

ГОСТ 34409-2018

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение L-яблочной кислоты ферментативным методом

Juice products. Determination of L-malic acid content by enzymatic method

МКС 67.080.01

Дата введения 2019-07-01

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0-2015 "Межгосударственная система стандартизации. Основные положения" и ГОСТ 1.2-2015 "Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены"

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Всероссийским научно-исследовательским институтом технологии консервирования - филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный научный центр пищевых систем им.В.М.Горбатова" РАН (ВНИИТеК - филиал ФГБНУ "ФНЦ пищевых систем им.В.М.Горбатова" РАН) при участии Общества с ограниченной ответственностью "Компания Стайлаб" (ООО "Компания Стайлаб")

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 мая 2018 г. N 109-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ISO 3166) 004-97	Код страны по МК (ISO 3166) 004-97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

(Поправка. ИУС N 4-2020).

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 июня 2018 г. N 365-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34409-2018 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2019 г.

5 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения европейского стандарта EN 1138:1994* "Соки фруктовые и овощные. Определение содержания L-яблочной кислоты (L-малата) спектрометрическим методом с применением NADH" ("Fruit and vegetable juices - Enzymatic determination of L-malic acid (L-malate) content - NADH spectrometric method", NEQ)

* Доступ к международным и зарубежным документам, упомянутым в тексте, можно получить, обратившись в Службу поддержки пользователей. - Примечание изготовителя базы данных.

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 (www.gost.ru)

ВНЕСЕНА поправка, опубликованная в ИУС N 4, 2020 год

Поправка внесена изготовителем базы данных

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, в том числе концентрированные, нектары, сокосодержащие напитки, пюре и концентрированные пюре, морсы и концентрированные морсы (далее - соковая продукция) и устанавливает метод определения (измерения) массовой концентрации L-яблочной кислоты и ее солей.

Диапазон измерений массовой концентрации L-яблочной кислоты от 0,01 до 10,0 г/дм³ включительно.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.0.004-2015 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения

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

ГОСТ 12.1.019-2017* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019-2009.

ГОСТ 12.4.021-75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

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

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

ГОСТ ISO 2173-2013 Продукты переработки фруктов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ

ГОСТ ISO 3696-2013** Вода для лабораторного анализа. Технические условия и методы испытания

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501-2005 "Вода для лабораторного анализа. Технические условия".

ГОСТ ИСО 5725-2-2003*** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002.

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

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002.

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

ГОСТ 26313-2014 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 26671-2014 Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

ГОСТ 28311-89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 33276-2015 Продукция соковая. Методы определения относительной плотности

Примечание - При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования - на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю "Национальные стандарты", который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя 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 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 массовая концентрация L-яблочной кислоты: Содержание L-яблочной кислоты и ее солей (в пересчете на L-яблочную кислоту), определенное в соответствии с методом, установленным настоящим стандартом.

3.1.2 стандартная единица активности фермента (Е): Количество фермента, которое является катализатором превращения (образования) 1 мкмоль вещества в минуту при температуре 25 °С.

3.2 Обозначения и сокращения

В настоящем стандарте применены следующие обозначения и сокращения:

ГОТ (GOT) - глутамат-оксалоацетат трансаминаза (аспартат аминотрансфераза) EC 2.6.1.1 [1];

L-МДГ (L-MDH) - L-малатдегидрогеназа EC 1.1.1.37 [1];

НАД (NAD) - никотинамидадениндинуклеотид, окисленная форма;

НАДН (NADH) - никотинамидадениндинуклеотид, восстановленная форма.

CAS - уникальный числовой идентификатор химических соединений**.

** По реестру Химической реферативной службы (Chemical Abstracts Service).

4 Сущность метода

Метод основан на ферментативном преобразовании L-яблочной кислоты в ион оксалоацетата под действием НАД в присутствии L-МДГ, смещении равновесия реакции путем связывания образовавшегося иона оксалоацетата L-глутаматом в присутствии ГОТ, с последующим спектрофотометрическим измерением количества образовавшегося НАДН, которое эквивалентно содержанию L-яблочной кислоты.

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

Весы неавтоматического действия специального (I) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания $\pm 0,001$ г.

Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 340 нм с пределами допускаемой абсолютной погрешности измерений коэффициента пропускания не более 1% или спектрофотометр, оснащенный ртутной лампой, позволяющий проводить измерения при длинах волн 365 или 334 нм.

Кюветы из оптического стекла или полимерные с длиной оптического пути 10 мм для проведения фотометрических измерений в интервале длин волн от 334 до 365 нм.

Иономер или pH-метр в комплекте с комбинированным микроэлектродом для измерений в растворах объемом не менее 2 см³, с погрешностью измерений не более 0,05 ед. pH.

Дозаторы медицинские лабораторные объемом дозирования 1, 0,2 и 0,02 см³ по ГОСТ 28311.

Воронки лабораторные по ГОСТ 25336.

Фильтры мембранные с размером пор 0,45 мкм, диаметром 13 или 47 мм для фильтрования проб.

Фильтры бумажные.

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая фактор разделения не менее 1000 g, с ротором и соответствующим адаптером для пробирок.

Мешалка магнитная с угловой скоростью вращения от 400 до 1200 мин⁻¹.

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

Пробирки центрифужные из полимерного материала вместимостью 15 или 50 см³ с завинчивающимися крышками.

Электроплитка лабораторная.

Набор реагентов, включающий*:

* Например, готовые к применению наборы для определения L-яблочной кислоты фирмы R-Biopharm AG, каталожный номер 10139068035. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не исключает возможность применения наборов других фирм или растворов, приготовленных в лаборатории из отдельных реактивов.

- реактив 1 - флакон, содержащий смесь глицил-глицинового буферного раствора, pH 10,0 и L-глутаминовой кислоты;

- реактив 2 - флакон, содержащий лиофилизат НАД;

- реактив 3 - суспензия ГОТ активностью 160 Е;

- реактив 4 - суспензия L-МДГ активностью 2400 Е;

- реактив 5 - контрольный раствор L-яблочной кислоты.

Поливинилполипирролидон (ПВПП) низкомолекулярный или полиамид (ПА).

Вода для лабораторного анализа по ГОСТ ISO 3696, не ниже 2-й степени чистоты.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, а также посуды, материалов и реактивов, по качеству не ниже вышеуказанных.

6 Отбор и подготовка проб

6.1 Отбор проб - по ГОСТ 26313, подготовка проб - по ГОСТ 26671.

6.2 Продукты со стабильной мутной взвесью перед разбавлением тщательно перемешивают и центрифугируют при скорости вращения 4000 мин⁻¹ в течение 10 мин и фильтруют через бумажный или мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

6.3 Окрашенную соковую продукцию обесцвечивают путем добавления ПА или ПВПП. В центрифужную пробирку вместимостью 15 или 50 см³ к 10 см³ пробы добавляют около 0,1 г полиамида ПА или поливинилпирролидона ПВПП, затем интенсивно встряхивают в пробирке в течение 1 мин, центрифугируют при скорости вращения 4000 мин⁻¹ в течение 10 мин и фильтруют через бумажный или мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Для определения используют прозрачный фильтрат.

6.4 Концентрированную соковую продукцию разбавляют водой до заданного значения массовой доли растворимых сухих веществ в соответствии с [2] (приложение 2). Массовую долю растворимых сухих веществ определяют по ГОСТ ISO 2173 или ГОСТ 33276.

7 Условия проведения измерений

При подготовке к проведению измерений и при проведении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего (20±5)°C;
воздуха
- атмосферное давление (97±10) кПа;
- относительная влажность не более 75%;
- напряжение в питающей сети (220±20) В;
- частота тока в питающей сети (50±1) Гц.

В помещениях, предназначенных для проведения измерений, не допускается загрязненность воздуха рабочей зоны пылью, агрессивными веществами, должны отсутствовать факторы, влияющие на измерения массы и объема.

8 Подготовка к проведению определений

8.1 Подготовка растворов реактивов из готового набора

Приготовление растворов реактивов проводят в соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору.

9 Порядок проведения определений

9.1 Приготовление раствора пробы

Для обеспечения достоверности результатов измерений количество L-яблочной кислоты в кювете должно быть от 1 до 35 мкг для измерений при 365 нм (или от 0,5 до 20 мкг - для измерений при 334 и 340 нм). Для достижения этого условия пробу разбавляют водой в соответствии с требованиями, указанными в таблице 1 или в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Таблица 1

Ожидаемая массовая концентрация в пробе, г/дм ³ , при измерениях на длинах волн										Разбавление водой	Фактор разбавления (F)
340 нм или 334 нм					365 нм						
До 0,2 включ.					До 0,35 включ.					Не разбавляется	1
Св.	0,2	"	2,0	"	Св.	0,35	"	3,5	"	1+9	10
"	2,0	"	20,0	"	"	3,5	"	35,0	"	1+99	100
"	20.0				"	35.0				1+999	1000

9.2 Если массовая концентрация L-яблочной кислоты в растворе пробы менее 2,5 мг/дм³, то ее объем, вносимый в кювету, может быть увеличен до 1,00 см³. В этом случае следует снизить на соответствующую величину объем воды, добавляемой в кювету, для поддержания на постоянном уровне общего объема инкубационной смеси в кювете.

При высоких значениях начальной оптической плотности (более 1,000) готовят новую пробу, увеличивая разбавление. Рекомендуются также уменьшить объем раствора пробы в кювете, компенсируя снижение

общего объема в кювете увеличением объема воды.

При вычислении результатов массовой концентрации L-яблочной кислоты необходимо учесть измененный объем раствора пробы в формуле (2).

9.3 Ферментативная реакция и количественное определение L-яблочной кислоты

Проводят два параллельных определения в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-2 (подраздел 3.14).

В кювету вносят реактивы 1-4 (см. раздел 5), воду и раствор пробы, приготовленной по 9.1, в соответствии с требованиями, указанными в таблице 2 или в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

Таблица 2 - Порядок добавления реагентов для проведения измерений

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Объем, вносимый в кюветы, см ³	
	Холостой раствор (контроль)	Раствор пробы
Реактив 1	1,00	
Реактив 2	0,20	0,20
Реактив 3	0,01	0,01
Раствор пробы (см. 9.1)	-	0,10
Вода	1,00	0,90
Шпателем перемешивают растворы в кюветах, через 3 мин проводят измерения оптических плотностей растворов (A_1) относительно оптической плотности воздуха		
Реактив 4	0,01	
Шпателем осторожно перемешивают содержимое кювет и через 5-10 мин проводят измерения оптических плотностей растворов (A_2) относительно оптической плотности воздуха. Завершение реакции проверяют измерением оптической плотности каждые 5 мин в течение 30 мин, чтобы установить момент начала увеличения значения оптической плотности на постоянную величину		

10 Обработка и оформление результатов определений

10.1 Основой для вычисления массовой концентрации L-яблочной кислоты является линейная зависимость между количеством окисленного НАДН и количеством L-яблочной кислоты (см. приложение А).

Разность значений оптических плотностей ΔA для контрольной пробы и раствора пробы вычисляют по формуле

$$\Delta A = (A_2 - A_1)_{\text{проба}} - (A_2 - A_1)_{\text{контроль}}, \quad (1)$$

где $(A_2 - A_1)_{\text{проба}}$ - разность оптических плотностей раствора пробы, е.о.п;

$(A_2 - A_1)_{\text{контроль}}$ - разность оптических плотностей раствора контрольной пробы, е.о.п.

Если $(A_2 - A_1)_{\text{контроль}}$ имеет отрицательное значение, то его суммируют со значением $(A_2 - A_1)_{\text{проба}}$. Значение ΔA должно, как правило, составлять не менее 0,100 ед. Если значение ΔA менее 0,100 ед., то следует повторно приготовить пробу, увеличив ее навеску или уменьшив разбавление.

Если значение $(A_2 - A_1)_{\text{проба}}$ более 1,000 ед. (измерение при 340 или 334 нм) или более 0,500 ед. (измерении при 365 нм), то в пробе присутствует избыток L-яблочной кислоты. В этом случае пробу необходимо разбавить в соответствии с требованиями 9.1.

10.2 Массовую концентрацию L-яблочной кислоты C , г/дм³, в растворе пробы вычисляют в соответствии с законом Ламберта-Бера по формуле

$$C = \frac{V \cdot F \cdot M}{\varepsilon \cdot d \cdot V_1 \cdot 1000} \cdot \Delta A, \quad (2)$$

где V - общий объем раствора в кювете (см. таблицу 2), см³;

F - фактор разбавления (см. 9.1);

M - молекулярная масса D-изолимонной кислоты, $M=134,09$ г/моль;

ε - молярный коэффициент поглощения НАДН, дм³·ммоль⁻¹·см⁻¹:

- при длине волны 340 нм - 6,3,

- длине волны 365 нм - 3,4 (измерение с ртутной лампой),

- длине волны 334 нм - 6,18 (измерение с ртутной лампой);

d - толщина поглощающего слоя в кювете, см;

V_1 - объем пробы, взятой для определения (см. таблицу 2), см³;

1000 - коэффициент пересчета из см³ в дм³;

ΔA - разность оптических плотностей, е.о.п.

При толщине поглощающего слоя в кювете 1 см и объеме рабочего раствора пробы 0,10 см³ формула для вычисления массовой концентрации L-яблочной кислоты C , г/дм³, преобразуется следующим образом

$$C = \frac{2,22 \cdot F \cdot 134,09}{\varepsilon \cdot 1,00 \cdot 0,10 \cdot 1000} \cdot \Delta A = \frac{2,977 \cdot F}{\varepsilon} \cdot \Delta A. \quad (3)$$

При использовании готовых наборов реактивов численный коэффициент (2,22) в формуле (3) может быть иным из-за изменения суммарного объема раствора (V) в кювете.

10.3 За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение $\bar{C}$, г/дм³, результатов двух параллельных измерений, относительное расхождение между которыми не превышает допустимое расхождение

$$|C_1 - C_2| \leq r, \quad (4)$$

где C_1 , C_2 - результаты параллельных измерений, г/дм³;

r - значение предела повторяемости, %.

При невыполнении этого условия получают результаты еще двух параллельных измерений и окончательный результат устанавливают в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6 (подраздел 5.2).

Абсолютное расхождение между результатами двух параллельных измерений, выполненных в условиях повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-2, не должно превышать более чем в 5% случаев значения показателя повторяемости r , г/дм³, вычисляемого по формуле

$$r = 0,014 + 0,03C_1, \quad (5)$$

где 0,014 и 0,03 - числовые коэффициенты;

C_1 - среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, выполненных в условиях повторяемости, г/дм³.

Абсолютное расхождение между результатами двух измерений, выполненных в условиях воспроизводимости по ГОСТ ИСО 5725-2, не должно превышать более чем в 5% случаев значение показателя воспроизводимости R , г/дм³, вычисляемого по формуле

$$R = 0,032 + 0,07C_2, \quad (6)$$

где 0,032 и 0,07 - числовые коэффициенты;

C_2 - среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, выполненных в условиях воспроизводимости, г/дм³.

Правильность полученных результатов контролируют с помощью контрольного раствора из набора (реактив 5), согласно приложению Б.

Результаты межлабораторных испытаний метода приведены в приложении В.

10.4 При определении L-яблочной кислоты в концентрированной соковой продукции, а также в соковой продукции с высокой вязкостью или очень большим содержанием мякоти результаты определения могут быть пересчитаны на массовую долю X , %, по формуле

$$X = \frac{C \cdot V \cdot 1000}{m}, \quad (7)$$

где C - массовая концентрация, вычисленная по формуле (3), г/дм³;

V - объем концентрированной соковой продукции с высокой вязкостью и/или очень большим содержанием мякоти, полученный в результате разведения (см. таблицу 2), дм³;

1000 - коэффициент пересчета в проценты;

m - масса концентрированной соковой продукции с высокой вязкостью и/или очень большим содержанием мякоти, взятых для разведения, г.

Численное значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границ абсолютной погрешности.

В случае, если массовая концентрация L-яблочной кислоты выходит за пределы нижней границы диапазона измерений, то приводят следующую запись: "Массовая концентрация L-яблочной кислоты менее 0,1 г/дм³".

11 Протокол испытаний

В протоколе испытаний указывают:

- полученные результаты испытаний;
- обозначение настоящего стандарта;
- значение массовой доли растворимых сухих веществ или относительной плотности для

концентрированной соковой продукции;

- все рабочие условия, не установленные настоящим стандартом или касающиеся как необязательных, так и любых других подробностей, которые могут повлиять на конечный результат;

- всю информацию, необходимую для идентификации пробы.

12 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

12.1 Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

- при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

- проверке совместимости результатов измерений, полученных при сравнительных испытаниях.

12.2 Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует контрольные пробы, оставленные на хранение.

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

$$|\bar{C}_1 - \bar{C}_2| \leq 0,01 CD_{0,95} \bar{C} \text{ или } |\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq 0,01 CD_{0,95} \bar{X}, \quad (8)$$

где $\bar{C}_1$, $\bar{C}_2$ ($\bar{X}_1$, $\bar{X}_2$) - окончательные результаты измерений массовой концентрации (массовой доли) L-яблочной кислоты, полученные в первой и второй лабораториях, г/дм³ (%);

$CD_{0,95}$ - значение критической разности, %;

$\bar{C}$, $\bar{X}$ - среднеарифметическое значение окончательных результатов измерений массовой концентрации (массовой доли) L-яблочной кислоты, полученных в первой и второй лабораториях, г/дм³ (%).

Если допускаемая разность не превышена, то приемлемы оба результата измерений, проводимых двумя лабораториями, и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если допускаемая разность превышена, то выполняют процедуры в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ ИСО 5725-6 (пункт 5.3.4).

13 Контроль качества результатов определений в лаборатории

Контроль качества результатов определений в лаборатории осуществляют, используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности. Проверку стабильности осуществляют с применением контрольных карт Шухарта. Периодичность контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории. Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30. При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

14 Требования безопасности

Требования безопасности должны соответствовать положениям, изложенным в руководствах по эксплуатации лабораторного оборудования и инструкции к набору реактивов.

При выполнении определений соблюдают требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007 и ГОСТ 12.4.103.

Помещение, в котором проводят измерения, должно быть оборудовано общей проточно-вытяжной вентиляцией по ГОСТ 12.4.021.

Электробезопасность при работе с электроустановками - по ГОСТ 12.1.019.

Организация обучения работающих безопасности труда - по ГОСТ 12.0.004.

К выполнению определения, обработке и оформлению результатов допускаются специалисты, имеющие опыт работы с лабораторным оборудованием и изучившие настоящий стандарт.

Приложение А (справочное)

Принцип количественного определения ферментативной активности

А.1 Принцип количественного определения ферментативной активности приведен на рисунках А.1 и А.2.

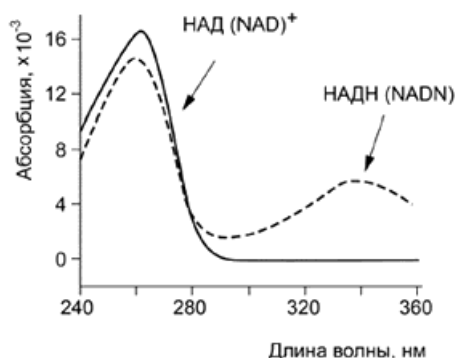


Рисунок А.1 - Различие в спектрах поглощения между окисленной и восстановленной формами никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) в ультрафиолетовой области спектра

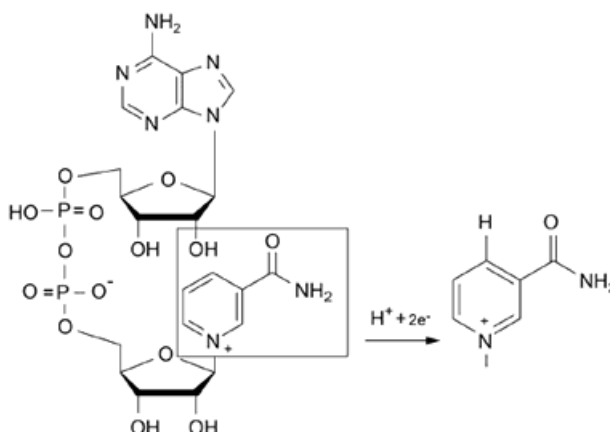


Рисунок А.2 - Реакция обратимого окисления никотинамидадениндинуклеотида

Приложение Б
(справочное)

Проверка правильности результатов определений

Б.1 Проверку правильности результатов проводят для каждой серии определений с использованием метода добавок, согласно инструкции, прилагаемой к набору.

Б.2 Для проверки правильности результатов определений используют готовый контрольный раствор L-яблочной кислоты массовой концентрации 200 мг/дм³ (реактив 5) в качестве внутреннего стандарта, как указано в таблице Б.1.

Таблица Б.1 - Порядок добавления реагентов для проведения измерений с использованием раствора внутреннего стандарта

Наименование растворов, дозируемых в кювету, и последовательность их дозирования	Объем, вносимый в кюветы, см ³			
	Холостой раствор	Раствор пробы	Контрольный раствор	Контрольный раствор + раствор пробы
Реактив 1	1,00			
Реактив 2	0,20			
Реактив 3	0,01			
Раствор пробы (см. 9.1)	-	0,10	-	0,05
Реактив 5	-	-	0,10	0,05
Вода	1,00	0,90	0,90	0,90
Шпателем перемешивают растворы в кюветах, через 5 мин проводят измерения оптических плотностей растворов (A_1) относительно оптической плотности воздуха. Продолжают далее, как указано в разделе 9				

Б.3 Степень нахождения L-яблочной кислоты в контрольном растворе W , %, вычисляют по формуле

$$W = \frac{\Delta A_{\text{проба} \pm \text{контроль}} - \Delta A_{\text{проба}}}{\Delta A_{\text{контроль}}} \cdot 100, \quad (\text{Б.1})$$

где $\Delta A_{\text{проба} \pm \text{контроль}}$ - разность оптических плотностей раствора пробы и контрольного раствора, е.о.п;

$\Delta A_{\text{проба}}$ - разность оптических плотностей раствора пробы, е.о.п;

$\Delta A_{\text{контроль}}$ - разность оптических плотностей контрольного раствора, е.о.п;

100 - коэффициент пересчета в проценты.

Б.4 Массовая концентрация L-яблочной кислоты, определенная в результате контроля, должна быть в пределах от 95% до 105% от концентрации контрольного раствора. В случае, если вычисленное значение W находится вне указанного диапазона, повторяют определение со свежеприготовленными растворами реактивов (буферного раствора, раствора НАДН, ЦЛ и смеси МДГ/ЛДГ).

Приложение В
(справочное)

Результаты межлабораторных испытаний

В.1 Межлабораторные испытания, результаты которых представлены в нижеприведенной таблице, проведены в соответствии с требованиями международного стандарта ИСО 5725-2. Испытание проводилось под руководством отдела химии продуктов питания института имени Макса фон Питтенкоффа Федерального министерства здравоохранения (г.Берлин).

В.2 Год проведения межлабораторных испытаний - 1983.

В.3 Количество лабораторий, принявших участие в испытаниях, - 20.

В.4 Количество продуктов - 4.

Таблица В.1

Показатель	Продукт			
	A	B	C	D
Количество лабораторий оставшихся после исключения лабораторий, выбывших из испытания	16	17	15	16
Количество выбывших лабораторий	4	3	5	4
Количество признанных результатов	80	87	75	81
Среднее значение $\bar{x}$, г/дм ³	2,56	5,74	8,58	10,15
Стандартное отклонение повторяемости s_r , г/дм ³	0,0528	0,0922	0,0956	0,1267
Относительное стандартное отклонение повторяемости RSD_r , %	2,06	1,61	1,11	1,25
Показатель повторяемости r , г/дм ³	0,15	0,26	0,27	0,35
Стандартное отклонение воспроизводимости s_R , г/дм ³	0,0933	0,1512	0,2325	0,2214
Относительное стандартное отклонение воспроизводимости RSD_R , %	3,64	2,63	2,71	2,18
Показатель воспроизводимости R , г/дм ³	0,26	0,42	0,65	0,62
Примечания				
1 Существует линейная зависимость между r , R и $\bar{x}$.				
2 Продукты: "А" - абрикосовый нектар, "В" - стандартный раствор, "С" - нектар из черной смородины, "D" - апельсиновый сок.				

Библиография

- [1] Номенклатура ферментов. Рекомендации Международного биохимического союза по номенклатуре и классификации ферментов, а также единицам ферментов и символам кинетики ферментативных реакций. М., 1979

[2] Технический регламент Таможенного союза на соковую продукцию из фруктов и овощей
Таможенного союза
ТР ТС 023/2011

УДК 664.863.001.4:006.354

МКС 67.080.01

Ключевые слова: продукция соковая, массовая концентрация, L-яблочная кислота, определение, спектрофотометр, ферментативная реакция

Редакция документа с учетом
изменений и дополнений подготовлена
АО "Кодекс"