

ГОСТ Р 51257—99
(ДИН 10325—86)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СЫРЫ ПЛАВЛЕННЫЕ

Метод определения лимонной кислоты



Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2011

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. № 119

3 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст национального стандарта ФРГ ДИН 10325—86 «Ферментативное определение лимонной кислоты в плавленом сыре» с дополнительными требованиями, отражающими потребности народного хозяйства (разделы 2, 3, 4, 5, 6 и 7)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2011 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1999
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2011

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

СЫРЫ ПЛАВЛЕННЫЕ

Метод определения лимонной кислоты

Processed cheeses.
Method for determination of citric acid content

Дата введения 2000—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на сыры плавленые и продукты на основе плавленого сыра и устанавливает метод определения массовой доли лимонной кислоты в виде свободной кислоты или ее соли.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 3769—78 Аммоний серноокислый. Технические условия

ГОСТ 4201—79 Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4529—78 Цинк хлористый. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

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

3 Определение, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применяют следующие термины с соответствующими определениями:

массовая доля лимонной кислоты: Массовая доля лимонной кислоты и ее соли (цитрата) в пересчете на безводную лимонную кислоту, определенная в соответствии с настоящим стандартом и выраженная в г/100 г.

3.2 В настоящем стандарте применяют следующие обозначения и сокращения:

НАДН — β -никотинамидадениндинуклеотид (восстановленная форма);

L-МДГ — L-малатдегидрогеназа;

L-ЛДГ — L-лактатдегидрогеназа;

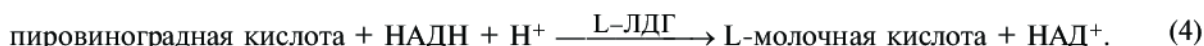
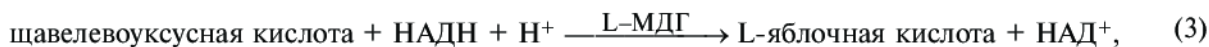
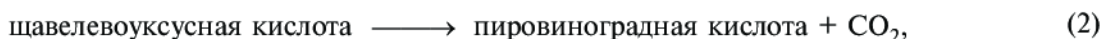
ЦЛ — цитратлиаза;

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

4 Сущность метода

Метод основан на экстрагировании лимонной кислоты и ее солей из пробы водой, освобождении экстракта от жира и белка, ферментативном гидролизе лимонной кислоты в присутствии ЦЛ до щавелевоуксусной кислоты с последующим декарбоксилированием ее до пировиноградной кислоты и восстановлении образовавшихся кислот под действием НАДН в присутствии ферментов L-МДГ и L-ЛДГ до L-яблочной и L-молочной кислот, фотометрическом измерении массовой доли израсходованного НАДН, эквивалентного массовой доле лимонной кислоты или ее соли.

В ходе анализа 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 или деминерализованной.

Допускается использовать имеющиеся в продаже готовые наборы реактивов для определения лимонной кислоты при условии, что качество реактивов не ниже указанного в настоящем стандарте.

Препарат глицилглицин должен содержать не менее 90 % основного вещества.

5.1 Глицилглициновый буферный раствор активной кислотностью 7,8 рН

7,13 г глицилглицина растворяют в 70 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709. Активную кислотность раствора устанавливают равной 7,8 рН приблизительно 15 см³ раствора гидроксида натрия по 5.5, добавляют 10 см³ раствора хлорида цинка по 5.6 и доводят общий объем раствора дистиллированной водой до 100 см³. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °С 1 мес.

5.2 Раствор НАДН

0,030 г динатриевой соли β-никотинамидадениндинуклеотида (β-НАДН-Na₂, массовая доля основного вещества не менее 98 %) и 0,060 г углекислого кислого натрия по ГОСТ 4201 растворяют в 6 см³ дистиллированной воды. Раствор устойчив при температуре 4 °С 1 мес.

5.3 Суспензия ферментов L-МДГ и L-ЛДГ

0,005 г сухого лиофилизата L-МДГ из свиного сердца активностью 6000 Е смешивают с 1 см³ раствора сернокислого аммония по ГОСТ 3769 молярной концентрации $c(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 3,2$ моль/дм³.

0,005 г сухого лиофилизата L-ЛДГ активностью 2750 Е смешивают с 1 см³ раствора сернокислого аммония по ГОСТ 3769 молярной концентрации $c(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 3,2$ моль/дм³.

Для приготовления суспензии ферментов L-МДГ и L-ЛДГ смешивают 0,4 см³ раствора сернокислого аммония по ГОСТ 3769 молярной концентрации $c(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 3,2$ моль/дм³, 0,1 см³ суспензии L-МДГ и 0,4 см³ суспензии L-ЛДГ. Суспензия ферментов устойчива при температуре 4 °С 12 мес.

5.4 Раствор ЦЛ

0,168 г сухого лиофилизата ЦЛ из *Aerobacter aerogenes* активностью 42 Е растворяют в 1 см³ бидистиллированной воды температурой 4 °С. Раствор устойчив при температуре 4 °С одну неделю, в замороженном состоянии при минус 20 °С — 1 мес.

5.5 Раствор гидроксида натрия

8 г гидроксида натрия по ГОСТ 4328 растворяют в 100 см³ дистиллированной воды.

5.6 Раствор хлорида цинка

0,080 г хлорида цинка по ГОСТ 4529 растворяют в 100 см³ дистиллированной воды.

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура, а также указанная в 6.1—6.13.

6.1 Весы лабораторные общего назначения наибольшим пределом взвешивания 20 г и допускаемой погрешностью ±0,1 мг.

6.2 Баня ледяная или холодильник с морозильным отделением.

6.3 Измельчитель (гомогенизатор) лабораторный угловой скоростью вращения от 500 до 3000 мин⁻¹.

6.4 Пробирки диаметром 2,5 см и длиной 20 см.