

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ФРУКТОВЫЕ И ОВОЩНЫЕ

Метод определения L-яблочной кислоты

Издание официальное

**ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва**

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 25 декабря 1998 г. № 462

3 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст национального стандарта ФРГ ДИН 1138—94 «Фруктовые и овощные соки. Ферментативное определение L-яблочной кислоты. Спектрофотометрическое определение НАДФ (никотинамидадениндинуклеотида)» с дополнительными требованиями, отражающими потребности народного хозяйства (разделы 2, 5, 7, 8 и 9 и пункты 6.1 и 6.5)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ФРУКТОВЫЕ И ОВОЩНЫЕ

Метод определения L-яблочной кислоты

Fruit and vegetable juices. Determination of L-malic acid content

Дата введения 1999—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, нектары и сокосодержащие напитки и устанавливает метод определения массовой концентрации L-яблочной кислоты в виде свободной кислоты или соли.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 3769—78 Аммоний сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

3 Определение, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применяют следующие термины с соответствующими определениями:
массовая концентрация L-яблочной кислоты во фруктовых и овощных соках, нектарах и сокосодержащих напитках: Массовая концентрация L-яблочной кислоты, определенная в соответствии с настоящим стандартом и выраженная в г/дм³.

3.2 В настоящем стандарте применяют следующие обозначения и сокращения:

НАД — β-никотинамидадениндинуклеотид;

НАДН — β-никотинамидадениндинуклеотид (восстановленная форма);

ГОТ — глутаматоксалоацетаттрансминаза;

L-МДГ — L-малатдегидрогеназа;

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

Метод [1, 2] основан на ферментативном преобразовании L-яблочной кислоты в оксалоацетат под действием НАД в присутствии L-МДГ, смещении равновесия реакции путем связывания образовавшегося оксалоацетата L-глутаматом в присутствии ГОТ и спектрофотометрическом измерении массовой концентрации образовавшегося НАДН, эквивалентной массовой концентрации L-яблочной кислоты в пробе [1, 2].



5 Реактивы

5.1 Общие требования

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

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

Препараты глицилглицина, L-глутаминовой кислоты и НАД должны содержать не менее 90 % основного вещества.

5.2 Глицилглициновый буферный раствор активной кислотности 10,0 рН

4,75 г глицилглицина и 0,88 г L-глутаминовой кислоты растворяют в 50 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709. Устанавливают активную кислотность раствора равной 10,0 рН приблизительно 4,6 см³ раствора гидроокиси натрия по ГОСТ 4328 молярной концентрации $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ моль/дм}^3$. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 60 см³. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °С 3 мес.

5.3 Раствор НАД

0,420 г НАД растворяют в 12 см³ дистиллированной воды. Раствор устойчив при температуре 4 °С 1 мес.

5.4 Суспензия фермента ГОТ

Раствор глутаматоксалоацетаттрансаминазы массовой концентрации 0,002 г/см³, содержащий L-аспартат и α-кетоглутарат в качестве субстрата, смешивают с раствором сернокислого аммония по ГОСТ 3769 молярной концентрации $c((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 3,2 \text{ моль/дм}^3$. Удельная активность суспензии ГОТ составляет не менее 400 Е/см³. Суспензия устойчива при температуре 4 °С 12 мес.

5.5 Суспензия фермента L-МДГ

Раствор L-малатдегидрогеназы массовой концентрации 0,005 г/см³ смешивают с раствором сернокислого аммония по ГОСТ 3769 молярной концентрации $c((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 3,2 \text{ моль/дм}^3$. Удельная активность суспензии L-МДГ составляет не менее 6000 Е/см³. Суспензия устойчива при температуре 4 °С 12 мес.

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура, а также указанная в 6.1—6.4.

6.1 Дозаторы пипеточные объемами доз 100, 50 и 25 см³ и относительной погрешностью дозирования $\pm 1 \%$ [3] или пипетки градуированные номинальной вместимостью 2,0; 1,0; 0,5; 0,2; 0,1 и 0,02 см³ и допускаемой относительной погрешностью $\pm 1 \%$.

6.2 Кюветы фотометрические из оптического стекла или пластмассы толщиной поглощающего слоя 1 см для измерений при длинах волн 334, 340 или 365 нм.

6.3 Шпатели пластиковые или палочки стеклянные оплавленные длиной от 10 до 15 см для перемешивания содержимого кюветы при проведении фотометрических измерений.

6.4 Спектрофотометр или фотометр фотоэлектрический для измерений при длинах волн 334, 340 или 365 нм, допускаемой абсолютной погрешностью измерений коэффициента пропускания $\pm 1 \%$.

6.5 Весы лабораторные общего назначения наибольшим пределом взвешивания 20 г и допускаемой погрешностью $\pm 0,0001 \text{ г}$.

7 Проведение испытания

7.1 Подготовка пробы к испытанию

Как правило, пробы не нуждаются в особых методах подготовки к испытаниям. Результаты испытания по настоящей методике выражают в граммах на кубический дециметр.

Испытания концентрированных продуктов проводят после их разбавления дистиллированной водой до получения значения относительной плотности разбавленного продукта согласно рецептурам натурального сока, нектара или сокосодержащего напитка. При этом относительную плотность разбавленной пробы выражают в граммах на кубический дециметр.

Результаты испытаний концентрированного продукта могут быть также выражены в граммах на килограмм. При расчете результата испытаний учитывают массу пробы концентрированного продукта и фактор разбавления.

При испытании продуктов высокой вязкости и/или с очень большим содержанием мякоти результаты испытаний выражают в граммах на килограмм продукта.

Продукты с мутной взвесью перед испытанием хорошо перемешивают.