

ГОСТ Р 51258—99
(ДИН 10326—86)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения сахарозы и глюкозы

НИФСИТР ЦСМ при МЭ КР

**РАБОЧИЙ
ЭКЗЕМПЛЯР**

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2009

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. № 120

3 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст национального стандарта ФРГ ДИН 10326—86 «Ферментативное определение сахарозы и глюкозы в молочных продуктах и мороженом» с дополнительными требованиями, отражающими потребности народного хозяйства (разделы 2, 3, 4, 5, 6 и 7)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ИЗДАНИЕ (август 2009 г.) с Поправкой (8—2009).

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания на территории Российской Федерации без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения сахарозы и глюкозы

Milk and milk products.
Method for determination of sucrose and glucose content

Дата введения 2000—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко, молочный напиток, молочные продукты, сладкий плавленый сыр и устанавливает метод определения массовых долей сахарозы и глюкозы в молоке и молочных продуктах.

(Поправка).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:
ГОСТ 3652—69 Реактивы. Кислота лимонная моногидрат и безводная. Технические условия
ГОСТ 3769—78 Реактивы. Аммоний серноокислый. Технические условия
ГОСТ 4174—77 Реактивы. Цинк серноокислый 7-водный. Технические условия
ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия
ГОСТ 4523—77 Реактивы. Магний серноокислый 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 сахарозы и глюкозы: Массовые доли сахарозы и глюкозы в молоке и молочных продуктах, определенные отдельно в соответствии с настоящим стандартом и выраженные в г/100 г.

3.2 В настоящем стандарте применяют следующие обозначения и сокращения:

- ФР — β-фруктозидаза;
- АТФ — аденозин-5'-трифосфат;
- АДФ — аденозин-5'-дифосфат;
- ГК — гексокиназа;
- Г-6-Ф — глюкозо-6-фосфорная кислота;
- Г6Ф-ДГ — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа;
- НАДФ — β-никотинамидадениндинуклеотидфосфат;
- НАДФН — β-никотинамидадениндинуклеотид (восстановленная форма);
- ГЛ-6-Ф — глюконат-6-фосфорная кислота;

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

4 Сущность метода и реакции

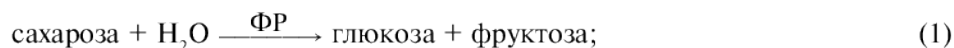
4.1 Сущность метода

Метод определения глюкозы основан на фосфорилировании глюкозы, содержащейся в освобожденном от жира и белка водном экстракте пробы молока или молочных продуктов, под действием АТФ в присутствии фермента ГК, окислении образовавшейся Г-6-Ф под действием НАДФ в присутствии фермента Г6Ф-ДГ и фотометрическом измерении массовой доли образовавшегося НАДФН, эквивалентной массовой доле глюкозы в пробе (свободная глюкоза).

Метод определения сахарозы основан на гидролизе сахарозы, содержащейся в освобожденном от жира и белка водном экстракте пробы молока или молочных продуктов, в присутствии фермента ФР до глюкозы и фруктозы, фосфорилировании и окислении имеющейся в пробе глюкозы (общая глюкоза — свободная глюкоза плюс образовавшаяся при гидролизе сахарозы) под действием АТФ в присутствии фермента ГК, окислении образовавшейся Г-6-Ф под действием НАДФ в присутствии фермента Г6Ф-ДГ, фотометрическом измерении массовой доли образовавшегося НАДФН, эквивалентной массовой доле глюкозы, и расчете содержания сахарозы по разности оптических плотностей данного раствора и раствора, используемого при определении свободной глюкозы.

4.2 Реакции

В фотометрической кювете протекают следующие ферментативные реакции:



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 использование имеющихся в продаже готовых наборов реактивов для определения сахарозы и глюкозы при условии соответствия их качества требованиям настоящего стандарта.

Препараты динатриевой соли β-никотинамидадениндинуклеотидфосфата (β-НАДФ-Na₂) и динатриевой соли аденозин-5'-трифосфата (АТФ-Na₂H₂×3H₂O) должны содержать не менее 90 % основного вещества.

5.1 Раствор сернокислого цинка

30 г сернокислого цинка по ГОСТ 4174 (ZnSO₄×7H₂O) растворяют в 100 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709. Раствор хранят при комнатной температуре 12 мес.

5.2 Раствор гексациано-(II)-феррата калия

15 г гексациано-(II)-феррата (K₄[Fe(CN)₆×3H₂O] калия растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят при температуре 4 °С 1 мес.

5.3 Раствор гидроксида натрия

8 г гидроксида натрия по ГОСТ 4328 растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят при комнатной температуре 12 мес.

5.4 Цитратный буферный раствор

4,55 г тринатрийцитрата дигидрата (C₆H₅O₇Na₃×2H₂O) и 3,45 г моногидрата лимонной кислоты по ГОСТ 3652 (C₆H₈O₇×H₂O) растворяют в 70 см³ дистиллированной воды. Активную кислотность раствора устанавливают равной 4,6 рН раствором гидроксида натрия по 5.3. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 100 см³. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °С 12 мес.

5.5 Раствор ФР

Сухой лиофилизат β-фруктозидазы из дрожжей массой 0,005 г и активностью 1500 Е растворяют в 2 см³ бидистиллированной воды. Конечная удельная активность раствора соответствует 750 Е/см³. Раствор устойчив при температуре 4 °С одну неделю.