включ.	20	6	9	17
Св. 0,25 до 10,00 включ.	12	3	5	8

10.2 За результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, выполненных в условиях повторяемости, округленное до второго десятичного знака, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{2 \cdot |C_1 - C_2| \cdot 100}{(C_1 + C_2)} \leq r, \quad (3)$$

где C_1, C_2 — результаты параллельных определений массовой концентрации D -яблочной кислоты, г/дм³;
 r — значение предела повторяемости, % (см. таблицу 2).

10.3 Если условие (3) не выполняется, получают еще два результата в полном соответствии с данной методикой измерений. За результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов четырех определений, если выполняется условие

$$\frac{4 \cdot |C_{\max} - C_{\min}| \cdot 100}{(C_1 + C_2 + C_3 + C_4)} \leq CR_{0,95}, \quad (4)$$

где C_{\max}, C_{\min} — максимальное и минимальное значения из полученных четырех результатов параллельных определений массовой концентрации D -яблочной кислоты, г/дм³;

$CR_{0,95}$ — значение критического диапазона для уровня вероятности $P = 0,95$ и n — результатов определений.

$$CR_{0,95} = f(n) \cdot \sigma_r.$$

Для $n = 4$

$$CR_{0,95} = 3,6 \sigma_r, \quad (5)$$

где σ_r — показатель повторяемости, % (см. таблицу 2).

Если условие (4) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют выполнение определений в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

10.4 Результат определения в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

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

где \bar{C} — среднеарифметическое значение результатов определений, признанных приемлемыми по 10.2 (при $n = 2$) или по 10.3 (при $n = 4$), г/дм³;

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

В случае, если содержание D -яблочной кислоты выходит за границы диапазона измерений, проводят следующую запись в журнале: «массовая концентрация D -яблочной кислоты менее 0,05 г/дм³ (более 10 г/дм³)».

11 Проверка приемлемости результатов определений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов определений в условиях воспроизводимости проводят:

- при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;
- при проверке совместимости результатов определений, полученных при сравнительных испытаниях.

Приемлемость результатов определений, полученных в двух лабораториях, оценивают сравнением разности этих результатов с критической разностью $CD_{0,95}$ по формуле

$$|C_{cp1} - C_{cp2}| \leq CD_{0,95}, \quad (6)$$

где C_{cp1} , C_{cp2} — среднеарифметические значения массовой концентрации D -яблочной кислоты, полученные в первой и второй лабораториях, г/дм³;

$CD_{0,95}$ — значение критической разности для массовой концентрации D -яблочной кислоты, г/дм³, вычисляемое по формуле

$$CD_{0,95} = 2,77 \cdot 0,01 \cdot C_{cp1,2} \sqrt{\sigma_R^2 - \sigma_r^2 \left(1 - \frac{1}{2n_1} - \frac{1}{2n_2}\right)}, \quad (7)$$

где 2,77 — коэффициент критического диапазона для двух параллельных определений;

0,01 — коэффициент для перехода от процентов к абсолютным значениям;

$C_{cp1,2}$ — среднеарифметические значения массовой концентрации D -яблочной кислоты, полученные в первой и второй лабораториях, г/дм³;

σ_R — показатель воспроизводимости (см. таблицу 2), %;

σ_r — показатель повторяемости (см. таблицу 2), %;

n — количество параллельных определений, равное 2.

Если критическая разность не превышена, то приемлемы оба результата определений, проведенных двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение.

12 Контроль качества результатов определений при реализации метода в лаборатории

Контроль качества результатов определений в лаборатории при реализации метода осуществляют, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности.

Периодичность контроля стабильности результатов выполняемых определений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

13 Требования безопасности, охраны окружающей среды

При выполнении определений массовой концентрации D -яблочной кислоты соблюдают следующие требования.

13.1 Требования электробезопасности при работе с приборами — по ГОСТ 12.1.019 и в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора.

13.2 При работе с чистыми веществами соблюдают требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007. Контроль за содержанием вредных веществ в воздухе рабочей зоны проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005.

13.3 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и должно быть оборудовано средствами пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

13.4 Организация обучения безопасности труда — по ГОСТ 12.0.004.

13.5 К работе на спектрофотометре допускают лиц, имеющих квалификацию не ниже инженера, прошедших соответствующий курс обучения и изучивших инструкцию по эксплуатации используемого оборудования.

Ключевые слова: продукция алкогольная и сырье для ее производства, идентификация, *D*-яблочная кислота, массовая концентрация, ферментативный метод, β -никотинамидадениндинуклеотид, *D*-малат-дегидрогеназа, поливинилполипирролидон, *HEPES*-буфер, раствор 4-(2-оксиэтил)1-пиперазинэтансульфоновой кислоты

Технический редактор *Е.В. Беспрозванная*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *В.И. Гриценко*

Сдано в набор 03.03.2015. Подписано в печать 27.03.2015. Формат 60×64^{1/8}. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 1,40.
Уч.-изд. л. 1,00. Тираж 45 экз. Зак. 1445.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru