ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ФРУКТОВЫЕ И ОВОЩНЫЕ

Метод определения сахарозы

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2008

gost.e-ecolog.ru

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 сентября 2002 г. № 346-ст

3 Настоящий стандарт за исключением разделов 2, 8 и пунктов 3.2, 5.1—5.3, 5.5, 5.7, 6.1, 6.5, 6.6 и 7.2.7 представляет собой аутентичный текст национального стандарта ФРГ ДИН ЕН 12146—96 «Фруктовые и овощные соки. Ферментативное определение сахарозы. Спектрофотометрическое определение НАДФ»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Январь 2008 г.

© ИПК Издательство стандартов, 2002
© Стандартинформ, 2008

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Определение, обозначения и сокращения 1
4 Сущность метода 2
5 Реактивы 2
6 Аппаратура 3
7 Проведение испытания 4
8 Выражение результатов 5
9 Точность определения 6
10 Отчет об испытании 6
Приложение А Содержание сахарозы в природных фруктовых и овощных соках 7
Приложение Б Медленнотекущие реакции 8
Приложение В Статистические результаты кругового испытания 9
Приложение Г Библиография 10

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СОКИ ФРУКТОВЫЕ И ОВОЩНЫЕ

Метод определения сахарозы

Fruit and vegetable juices. Method for determination of sucrose content

Дата введения 2003—10—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, нектары и сокосодержащие напитки и устанавливает метод определения сахарозы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 195—77 Натрий сернистокислый. Технические условия

ГОСТ 1770—79 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

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

ГОСТ 3769—78 Аммоний сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4159—79 Йод. Технические условия

ГОСТ 4201—79 Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4232—74 Калий йодистый. 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 24104—88* Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений

ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

3 Определение, обозначения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением:

массовая концентрация сахарозы во фруктовых и овощных соках, нектарах и сокосодержащих напитках: Массовая концентрация сахарозы, определенная в соответствии с настоящим стандартом и выраженная 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;

* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001.

Издание официальное

Г-6-Ф — глюкозо-6-фосфат;
ГК — гексокиназа;
Г6Ф-ДГ — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа;
ФЗ — β-фруктозидаза;
Е — международная единица, определяющая количество (активность) фермента, который служит катализатором для превращения 1 мкмоля вещества в минуту при 25 °С.

4 Сущность метода

4.1 Сущность метода

В основе метода [1, 2, 3] лежит реакция ферментативного гидролиза сахарозы с помощью ФЗ с образованием равных количеств D-глюкозы и D-фруктозы. В последующей реакции, катализируемой ферментом ГК с участием АТФ, D-глюкоза (общая глюкоза), которая образовалась при гидролизе сахарозы и D-глюкоза, содержащаяся в исходной пробе (свободная глюкоза), подвергается фосфорилированию по шестому атому углерода с образованием Г-6-Ф. Под действием НАДФ Г-6-Ф в присутствии Г6Ф-ДГ преобразуется в глюконат-6-фосфат и НАДФН. Массовая концентрация образовавшегося НАДФН эквивалентна массовой концентрации преобразованной D-глюкозы (4.2). Количественное измерение НАДФН осуществляется спектрофотометром (фотометром).

Массовая концентрация сахарозы пропорциональна разности оптических плотностей растворов НАДФН, полученных преобразованием исходной пробы (свободная глюкоза) и пробы, в которой проведен ферментативный гидролиз сахарозы (общая глюкоза).

В соках, нектарах и сокосодержащих напитках с низкой массовой концентрацией сахарозы — менее 5 г/дм^3 (содержание сахарозы в природных фруктовых и овощных соках приведено в приложении А) и высокой массовой концентрацией D-глюкозы перед количественным определением сахарозы проводят йодное окисление избытка глюкозы в щелочной среде.

4.2 Реакции, происходящие при определении сахарозы

$$\text{Сахароза} + H_2O \xrightarrow{\text{ФЗ}} \text{D-глюкоза} + \text{D-фруктоза} \quad (1)$$

$$\text{D-глюкоза} + \text{АТФ} \xrightarrow{\text{ГК}} \text{Г-6-Ф} + \text{АДФ} \quad (2)$$

$$\text{Г-6-Ф} + \text{НАДФ}^+ \xrightarrow{\text{Г6Ф-ДГ}} \text{глюконат-6-фосфат} + \text{НАДФН} + H^+ \quad (3)$$

5 Реактивы

5.1 Общие требования

При проведении анализа используют реактивы х.ч. или ч.д.а и дистиллированную воду по ГОСТ 6709.

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

Препараты триэтаноламингидрохлорида, динатриевой соли β-никотинамидадениндинуклеотидфосфата (β-НАДФ-Na_2) и динатриевой соли аденозин-5′-трифосфата (АТФ-$Na_2H_2 \times 3H_2O$) должны содержать не менее 90 % основного вещества.

5.2 Растворы гидроокиси натрия

Готовят растворы гидроокиси натрия по ГОСТ 4328 молярных концентраций c (NaOH) = =5 моль/дм^3, c (NaON) = 4 моль/дм^3 и c (NaON) = 2 моль/дм^3.

5.3 Цитратный буферный раствор активной кислотностью 4,6 pH

Растворяют 6,9 г моногидрата лимонной кислоты ($C_6H_8O_7 \times H_2O$) по ГОСТ 3652 и 9,1 г дигидрата натрия лимоннокислого трехзамещенного ($C_6H_5Na_3O_7 \times 2H_2O$) [1] в 150 см^3 дистиллированной воды. Доводят активную кислотность раствора до 4,6 pH, добавляя раствор гидроокиси натрия c (NaON) = 2 моль/дм^3 по 5.2. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 200 см^3. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °С не менее 12 мес.

5.4 Раствор ФЗ

0,01 г ФЗ (ЕС 3.2.1.26) [4] массовой концентрации 0,005 г/см^3 и удельной активности не менее 750 Е/см^3 [2] растворяют в 2 см^3 цитратного буферного раствора по 5.3. Раствор ФЗ устойчив при 4 °С не менее одной недели.

5.5 Буферный раствор триэтаноламингидрохлорида активной кислотностью 7,6 pH

14,0 г триэтаноламингидрохлорида [2] и 0,25 г сернокислого магния по ГОСТ 4523 растворяют в 80 см^3 дистиллированной воды. Устанавливают активную кислотность раствора равной 7,6 pH, добавляя приблизительно 5 см^3 раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaON) = =5 моль/дм^3. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 100,0 см^3. Буферный раствор устойчив при температуре 4 °С не менее 1 мес.

5.6 Раствор НАДФ

0,06 г динатриевой соли β-никотинамидадениндинуклеотидфосфата (β-НАДФ-Na_2) [2] растворяют в 6 см^3 дистиллированной воды. Раствор устойчив при температуре 4 °С не менее 1 мес.

5.7 Раствор АТФ

0,3 г динатриевой соли аденозин-5′-трифосфата (АТФ-$Na_2H_2 \times 3H_2O$) [2] и 0,3 г кислого углекислого натрия по ГОСТ 4201 растворяют в 6 см^3 дистиллированной воды. Раствор устойчив при температуре 4 °С не менее 1 мес.

5.8 Суспензия ферментов ГК и Г6Ф-ДГ

Раствор ГК (ЕС 2.7.1.1) [4] массовой концентрации 0,002 г/см^3 и удельной активности не менее 280 Е/см^3 (проверка активности по глюкозе в качестве субстрата в присутствии АТФ) и раствор Г6Ф-ДГ (ЕС 1.1.1.49) [4] массовой концентрации 0,001 г/см^3 и удельной активности не менее 140 Е/см^3 (проверка активности по Г-6-Ф в качестве субстрата), смешивают с раствором сернокислого аммония по ГОСТ 3769 молярной концентрации c ($(NH_4)_2SO_4$) = 3,2 моль/дм^3. Суспензия устойчива при температуре 4 °С не менее 12 мес.

5.9 Раствор йода

130 г йода по ГОСТ 4159 и 150 г йодистого калия по ГОСТ 4232 растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 в 300 см^3 дистиллированной воды. После полного растворения реактивов объем раствора доводят до метки дистиллированной водой.

5.10 Раствор серной кислоты

Готовят раствор серной кислоты (H_2SO_4) молярной концентрации c (H_2SO_4) = 0,5 моль/дм^3 из концентрированного раствора серной кислоты по ГОСТ 4204.

5.11 Растворы сернистокислого натрия

Готовят насыщенный раствор сернистокислого (Na_2SO_3) натрия по ГОСТ 195 массовой концентрации 28,3 г/100 см^3 в дистиллированной воде при 80 °С.

Для приготовления разбавленного раствора сернистокислого натрия к одной части насыщенного раствора добавляют десять частей дистиллированной воды.

5.12 Раствор фенолфталеина

Готовят раствор фенолфталеина массовой концентрации 0,5 г/100 см^3 в растворе этилового спирта массовой долей спирта 96 % по ГОСТ Р 51652.

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура, а также:

6.1 Дозаторы пипеточные объемами доз 0,02; 0,05; 0,10; 0,50; 1,0; 2,0; 5,0 и 10 см^3 относительной погрешностью дозирования ±1 % [5] или пипетки градуированные номинальной вместимостью 0,02; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 и 2,0 см^3 2-го класса точности по ГОСТ 29227.

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 ±1 %.

6.5 Весы лабораторные общего назначения наибольшим пределом взвешивания 20 г и допускаемой погрешностью ±0,0001 г по ГОСТ 24104.

6.6 Колбы мерные номинальной вместимостью 50, 100, 200 и 1000 см^3, 2-го класса точности по ГОСТ 1770.

7 Проведение испытания

7.1 Подготовка пробы к испытанию

7.1.1 Стандартная методика

Сок, нектар или сокосодержащий напиток разбавляют дистиллированной водой до концентрации сахарозы и глюкозы от 0,1 до 1,5 г/дм^3. Разбавленная проба не нуждается в особых методах подготовки к испытаниям. Результаты испытаний 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 рецептуре 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 выражают в граммах на килограмм продукта.

Продукты с мутной взвесью перед испытанием хорошо перемешивают. Мутные пробы низкой массовой концентрации сахарозы осветляют центрифугированием или ультрафильтрацией через фильтр.

7.1.2 Модифицированная методика (для проб с высокой концентрацией глюкозы)

Если массовая концентрация свободной глюкозы в продукте превосходит массовую концентрацию сахарозы более чем в 10 раз, пробоподготовку проводят по следующей методике.

Осветленный центрифугированием или фильтрацией по 7.1.1 сок, нектар или сокосодержащий напиток разбавляют в 5 раз дистиллированной водой. 10 см^3 разбавленной пробы переносят в коническую колбу вместимостью 50 см^3, в которую последовательно добавляют 10 см^3 раствора йода по 5.9 и 2,5 см^3 раствора гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 4 моль/дм^3 по 5.2. Содержимое колбы перемешивают. Колбу выдерживают 10 мин в темноте. В колбу добавляют 10 см^3 раствора серной кислоты по 5.10. Для удаления избыточного йода в колбу добавляют разбавленный и(или) насыщенный раствор сернистокислого натрия по 5.11 и интенсивно перемешивают содержимое до исчезновения желто-коричневого окрашивания. Устанавливают активную кислотность раствора в интервале от 8 до 9 pH, титруя его раствором гидроокиси натрия молярной концентрации c (NaOH) = 4 моль/дм^3 по 5.2 в присутствии индикатора фенолфталеина по 5.12 до появления устойчивого слабого розового окрашивания. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3. Объем раствора в колбе доводят дистиллированной водой до метки.

7.2 Определение

7.2.1 Общие требования

Определение проводят при постоянной температуре от 20 до 25 °С. Допускается проводить испытание при постоянной температуре от 25 до 37 °С при условии получения равноценных результатов.

При использовании спектрофотометра с переменной длиной волны измерения проводят при длине волны 340 нм, при использовании спектрофотометра на ртутной лампе — при длине волны 334 или 365 нм.

Буферные растворы, растворы проб, ферментов и коферментов дозируют градуированными пипетками или автоматическими дозаторами.

Для контроля точности результатов определения используют стандартный раствор сахарозы.

7.2.2 Контрольный раствор, применяемый при определении общей глюкозы

В фотометрическую кювету вносят 0,20 см^3 цитратного буферного раствора по 5.3 и 0,02 см^3 раствора ФЗ по 5.4. Растворы перемешивают, осторожно встряхивая кювету, выдерживают 15 мин. Добавляют 1,00 см^3 буферного раствора триэтаноламингидрохлорида по 5.5, 1,7 см^3 дистиллированной воды, 0,10 см^3 раствора НАДФ по 5.6 и 0,10 см^3 раствора АТФ по 5.7. Содержимое кюветы перемешивают пластиковым шпателем или стеклянной палочкой, выдерживают 3 мин и измеряют оптическую плотность раствора — (A_1) относительно оптической плотности воздуха.

7.2.3 Контрольный раствор, применяемый при определении свободной глюкозы

В фотометрическую кювету вносят 1,00 см^3 буферного раствора триэтаноламингидрохлорида по 5.5, 1,92 см^3 дистиллированной воды, 0,10 см^3 раствора НАДФ по 5.6 и 0,10 см^3 раствора АТФ по 5.7. Содержимое кюветы перемешивают пластиковым шпателем или стеклянной палочкой,

выдерживают 3 мин и измеряют оптическую плотность раствора — (A_2) относительно оптической плотности воздуха.

7.2.4 Раствор пробы, применяемый при определении общей глюкозы

В фотометрическую кювету вносят 0,20 см^3 цитратного буферного раствора по 5.3, 0,1 см^3 подготовленной пробы по 7.1.1 и 0,02 см^3 раствора ФЗ по 5.4. Растворы перемешивают, осторожно встряхивая кювету, затем выдерживают 15 мин. В кювету вносят 1,00 см^3 буферного раствора триэтаноламингидрохлорида по 5.5, 0,10 см^3 раствора НАДФ по 5.6, 0,10 см^3 раствора АТФ по 5.7 и 1,60 см^3 дистиллированной воды. Растворы перемешивают пластиковым шпателем или стеклянной палочкой, выдерживают 3 мин и измеряют оптическую плотность раствора — (A_3) относительно оптической плотности воздуха.

7.2.5 Раствор пробы, применяемый при определении свободной глюкозы

В фотометрическую кювету вносят 0,1 см^3 подготовленной пробы по 7.1.1, 1,00 см^3 буферного раствора триэтаноламингидрохлорида по 5.5, 0,10 см^3 раствора НАДФ по 5.6, 0,10 см^3 раствора АТФ по 5.7 и 1,82 см^3 дистиллированной воды. Растворы перемешивают пластиковым шпателем или стеклянной палочкой, выдерживают 3 мин и измеряют оптическую плотность раствора — (A_4) относительно оптической плотности воздуха.

7.2.6 Раствор пробы, из которой удалена глюкоза, применяемый при определении общей глюкозы

Контрольный раствор готовят по 7.2.2. Опытный раствор готовят по следующей методике.

В фотометрическую кювету вносят 0,20 см^3 цитратного буферного раствора по 5.3, 0,1 см^3 подготовленной пробы по 7.1.2 и 0,02 см^3 раствора ФЗ по 5.4. Растворы перемешивают, осторожно встряхивая кювету, затем выдерживают 15 мин. В кювету вносят 1,00 см^3 буферного раствора триэтаноламингидрохлорида по 5.5, 0,10 см^3 раствора НАДФ по 5.6, 0,10 см^3 раствора АТФ по 5.7 и 1,60 см^3 дистиллированной воды. Раствор перемешивают пластиковым шпателем или стеклянной палочкой, выдерживают 3 мин и измеряют оптическую плотность раствора — (A_5) относительно оптической плотности воздуха.

7.2.7 Ферментативная реакция и количественное определение

Каждый из подготовленных растворов по 7.2.2, 7.2.3, 7.2.4, 7.2.5 и 7.2.6 используют для определения сахарозы по следующей методике.

В кюветы вносят по 0,02 см^3 суспензии ГК и Г6Ф-ДГ по 5.8, перемешивают пластиковым шпателем или стеклянной палочкой и выдерживают от 10 до 15 мин. Затем измеряют оптические плотности растворов — (A_6 — раствора, подготовленного по 7.2.2, A_7 — по 7.2.3, A_8 — по 7.2.4, A_9 — по 7.2.5 и A_{10} — по 7.2.6) относительно оптической плотности воздуха.

Окончание реакции проверяют повторным считыванием показаний спектрофотометра через 2 мин. Если ферментативная реакция не завершилась через 15 мин и оптическая плотность растворов увеличивается с течением времени, то окончательное значение оптической плотности определяют методом экстраполяции на момент внесения суспензии ферментов ГК и Г6Ф-ДГ по 5.8.

Примечание — При появлении побочных, так называемых «медленнотекущих», реакций расчет окончательных значений оптической плотности проводят по методике, приведенной в приложении Б.

8 Выражение результатов

Вычисляют изменение оптической плотности исследуемого раствора пробы, вызванное присутствием гидролизованной сахарозы $\Delta A_{сах}$, по разности измеренных величин оптических плотностей растворов, полученных при определении общей глюкозы $\Delta A_{общ.\ гл}$ и свободной глюкозы $\Delta A_{св.\ гл}$.

$$\Delta A_{сах} = \Delta A_{общ.\ гл} - \Delta A_{св.\ гл}, \quad (4)$$

$$\Delta A_{общ.\ гл} = (A_8 - A_3) - (A_6 - A_1), \quad (5)$$

$$\Delta A_{св.\ гл} = (A_9 - A_4) - (A_7 - A_2). \quad (6)$$

Если определение сахарозы проводилось в пробе, подготовленной по 7.1.2, расчет оптической плотности $\Delta A_{сах}$ проводят по следующей формуле

$$\Delta A_{сах} = (A_{10} - A_5) - (A_6 - A_1). \quad (7)$$

Массовую концентрацию сахарозы в пробе ρ, г/дм^3, вычисляют в соответствии с законом Ламберта—Бера по формуле

$$\rho = \frac{MV_1F}{\varepsilon\delta V_2 1000} \cdot \Delta A_{сах}, \quad (8)$$

где M — молярная масса сахарозы, г/моль (M = 342,3 г/моль);

V_1 — общий объем раствора в кювете, см^3;

F — фактор разбавления по 7.1.1 или 7.1.2;

ε — молярный коэффициент поглощения НАДФН, дм^3 · ммоль$^{-1}$ · см$^{-1}$:

- при 340 нм — 6,3,
- при 365 нм — 3,4 (ртутная лампа),
- при 334 нм — 6,18 (ртутная лампа);

δ — толщина поглощающего слоя в кювете, см;

V_2 — объем пробы, см^3.

При отсутствии отклонений от объемов, указанных в 7.2.2, 7.2.3, 7.2.4, 7.2.5 и 7.2.6, формула принимает вид

$$\rho = 10{,}34 \cdot \frac{F\Delta A_{сах}}{\varepsilon}. \quad (9)$$

При использовании имеющихся в продаже наборов реактивов численный коэффициент (10,34) в формуле (9) может быть иным из-за изменения общего объема раствора в кювете (V_1).

За результат испытания принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, округленное до 0,1 г/дм^3.

9 Точность определения

Характеристики точности метода вычислены по статистическим результатам кругового испытания (приложение Б).

9.1 Сходимость

Абсолютные расхождения между результатами двух параллельных определений, выполненных в одной лаборатории, не должны превышать более чем в 5 % случаев значений показателей сходимости r, г/дм^3:

при применении стандартной методики подготовки пробы по 7.1.1:

- яблочный сок r = 1,9,
- сок черной смородины r = 3,2,
- абрикосовый нектар r = 3,9;

при применении модифицированной методики подготовки пробы по 7.1.2 r = 0,4 г/дм^3.

9.2 Воспроизводимость

Абсолютные расхождения между результатами двух измерений, выполненных в двух лабораториях, не должны превышать более чем в 5 % случаев значений показателей воспроизводимости R, г/дм^3:

при применении стандартной методики подготовки пробы по 7.1.1:

- яблочный сок R = 3,2,
- сок черной смородины R = 5,6,
- абрикосовый нектар R = 6,9;

при применении модифицированной методики подготовки пробы по 7.1.2 R = 0,9 г/дм^3.

10 Отчет об испытании

В отчете об испытании должны быть указаны:

- информация, которая необходима для идентификации пробы (вид пробы, данные изготовителя, описание пробы);
- обозначение настоящего стандарта;
- дата и способ отбора пробы (если возможно);

- дата доставки пробы;
- результаты испытания и наименования единиц измерений, в которых они приводятся;
- дата испытания;
- информация о выполнении условий сходимости метода;
- замечания об особенностях проведения испытания;
- особые условия проведения испытания, которые не учтены настоящим стандартом, но могли бы оказать влияние на результаты испытания.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Содержание сахарозы в природных фруктовых и овощных соках [6]

Наименование сока или сока-пюре	Единица измерения содержания сахарозы в природных фруктовых и овощных соках	
	г/дм^3	г/кг
Апельсиновый сок	10—50	—
Грейпфрутовый сок	5—40	—
Яблочный сок	5—30	—
Виноградный сок (красный и белый)	Отсутствует	
Ананасовый сок	25—80	—
Лимонный сок	Не более 7,0	—
Сок маракуйи	10—45	—
Грушевый сок/пюре	—	Следы—15
Абрикосовый сок/пюре	—	Следы—55
Томатный сок	Не более 1,0	—
Сок черной смородины	Отсутствует	
Вишневый сок/пюре	Отсутствует	
Малиновый сок/пюре	Отсутствует	
Клубничный (земляничный) сок/пюре	—	Не более 10,0
Персиковый сок/пюре	—	12—60

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(справочное)

Медленнотекущие реакции

Медленнотекущие реакции возникают вследствие присутствия в матрице пробы ферментов, не указанных в стандарте, а также вследствие взаимодействия побочных компонентов матрицы с реактивами, участвующими в ферментативной реакции.

При проведении запланированной ферментативной реакции оптическая плотность через 10—20 мин принимает постоянное значение, которое зависит от скорости специфичной ферментативной реакции. При появлении медленнотекущей реакции оптическая плотность раствора пробы в кювете меняется с течением времени.

В случае возникновения медленнотекущей реакции проводят повторные определения оптической плотности раствора пробы в кювете через каждые 2—5 мин. После выполнения 5—6 повторных определений и при условии достижения постоянного изменения оптической плотности за единицу времени ($\Delta A/\Delta t$ = const) фотометрические измерения прекращают.

По полученным данным строят график зависимости оптической плотности (A) от времени (t).

Для определения окончательного значения оптической плотности, используемого при расчете массовой концентрации испытуемого вещества, экстраполируют кривую на момент внесения фермента в реакционную систему (t_0, рисунок Б.1). Для получения достоверных результатов испытания пробы разность конечного (A_f) и начального (A_i) значений оптических плотностей должна быть не менее 0,040.

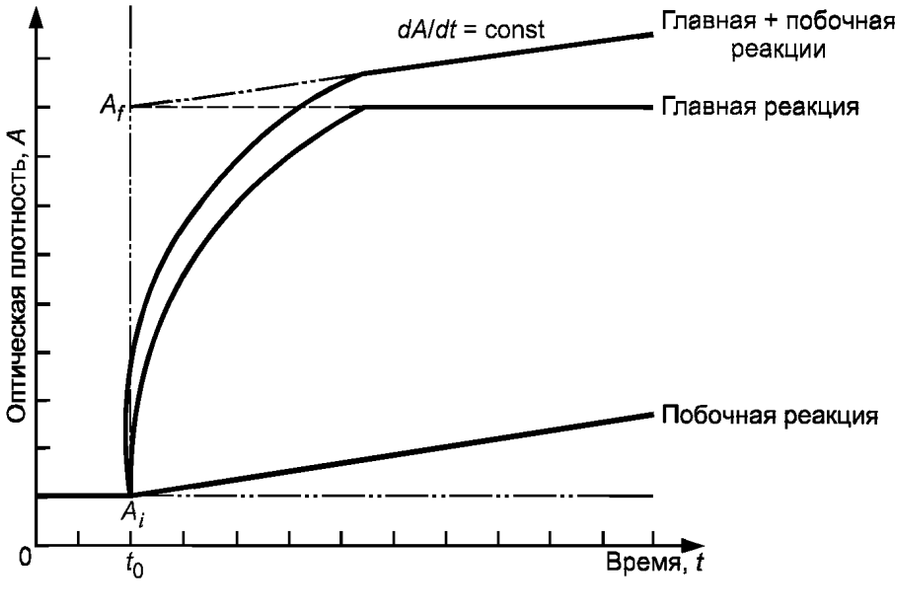

Рисунок Б.1

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(справочное)

Статистические результаты кругового испытания

При проведении в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-2 круговых испытаний получены следующие характеристики точности метода, приведенные в таблице В.1.

Испытание проведено под руководством Общества пищевой химии (г. Франкфурт, Германия).

В.1 Стандартная методика подготовки пробы

Год проведения кругового испытания — 1983.

Число участвовавших лабораторий — 22.

Количество проб — 3.

Таблица В.1

Величина, характеризующая круговое испытание	Значение для пробы сока		
	апельсинового	яблочного	виноградного (красного)
Число лабораторий, оставшихся после исключения тех, в которых полученные результаты были забракованы	19	17	18
Число исключенных лабораторий	3	5	4
Число принятых результатов	99	881	90
Среднеарифметическое значение (ρ_1), г/дм^3	10,2	22,9	63,6
Среднеквадратичное отклонение результатов определений (s_r), г/дм^3	0,6656	1,1355	1,3803
Относительное среднеквадратичное отклонение результатов определений (RSD_r), %	6,5	5,0	2,2
Сходимость (r), г/дм^3	1,9	3,2	3,9
Среднеквадратичное отклонение результатов измерений (s_R), г/дм^3	1,1257	2,0084	2,4636
Относительное среднеквадратичное отклонение результатов измерений (RSD_R), %	8,7	8,8	3,9
Воспроизводимость (R), г/дм^3	3,2	5,6	6,9

В.2 Модифицированная методика подготовки пробы

Год проведения кругового испытания — 1983.

Число участвовавших лабораторий — 11.

Количество проб — 4 (с добавкой сахарозы)

Таблица В.2

Величина, характеризующая круговое испытание	Значение для пробы сока			
	виноградного (красного)	виноградного (белого)	томатного	вишневого
Число лабораторий, оставшихся после исключения тех, в которых полученные результаты были забракованы	10	9	11	9
Число исключенных лабораторий	1	2	—	2
Число принятых результатов	50	45	55	45
Среднеарифметическое значение (ρ_1), г/дм^3	2,6	4,8	4,1	2,2
Среднеквадратичное отклонение результатов определений (s_r), г/дм^3	0,1005	0,1750	0,1631	0,0895
Относительное среднеквадратичное отклонение результатов определений (RSD_r), %	2,9	3,6	4,0	4,1
Сходимость (r), г/дм^3	0,3	0,5	0,5	0,3
Среднеквадратичное отклонение результатов измерений (s_R), г/дм^3	0,3957	0,2919	0,3350	0,1211
Относительное среднеквадратичное отклонение результатов измерений (RSD_R), %	15,2	6,1	8,2	0,3
Воспроизводимость (R), г/дм^3	1,1	0,8	0,9	0,3

ПРИЛОЖЕНИЕ Г
(справочное)

Библиография

[1] Bestimmung der Saccharose; Enzymatisch: Nr. 56, 1985. — In: Analysen/[Sammlung] Internationale Fruchtsaft-Union. — Loseblattausgabe, Stand 1996. Zug: Schweizerischer Obstverband

[2] Boehringer Mannheim. Methoden der enzimatischen BioAnalytik und Lebensmitteleanalytik mit Test-Combinationen, 1995

[3] Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung von Saccharose in Fruchtsaeften: L31.00—13, 1984—11. — In: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG: Verfahren zur Probenahme und Untersuchung von Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenstaenden/Bundesinstitut fuer gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinaermedizin — Loseblattausgabe, Stand 31.1.1995, Bd. I. — Berlin, Koeln: Beuth Verlag GmbH

[4] Номенклатура ферментов. Рекомендации Международного биохимического союза по номенклатуре и классификации ферментов, а также единицам ферментов и символам кинетики ферментативных реакций. М. 1979

[5] ТУ 64-13329—81 Дозаторы пипеточные

[6] Code of Practice. Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Economic Community/A.I.J.N. 1996

УДК 664.863.001.4:006.354 ОКС 67.160.20 Н59 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: фруктовый сок, овощной сок, нектар, сокосодержащий напиток, сахароза, D-глюкоза, спектрофотометрия

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Л.А. Гусева*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Подписано в печать 08.02.2008. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,15. Тираж 93 экз. Зак. 91.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6

gost.e-ecolog.ru