

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ФРУКТОВЫЕ И ОВОЩНЫЕ

Метод определения D-глюкозы и D-фруктозы

Издание официальное

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. № 463

3 Настоящий стандарт представляет собой аутентичный текст национального стандарта ФРГ ДИН ЕН 1140—94 «Фруктовые и овощные соки. Ферментативное определение D-глюкозы и D-фруктозы. Спектрофотометрическое определение НАДФН (никотинамидадениндинуклеотид-фосфата)» с дополнительными требованиями, отражающими потребности народного хозяйства (разделы 2, 5, 7, 8 и 9 и пункт 6.1)

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 D-глюкозы и D-фруктозы

Fruit and vegetable juices.
Determination of D-glucose and D-fructose content

Дата введения 1999—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, нектары и сокодержательные напитки и устанавливает метод определения массовых концентраций D-глюкозы и D-фруктозы.

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 4523—77 Магний серноокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

3 Определение, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующими определениями:

массовые концентрации D-глюкозы и D-фруктозы во фруктовых и овощных соках, нектарах и сокодержательных напитках: Массовые концентрации D-глюкозы и D-фруктозы, определенные отдельно в соответствии с настоящим стандартом и выраженные в граммах на кубический дециметр.

3.2 В настоящем стандарте применяют следующие обозначения и сокращения.

АТФ — аденозин-5′-трифосфат;

АДФ — аденозин-5′-дифосфат;

НАДФ — β-никотинамидадениндинуклеотидфосфат;

НАДФН — β-никотинамидадениндинуклеотидфосфат (восстановленная форма);

Г-6-Ф — глюкозо-6-фосфат;

Ф-6-Ф — фруктозо-6-фосфат;

ГК — гексокиназа;

Г6Ф-ДГ — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа;

ФГИ — фосфоглюкозоизомераза;

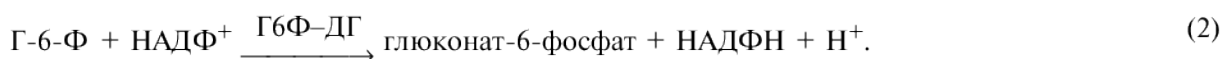
E — международная единица, определяет количество (активность) фермента, которое служит катализатором для превращения при 25 °С 1 мкмоль вещества в минуту.

4 Сущность метода и реакции

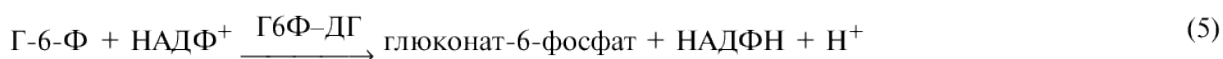
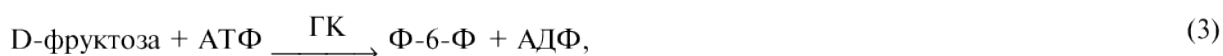
4.1 Сущность метода

Метод [1, 2] основан на фосфорилировании D-глюкозы и D-фруктозы под действием АТФ в присутствии ГК с образованием Г-6-Ф и Ф-6-Ф, преобразованием Г-6-Ф под действием НАДФ в присутствии Г6Ф-ДГ в глюконат-6-фосфат и НАДФН, фотометрическом измерении массовой концентрации образовавшегося НАДФН, эквивалентной массовой концентрации D-глюкозы; изомеризации Ф-6-Ф в Г-6-Ф в присутствии ФГИ, преобразованием Г-6-Ф под действием НАДФ в присутствии Г6Ф-ДГ в глюконат-6-фосфат и НАДФН, фотометрическом измерении массовой концентрации образовавшегося НАДФН, эквивалентной массовой концентрации D-фруктозы в пробе.

4.2 Реакции, происходящие при определении D-глюкозы:



4.3 Реакции, происходящие при определении D-фруктозы:



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 D-глюкозы и D-фруктозы при условии, что качество реактивов не ниже указанного в настоящем стандарте.

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

5.2 Буферный раствор гидрохлорида триэтанолamina активной кислотностью 7,6 рН

14,0 г триэтаноламингидрохлорида и 0,25 г сернокислого магния по ГОСТ 4523 растворяют в 80 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709. Активную кислотность раствора устанавливают равной 7,6 рН приблизительно 5 см³ раствора гидроксида натрия по ГОСТ 4328 молярной концентрации с (NaOH) = 5 моль/дм³. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 100,0 см³. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °С 1 мес.

5.3 Раствор НАДФ

0,06 г динатриевой соли β-никотинамидадениндинуклеотидфосфата (β-НАДФ-Na₂) растворяют в 6 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709. Раствор устойчив при температуре 4 °С 1 мес.

5.4 Раствор АТФ

0,3 г динатриевой соли аденозин-5'-трифосфата (АТФ-Na₂H₂·3H₂O) и 0,3 г углекислого кислого натрия по ГОСТ 4201 растворяют в 6 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709. Раствор устойчив при температуре 4 °С 1 мес.

5.5 Суспензия ферментов ГК и Г6Ф-ДГ

Раствор гексокиназы массовой долей 0,002 г/см³ и удельной активностью не менее 280 Е/см³, содержащий глюкозу в качестве субстрата и АТФ, и раствор глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы массовой долей 0,001 г/см³ и удельной активностью не менее 140 Е/см³, содержащий глюкозо-6-фосфат в качестве субстрата, смешивают с раствором сернокислого аммония по ГОСТ 3769 молярной концентрации с ((NH₄)₂SO₄) = 3,2 моль/дм³. Суспензия устойчива при температуре 4 °С 12 мес.