

**ГОСТ Р 51259—99
(ДИН 10344—82)**

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения лактозы и галактозы

НИФСиТР ЦСМ при МЭ КР

**РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**

Издание официальное

**ГОССТАНДАРТ РОССИИ
М о с к в а**

ГОСТ Р 51259—99

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Московским государственным университетом пищевых производств

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

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 12 апреля 1999 г. № 121

3 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст национального стандарта ФРГ ДИН 10344—82 «Молоко и молочные продукты. Ферментативное определение лактозы и галактозы» с дополнительными требованиями, отражающими потребности народного хозяйства (разделы 2, 3, 4, 5, 6 и 7)

4 ВВЕДЕН В ПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Госстандарта России

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения лактозы и галактозы

Milk and milk products.
Method for determination of lactose and galactose content

Дата введения 2000—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко и молочные продукты и устанавливает метод определения массовых долей лактозы и галактозы в присутствии других сахаров.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 2493—75 Калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный. Технические условия

ГОСТ 3652—69 Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия

ГОСТ 3769—78 Аммоний сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4174—77 Цинк сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4523—77 Магний сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовки проб к анализу

3 Определения, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением:

массовые доли лактозы и галактозы в молоке и молочных продуктах: Массовые доли лактозы и галактозы, определенные раздельно в соответствии с настоящим стандартом и выраженные в г/100 г.

3.2 В настоящем стандарте применяют следующие обозначения и сокращения:

НАД — β -никотинамидалениндинуклеотид;

НАДН — β -никотинамидалениндинуклеотид (восстановленная форма);

ГЗ — β -галактозидаза;

ГДГ — β -галактозодегидрогеназа;

Е — международная единица, определяющая количество (активность) фермента, которое служит катализатором для превращения при 25 °С 1 мкмоля вещества в минуту.

4 Сущность метода

Метод определения галактозы основан на окислении галактозы, содержащейся в освобожденном от жира и белка водном экстракте пробы молока или молочных продуктов, под действием НАД в присутствии фермента ГДГ и фотометрическом измерении массовой доли образовавшегося НАДН, эквивалентной массовой доле галактозы в пробе (свободная галактоза).

Метод определения лактозы основан на гидролизе лактозы, содержащейся в освобожденном от жира и белка водном экстракте пробы молока или молочных продуктов, в присутствии ГЗ до глюкозы и галактозы, окислении имеющейся в пробе галактозы (свободная галактоза плюс образовавшаяся при гидролизе лактозы) под действием НАД в присутствии фермента ГДГ и фотометрическом измерении массовой доли образовавшегося НАДН, эквивалентного массовой доле галактозы, и расчете массовой доли лактозы по разности оптических плотностей данного раствора и раствора, используемого при определении свободной галактозы.

5 Реактивы

При проведении анализа используют химически чистые или чистые для анализа реактивы.

Вода, используемая для приготовления растворов ферментов, должна быть бидистиллированной.

Вода, используемая для приготовления растворов химических реагентов и подготовки проб, должна быть дистиллированной по ГОСТ 6709 или деминерализованной.

Допускается использовать имеющиеся в продаже готовые наборы реактивов для определения лактозы и галактозы при условии соответствия их качества требованиям настоящего стандарта.

5.1 Раствор сернокислого цинка

30 г сернокислого цинка по ГОСТ 4174 ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят при комнатной температуре 12 мес.

5.2 Раствор гексациано-(II)-феррата калия

15 г гексациано-(II)-феррата калия ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят при температуре 4 °C 1 мес.

5.3 Гидроокись натрия по ГОСТ 4328, раствор молярной концентрации $c(NaOH) = 0,25\text{моль}/\text{дм}^3$.

5.4 Цитратный буферный раствор

2,8 г тринатрийцитрата дигидрата ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$), 0,625 г сернокислого магния по ГОСТ 4523 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) и 0,042 г моногидрата лимонной кислоты по ГОСТ 3652 ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) растворяют в 40 см³ дистиллированной воды. Активную кислотность раствора доводят до 6,6 pH несколькими каплями раствора серной кислоты по ГОСТ 4204 молярной концентрации $c(H_2SO_4) = 2\text{ моль}/\text{дм}^3$ или раствора гидроокиси натрия по ГОСТ 4328 молярной концентрации $c(NaOH) = 0,1\text{ моль}/\text{дм}^3$. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 50 см³. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °C 3 мес.

5.5 Буферный раствор дифосфата калия

8,3 г дифосфата калия по ГОСТ 2493 ($K_4P_2O_7$) растворяют в 40 см³ дистиллированной воды. Активную кислотность раствора доводят до 8,6 pH раствором серной кислоты по ГОСТ 4204 молярной концентрации $c(H_2SO_4) = 2\text{ моль}/\text{дм}^3$. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 50 см³. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °C 2 мес.

5.6 Раствор НАД

0,035 г НАД растворяют в 7 см³ цитратного буфера по 5.4. Раствор устойчив при температуре 4 °C три недели.

5.7 Суспензия фермента ГЗ

Сухой лиофилизат β-галактозидазы из *E. coli* массой 0,005 г и активностью 150 Е суспендируют в 1 см³ раствора аммония сернокислого по ГОСТ 3769 молярной концентрации $c((NH_4)_2SO_4) = 2,2\text{ моль}/\text{дм}^3$. Суспензия устойчива при температуре 4 °C 12 мес.

5.8 Суспензия фермента ГДГ

Сухой лиофилизат β-галактозодегидрогеназы из *Pseudomonas fluorescens* массой 0,005 г и активностью 25 Е смешивают с 1 см³ раствора аммония сернокислого по ГОСТ 3769 молярной концентрации $c((NH_4)_2SO_4) = 2,2\text{ моль}/\text{дм}^3$. Суспензия устойчива при температуре 4 °C 12 мес.