ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53883— 2010

МЕД

Методы определения сахаров

DIN 10758:1997 (NEQ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Обществом с ограниченной ответственностью Центр исследований и сертификации «Федерал» (ООО Центр «Федерал»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 432 «Пчеловодство»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 23 сентября 2010 г. № 265-ст

4 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения национального немецкого стандарта DIN 10758:1997 «Анализ меда. Определение содержания сахаридов фруктозы, глюкозы, сахарозы, туранозы и мальтозы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)» (DIN 10758:1997 «Analysis of honey — Determination of the content of saccharides fructose, glucose, saccharose, turanose and maltose — HPLC method») (аутентичный перевод, рег. № 3724/DIN от 31.10.2008 г.)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2011

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 Термины и определения 2
4 Требования безопасности проведения работ 2
5 Условия измерений 3
6 Метод определения массовой доли редуцирующих сахаров и массовой доли сахарозы (в пересчете на безводное вещество) 3
7 Метод определения массовой доли фруктозы, глюкозы, сахарозы, туранозы, мальтозы, трегалозы, арабинозы, раффинозы, мелецитозы, мелибиозы с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) 7

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЕД

Методы определения сахаров

Honey. Method for determination of sugars

Дата введения — 2011—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мед и устанавливает методы определения сахаров:

1) метод определения массовой доли редуцирующих сахаров и массовой доли сахарозы (в пересчете на безводное вещество) с помощью колориметра в диапазонах измерений от 70,00 % до 96,00 % и от 1,00 % до 26,00 % соответственно;

2) метод определения массовой доли сахаров с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в следующих диапазонах измерений:

- фруктозы от 30,00 % до 43,00 %;
- глюкозы от 22,00 % до 40,00 %;
- сахарозы от 0,10 % до 8,00 %;
- туранозы от 0,50 % до 3,00 %;
- мальтозы от 0,50 % до 5,00 %;
- трегалозы от 0,50 % до 2,50 %;
- арабинозы от 0,50 % до 2,50 %;
- раффинозы от 0,50 % до 2,50 %;
- мелецитозы от 0,50 % до 40,00 %;
- мелибиозы от 0,50 % до 2,50 %.

Требования к контролируемому показателю установлены в ГОСТ 19792, ГОСТ Р 52451.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 5725-1—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025—2006 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ Р 51568—99 (ИСО 3310-1—90) Сита лабораторные из металлической проволочной сетки. Технические условия

ГОСТ Р 52001—2002 Пчеловодство. Термины и определения

ГОСТ Р 52451—2005 Меды монофлорные. Технические условия

ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987) Вода для лабораторного анализа. Технические условия

ГОСТ Р 53126—2008 Мед. Рефрактометрический метод определения воды

Издание официальное

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ Р 53396—2009 Сахар белый. Технические условия

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019—79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009—83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021—75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042–83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118—77 (СТ СЭВ 4276—83) Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4206—75 Реактивы. Калий железосинеродистый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4919.1—77 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления растворов индикаторов

ГОСТ 5833—75 Реактивы. Сахароза. Технические условия

ГОСТ 6038—79 Реактивы. D-глюкоза. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 6995—77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 14919—83 Электроплиты. Электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 19792—2001 Мед натуральный. Технические условия

ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 28498—90 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

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

ГОСТ 29251—91 (ИСО 385-1—84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 52001, ГОСТ Р ИСО 5725-1.

4 Требования безопасности проведения работ

При проведении измерений необходимо соблюдать требования пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, инструкцию по эксплуатации жидкостного хроматографа, иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

5 Условия измерений

Помещение лаборатории должно соответствовать санитарным правилам проектирования, оборудования, эксплуатации и содержания производственных и лабораторных помещений, предназначенных для проведения работ с веществами 1-го и 2-го классов опасности, органическими растворителями. Аналитическая лаборатория должна быть оснащена вентиляционной системой согласно ГОСТ 12.4.021.

При выполнении измерений следует соблюдать следующие условия: температура окружающего воздуха от 15 °С до 25 °С, относительная влажность воздуха не более 80 % при температуре 25 °С, атмосферное давление 730—760 мм рт. ст.

6 Метод определения массовой доли редуцирующих сахаров и массовой доли сахарозы (в пересчете на безводное вещество)

6.1 Отбор и подготовка пробы

Пробу меда массой не менее 200 г отбирают по ГОСТ 19792.

Закристаллизованный мед размягчают в термостате по 6.3.4 или на термостатируемой водяной бане по 6.3.5 при температуре не выше 40 °С. Пробу охлаждают до комнатной температуры.

Мед с примесями процеживают при комнатной температуре через сито по 6.3.7. Закристаллизованный мед продавливают через сито шпателем по 6.3.8. Крупные механические частицы удаляют вручную.

Сотовый мед (без перговых ячеек) отделяют от сот при помощи сита без нагревания.

Пробу интенсивно и тщательно перемешивают не менее 3 мин.

6.2 Сущность метода

Метод основан на определении оптической плотности раствора железосинеродистого калия после того, как он прореагирует с редуцирующими сахарами меда. Метод испытания включает определение сахаров меда до и после инверсии.

6.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

6.3.1 Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК или других аналогичных марок, снабженный светофильтром с максимумом пропускания при длине волны (440 ± 10) нм.

6.3.2 Кюветы кварцевые толщиной поглощающего слоя 1 см.

6.3.3 Весы лабораторные по ГОСТ Р 53228, предел допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,1 мг.

6.3.4 Термостат или другое устройство, позволяющее производить равномерный нагрев до температуры 40 °С.

6.3.5 Водяная баня, позволяющая производить равномерный нагрев до температуры 82 °С.

6.3.6 Секундомер механический СОСпр-26-2-000.

6.3.7 Сито из нержавеющей стали, диаметр отверстий 0,5 мм по ГОСТ Р 51568.

6.3.8 Шпатель лабораторный ШЛ.

6.3.9 Электроплитка по ГОСТ 14919 или газовая горелка.

6.3.10 Термометр ртутный стеклянный лабораторный со значениями шкалы до 100 °С по ГОСТ 28498 и ценой деления 1 °С.

6.3.11 Колбы мерные 1(2)-100(200,1000)-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

6.3.12 Колбы конические КН-1(2,3)-250-29/32(34) ТС по ГОСТ 25336.

6.3.13 Пипетки 1-2-1-5(10, 25) по ГОСТ 29227.

6.3.14 Цилиндры 3-100 по ГОСТ 1770.

6.3.15 Стаканы В-1-100 ТС по ГОСТ 25336.

6.3.16 Бюретка 1-1(2)-2-25-0,1 по ГОСТ 29251.

6.3.17 Эксикатор по ГОСТ 25336.

6.3.18 Калий железосинеродистый по ГОСТ 4206, ч. д. а., х. ч.

6.3.19 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328 или калия гидроокись по ГОСТ 24363, ч. д. а., раствор молярной концентрацией 2,5 моль/дм^3 и раствор массовой долей 25 %.

6.3.20 Сахароза по ГОСТ 5833, х. ч., или кристаллический сахар, или сахарная пудра по ГОСТ Р 53396, категории экстра.

6.3.21 Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч., ч. д. а.

6.3.22 Метиловый оранжевый, ч. д. а., раствор массовой долей 0,1 %, готовят по ГОСТ 4919.1 (подраздел 3.1).

6.3.23 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается использование других средств измерений и вспомогательного оборудования по метрологическим, техническим характеристикам не хуже указанных в настоящем стандарте.

Допускается использование других реактивов по качеству и чистоте не ниже указанных.

6.4 Подготовка к испытаниям

6.4.1 Приготовление раствора железосинеродистого калия

Железосинеродистый калий по ГОСТ 4206 массой (10,00 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 1000 см³ по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

6.4.2 Приготовление стандартного раствора инвертного сахара

В стакане вместимостью 100 см³ по ГОСТ 25336 взвешивают навеску высушенной в эксикаторе по ГОСТ 25336 в течение 3 сут сахарозы по ГОСТ 5833 (или кристаллического сахара, или сахарной пудры по ГОСТ Р 53396) массой (0,381 ± 0,001) г. К навеске приливают 20—30 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709, тщательно перемешивают стеклянной палочкой и переносят жидкость в мерную колбу вместимостью 200 см³ по ГОСТ 1770. Обработку пробы повторяют два-три раза до полного растворения навески. Стакан обмывают небольшой порцией дистиллированной воды, сливают в ту же мерную колбу. Объем жидкости в мерной колбе не должен превышать 100 см³.

В колбу вносят 5 см³ концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118, помещают термометр по 6.3.10 и ставят колбу в нагретую до 80 °С—82 °С водяную баню по 6.3.5. Содержимое колбы нагревают до 67 °С—70 °С, выдерживают при этой температуре ровно 5 мин, охлаждают до 20 °С. Добавляют одну каплю раствора метилового оранжевого, приготовленного по 6.3.22, и нейтрализуют раствором гидроокиси калия или натрия массовой долей 25 % по 6.3.19. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Полученный раствор содержит 2 мг сахара в 1 см³.

6.4.3 Колориметрирование стандартного раствора инвертного сахара и построение градуировочного графика

В сухие конические колбы вместимостью 250 см³ по ГОСТ 25336 отмеряют пипетками по ГОСТ 29227 по 20 см³ раствора железосинеродистого калия, приготовленного по 6.4.1, по 5 см³ раствора гидроокиси натрия или калия молярной концентрацией 2,5 моль/дм³ по 6.3.19 и по 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 и 8,0 см³ стандартного раствора инвертного сахара, приготовленного по 6.4.2 (что соответствует 12, 13, 14, 15 и 16 мг инвертного сахара). В каждую колбу приливают из бюретки по ГОСТ 29251 соответственно 4,0; 3,5; 3,0; 2,5 и 2,0 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709 (объем жидкости в каждой колбе должен быть 35 см³). Содержимое колб нагревают до кипения и кипятят ровно 1 мин, охлаждают до комнатной температуры и измеряют оптическую плотность растворов по отношению к дистиллированной воде на фотоколориметре по 6.3.1 в кюветах по 6.3.2 при длине волны λ = 440 нм. Оптическую плотность каждого раствора определяют не менее трех раз.

Вычисляют среднеарифметическое значение оптической плотности каждого раствора при условии, если абсолютное расхождение ($D_{макс} - D_{мин}$) результатов трех определений не превосходит значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, приведенного в таблице 1. При невыполнении этого условия проводят повторные испытания. Вычисление проводят до третьего десятичного знака.

Таблица 1

Диапазон измерений оптической плотности D	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$
От 0,587 до 0,728 включ.	$0,02\,\overline{D}$

Строят градуировочный график, откладывая на оси ординат значение оптической плотности каждого раствора, а на оси абсцисс — соответствующую этому значению массу инвертного сахара в миллиграммах. Градуировочный график должен быть линейным в заданном диапазоне с коэффициентом корреляции 0,99. График используют для определения содержания редуцирующих сахаров и общего сахара после инверсии.

6.4.4 Приготовление раствора меда

Навеску меда, подготовленного по 6.1, массой (2,00 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 100 см³ по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

6.4.5 Определение массовой доли воды в меде

Определение массовой доли воды в меде, подготовленном по 6.1, проводят по ГОСТ Р 53126.

6.5 Проведение испытаний

6.5.1 Определение массовой доли редуцирующих сахаров до инверсии

6.5.1.1 Раствор меда, приготовленный по 6.4.4, объемом 10 см³ вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

6.5.1.2 В коническую колбу вместимостью 250 см³ по ГОСТ 25336 вносят 20 см³ раствора железосинеродистого калия, приготовленного по 6.4.1, 5 см³ раствора гидроокиси натрия или калия молярной концентрацией 2,5 моль/дм³ по 6.3.18 и 10 см³ раствора меда, приготовленного по 6.5.1.1. Смесь нагревают до кипения и кипятят ровно 1 мин, быстро охлаждают до комнатной температуры и делают не менее трех измерений оптической плотности (D) по отношению к дистиллированной воде на фотоколориметре по 6.3.1 в кюветах по 6.3.2 при длине волны λ = 440 нм.

Т. к. градуировочный график строится в диапазоне значений оптической плотности от 0,587 до 0,728 (что соответствует массе инвертного сахара от 12 до 16 мг), то в случае получения значений оптической плотности, не попадающих в указанный интервал, определение повторяют, соответственно изменив объем раствора меда, приготовленного по 6.5.1.1, в реакции с раствором железосинеродистого калия.

Вычисляют среднеарифметическое значение оптической плотности раствора при условии, если абсолютное расхождение ($D_{макс} - D_{мин}$) результатов трех определений не превосходит значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, приведенного в таблице 1. При невыполнении этого условия проводят повторные испытания. Вычисление проводят до третьего десятичного знака.

6.5.1.3 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

6.5.1.4 Для каждой пробы по градуировочному графику находят массу редуцирующих сахаров до инверсии, соответствующую значению оптической плотности, определенному по 6.5.1.2.

6.5.2 Определение массовой доли общего сахара после инверсии

6.5.2.1 В мерную колбу вместимостью 200 см³ вносят раствор меда, приготовленный по 6.4.4, объемом 20 см³, добавляют 80 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709 и 5 см³ концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118, помещают термометр по 6.3.10 и ставят колбу в нагретую до 80 °С—82 °С водяную баню по 6.3.5. Содержимое колбы нагревают до 67 °С—70 °С, выдерживают при этой температуре точно 5 мин, охлаждают до 20 °С. Добавляют одну каплю раствора метилового оранжевого, приготовленного по 6.3.22, и нейтрализуют раствором гидроокиси калия или натрия массовой долей 25 % по 6.3.19. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

6.5.2.2 В коническую колбу вместимостью 250 см³ по ГОСТ 25336 вносят 20 см³ раствора железосинеродистого калия, приготовленного по 6.4.1, 5 см³ раствора гидроокиси натрия или калия молярной концентрацией 2,5 моль/дм³ по 6.3.19 и 10 см³ раствора меда после инверсии, полученного по 6.5.2.1. Смесь нагревают до кипения и кипятят ровно 1 мин, быстро охлаждают до комнатной температуры и делают не менее трех измерений оптической плотности (D) по отношению к дистиллированной воде на фотоколориметре по 6.3.1 в кюветах по 6.3.2 при длине волны λ = 440 нм. Т. к. градуировочный график строится в диапазоне значений оптической плотности от 0,587 до 0,728 (что соответствует массе инвертного сахара от 12 до 16 мг), то в случае получения значений оптической плотности, не попадающих в указанный интервал, определение повторяют, соответственно изменив объем раствора меда, приготовленного по 6.5.2.1, в реакции с раствором железосинеродистого калия.

Вычисляют среднеарифметическое значение оптической плотности раствора при условии, если абсолютное расхождение ($D_{макс} - D_{мин}$) результатов трех определений не превосходит значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, приведенного в таблице 1. При невыполнении этого условия проводят повторные испытания. Вычисление проводят до третьего десятичного знака.

6.5.2.3 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

6.5.2.4 Для каждой пробы по градуировочному графику находят массовую долю общего сахара после инверсии, соответствующую значению оптической плотности, определенному по 6.5.2.2.

6.6 Обработка и представление результатов испытаний

6.6.1 Значение массовой доли редуцирующих сахаров до инверсии (в пересчете на безводное вещество) X_1, %, вычисляют по формуле

$$X_1 = 5a_1 \cdot 100\ (100 - W)^{-1}, \qquad (1)$$

где 5 — коэффициент пересчета миллиграммов в проценты, учитывающий объем и концентрацию испытуемого раствора меда;

a_1 — масса редуцирующих сахаров в соответствии с 6.5.1.4, мг;

W — массовая доля воды в меде в соответствии с 6.4.5, %.

6.6.2 Значение массовой доли общих сахаров после инверсии (в пересчете на безводное вещество) X_2, %, вычисляют по формуле

$$X_2 = 5a_2 \cdot 100\ (100 - W)^{-1}, \quad (2)$$

где 5 — коэффициент пересчета миллиграммов в проценты, учитывающий объем и концентрацию испытуемого раствора меда;

a_2 — масса общих сахаров в соответствии с 6.5.2.4, мг;

W — массовая доля воды в меде в соответствии с 6.4.5, %.

6.6.3 Значение массовой доли сахарозы (в пересчете на безводное вещество) X_3, %, вычисляют по формуле

$$X_3 = (X_2 - X_1). \quad (3)$$

6.6.4 За результаты испытаний принимают среднеарифметические значения двух параллельных определений каждого показателя, полученные в условиях повторяемости, если абсолютное расхождение между параллельными определениями не превышает пределов повторяемости r по ГОСТ Р ИСО 5725-6. Значения пределов повторяемости r приведены в таблице 2.

Таблица 2

Наименование контролируемого показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости при $P = 0,95$ r, %	Критический диапазон при трех измерениях, $CR_{0,95}(3)$, %	Предел воспроизводимости при $P = 0,95$ R, %	Границы абсолютной погрешности при $P = 0,95$ $\pm$ Δ, %
Массовая доля редуцирующих сахаров до инверсии (в пересчете на безводное вещество) X_1, %	От 70,00 до 96,00 включ.	$0,05\ \overline{X}_1$	$0,06\ \overline{X}_1$	$0,10\ \overline{X}_1$	$0,08\ \overline{X}_1$
Массовая доля общих сахаров после инверсии (в пересчете на безводное вещество) X_2, %	От 70,00 до 96,00 включ.	$0,05\ \overline{X}_2$	$0,06\ \overline{X}_2$	$0,10\ \overline{X}_2$	$0,08\ \overline{X}_2$
Массовая доля сахарозы (в пересчете на безводное вещество) X_3, %	От 1,00 до 26,00 включ.	$0,08\ \overline{X}_3$	$0,10\ \overline{X}_3$	$0,16\ \overline{X}_3$	$0,11\ \overline{X}_3$

При превышении пределов повторяемости r целесообразно провести дополнительное определение значений массовой доли редуцирующих сахаров до инверсии, массовой доли общих сахаров после инверсии, массовой доли сахарозы и получить еще по одному результату. Если при этом абсолютные расхождения ($X_{1,макс} - X_{1,мин}$), ($X_{2,макс} - X_{2,мин}$), ($X_{3,макс} - X_{3,мин}$) результатов трех определений не превосходят значений критических диапазонов $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов трех определений для каждого показателя. Значения критических диапазонов $CR_{0,95}(3)$ приведены в таблице 2.

6.6.5 Результаты испытаний, округленные до второго десятичного знака, в документах, предусматривающих их использование, представляют в виде:

$$(\overline{X}_1 \pm \Delta)\ \%\ \text{при}\ P = 0,95,$$

где $\overline{X}_1$ — среднеарифметическое значение результатов определений массовой доли редуцирующих сахаров до инверсии (в пересчете на безводное вещество) по 6.6.4, %;

$\pm\,\Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 6.7.1, %.

$$(\overline{X}_3 \pm \Delta)\ \%\ \text{при}\ P = 0,95,$$

где $\overline{X}_3$ — среднеарифметическое значение результатов определений массовой доли сахарозы (в пересчете на безводное вещество) по 6.6.4, %;

$\pm\,\Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 6.7.1, %.

6.7 Характеристика погрешности испытаний

6.7.1 Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, получаемых согласно данному методу, $\pm\,\Delta$ при доверительной вероятности $P = 0,95$ приведены в таблице 2.

6.7.2 Результаты испытаний оформляют протоколом испытаний, требования к которому содержатся в ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025.

7 Метод определения массовой доли фруктозы, глюкозы, сахарозы, туранозы, мальтозы, трегалозы, арабинозы, раффинозы, мелецитозы, мелибиозы с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

7.1 Отбор и подготовка пробы — по 6.1.

7.2 Сущность метода

Метод основан на растворении испытуемой пробы в воде, хроматографическом (ВЭЖХ) разделении сахаров меда, их регистрации с помощью рефрактометрического детектора и количественном определении по методу внешних стандартов.

7.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

7.3.1 Хроматограф жидкостный с пределом допускаемого значения относительного среднеквадратического отклонения выходного сигнала по площади или высоте пика не более 2 % и пределом обнаружения по антрацену (соотношение сигнал/шум равно 10) не более 0,01 мкг/см^3, состоящий из:

- насоса высокого давления с верхним пределом давления не менее 25 МПа, диапазоном регулирования подачи растворителя не менее 0,1—5,0 см^3/мин;
- термостата колонок, поддерживающего температуру колонки (30,0 ± 0,1) °С;
- инжектора или петлевого устройства ввода пробы рабочим объемом петли 0,020 см^3;
- рефрактометрического детектора;
- системы для сбора и обработки данных;
- колонки хроматографической длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, заполненной амин-модифицированным диоксидом кремния (например, Eclipse XDB-C18, 5 мкм, 250 × 4.6 мм).

7.3.2 Предколонка с картриджем Phenomenex C_{18} (ODS) размером 4 × 3 мм.

7.3.3 Микрошприцы вместимостью от 0,010 до 0,050 см^3 для жидкостной хроматографии (в случае использования инжектора).

7.3.4 Весы по ГОСТ Р 53228 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,02 мг.

7.3.5 Система получения воды квалификации «для ВЭЖХ» Millipore Simplicity или аналогичная.

7.3.6 Устройство для фильтрации и дегазации.

7.3.7 Колбы мерные 1(2)-100-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

7.3.8 Пипетки 2-2-25 по ГОСТ 29227.

7.3.9 Цилиндры 3-50(100)-1 по ГОСТ 1770.

7.3.10 Стаканы В-1-100 ТС по ГОСТ 25336.

7.3.11 Колбы конические КН-1(2,3)-250-29/32(34) ТС по ГОСТ 25336.

7.3.12 Фильтр нейлоновый импортный на шприце с размером пор 0,45 мкм (13 mm Nylon 0,45 μm (Waters)).

7.3.13 Термостат или другое устройство, позволяющее проводить равномерный нагрев до температуры 40 °С.

7.3.14 Сито из нержавеющей стали, диаметр отверстий 0,5 мм по ГОСТ Р 51568.

7.3.15 Палочки стеклянные лабораторные оплавленные длиной от 15 до 20 см.

7.3.16 Шпатель лабораторный ШЛ.

7.3.17 Ацетонитрил для хроматографии, х. ч.

7.3.18 Метанол-яд для хроматографии или по ГОСТ 6995, х. ч.

7.3.19 Фруктоза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.20 Глюкоза по ГОСТ 6038.

7.3.21 Сахароза по ГОСТ 5833.

7.3.22 Тураноза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.23 Мальтоза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.24 Трегалоза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.25 Арабиноза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.26 Раффиноза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.27 Мелецитоза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.28 Мелебиоза с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

7.3.29 Вода для лабораторного анализа по ГОСТ Р 52501, категории 1.

7.3.30 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается использование других средств измерений и вспомогательного оборудования по метрологическим, техническим характеристикам не хуже указанных в настоящем стандарте.

Допускается использование других реактивов по качеству и чистоте не ниже вышеуказанных.

7.4 Подготовка к испытаниям

7.4.1 Приготовление элюента для ВЭЖХ

В конической колбе на 250 см³ по ГОСТ 25336 смешивают 80 см³ ацетонитрила по 7.3.17 и 20 см³ воды для лабораторного анализа по ГОСТ Р 52501. Раствор элюента пропускают через устройство для фильтрации и дегазации по 7.3.6.

Раствор при необходимости хранят при температуре 4 °С в течение 30 сут.

7.4.2 Приготовление стандартного раствора

Фруктозу по 7.3.19 массой (2,0000 ± 0,0001) г, глюкозу по ГОСТ 6038 массой (1,5000 ± 0,0001) г, сахарозу по ГОСТ 5833 массой (0,2500 ± 0,0001) г, туранозу по 7.3.22 массой (0,1500 ± 0,0001) г, мальтозу по 7.3.23 массой (0,1500 ± 0,0001) г, трегалозу по 7.3.24 массой (0,1500 ± 0,0001) г, арабинозу по 7.3.25 массой (0,1500 ± 0,0001) г, раффинозу по 7.3.26 массой (0,1500 ± 0,0001) г, мелецитозу по 7.3.27 массой (0,1500 ± 0,0001) г, мелебиозу по 7.3.28 массой (0,1500 ± 0,0001) г растворяют в воде для лабораторного анализа в одной мерной колбе вместимостью 100 см³ по ГОСТ 1770. Добавляют 25 см³ метанола по 7.3.18. Объем раствора в колбе доводят до метки водой для лабораторного анализа, перемешивают. Полученный раствор фильтруют через нейлоновый фильтр по 7.3.12.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4 °С в течение 30 сут или при температуре минус 18 °С в течение 180 сут.

7.4.3 Приготовление раствора меда

В стакан вместимостью 50 см³ по ГОСТ 25336 взвешивают навеску меда массой (5,0000 ± 0,0001) г, подготовленного по 6.1. К навеске приливают 10—20 см³ дистиллированной воды по ГОСТ 6709, мед тщательно растирают стеклянной палочкой и переносят жидкость в мерную колбу вместимостью 100 см³ по ГОСТ 1770. Обработку пробы повторяют два-три раза до полного растворения меда, затем стакан несколько раз обмывают небольшими порциями дистиллированной воды, которые также сливают в мерную колбу, при этом объем жидкости не должен превышать 2/3 объема колбы. Добавляют 25 см³ метанола. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Полученный раствор фильтруют через нейлоновый фильтр по 7.3.12.

Раствор хранят в холодильнике при температуре 4 °С в течение 30 сут или при температуре минус 18 °С в течение 180 сут.

7.5 Проведение испытаний

Стандартный раствор (см. 7.4.2) и раствор меда (см. 7.4.3) последовательно хроматографируют в следующих условиях хроматографического анализа:

- температура колонки (30,0 ± 0,1) °С;
- скорость потока 1,3 см³/мин;
- подвижная фаза — элюент (см. 7.4.1);
- объем вводимого раствора 0,020 см³;
- рефрактометрический детектор.

Значения времен удерживания сахаров в ВЭЖХ-спектрах приведены в таблице 3.

Примечание — Объемы инжекции раствора меда и стандартного раствора должны быть одинаковыми.

При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

Таблица 3

Наименование сахара	Время удерживания сахара, мин
Фруктоза	5,2 ± 0,3
Глюкоза	6,0 ± 0,3
Сахароза	8,5 ± 0,3
Тураноза	9,5 ± 0,3
Мальтоза	11,0 ± 0,3
Трегалоза	12,2 ± 0,3
Арабиноза	14,0 ± 0,3
Раффиноза	15,5 ± 0,3
Мелецитоза	18,0 ± 0,3
Мелебиоза	21,0 ± 0,3

7.6 Обработка и представление результатов испытаний

7.6.1 Качественная оценка

Путем сравнения значений времен удерживания в ВЭЖХ-спектрах стандартного раствора и раствора меда проводят идентификацию определяемых сахаров.

7.6.2 Количественное определение

Количественное определение осуществляют методом внешних стандартов по площадям или высотам пиков определяемых сахаров в ВЭЖХ-спектре раствора меда по отношению к таковым стандартного раствора.

Примечание — Чтобы учесть изменения в значениях времен удерживания и значениях пиков сахаров, через каждые четыре анализа испытуемых растворов вводят стандартный раствор. Значения времен удерживания сахаров могут меняться при переходе от одной колонки к другой. После выхода последнего сахара (мелебиозы) необходимо провести промывку хроматографической колонки дистиллированной водой для удаления прочно удерживаемых соединений.

7.6.3 Массовую долю сахара X, %, рассчитывают по формуле

$$X = 100\, A_1 \cdot V_1 \cdot m_2 \cdot A_2^{-1} \cdot V_2^{-1} \cdot m_1^{-1}, \quad (4)$$

где A_1 — площадь или высота пика соответствующего сахара в растворе меда, м^2 или м;

V_1 — общий объем раствора меда, см^3;

m_2 — масса сахара, содержащаяся в общем объеме стандартного раствора V_2, г;

A_2 — площадь или высота пика соответствующего сахара в стандартном растворе, м^2 или м;

V_2 — общий объем стандартного раствора, см^3;

m_1 — навеска меда, г.

Вычисление проводят до второго десятичного знака.

7.6.4 За результат испытаний принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений, полученных в условиях повторяемости, если абсолютное расхождение между параллельными определениями не превышает предела повторяемости r по ГОСТ Р ИСО 5725-6. Значения предела повторяемости r приведены в таблице 4.

Таблица 4

Наименование сахара	Диапазон измерений массовой доли сахара X, %	Предел повторяемости при $P = 0{,}95$ r, %	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$, %	Предел воспроизводимости при $P = 0{,}95$ R, %	Границы абсолютной погрешности при $P = 0{,}95$ $\pm\ \Delta$, %
Фруктоза	От 30,00 до 43,00 включ.	$0{,}03\ \overline{X}$	$0{,}04\ \overline{X}$	$0{,}06\ \overline{X}$	$0{,}04\ \overline{X}$
Глюкоза	От 22,00 до 40,00 включ.	$0{,}04\ \overline{X}$	$0{,}06\ \overline{X}$	$0{,}10\ \overline{X}$	$0{,}07\ \overline{X}$
Сахароза	От 0,10 до 8,00 включ.	$0{,}15\ \overline{X}$	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}20\ \overline{X}$
Тураноза	От 0,50 до 3,00 включ.	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}40\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$
Мальтоза	От 0,50 до 5,00 включ.	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}40\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$
Трегалоза	От 0,50 до 2,50 включ.	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}40\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$
Арабиноза	От 0,50 до 2,50 включ.	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}40\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$
Раффиноза	От 0,50 до 2,50 включ.	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}40\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$
Мелецитоза	От 0,50 до 40,00 включ.	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}40\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$
Мелебиоза	От 0,50 до 2,50 включ.	$0{,}20\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$	$0{,}40\ \overline{X}$	$0{,}30\ \overline{X}$

При превышении предела повторяемости r целесообразно произвести дополнительное определение значения массовой доли сахара и получить еще один результат. Если при этом абсолютное расхождение ($X_{макс} - X_{мин}$) результатов трех определений не превосходит значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов трех определений. Значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$ приведены в таблице 4.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

7.6.5 Абсолютное расхождение между результатами испытаний, полученными в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R по ГОСТ Р ИСО 5725-6. При выполнении этого условия приемлемы оба результата испытания и в качестве окончательного результата может быть использовано их среднеарифметическое значение. Значения предела воспроизводимости R приведены в таблице 4.

7.6.6 Результат испытаний, округленный до второго десятичного знака, в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$(\overline{X} \pm \Delta)\ \%\ \text{при}\ P = 0,95,$$

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов определений по 7.6.4, %;

$\pm\Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 7.7.1, %.

7.7 Характеристика погрешности испытаний

7.7.1 Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, получаемых согласно данному методу, $\pm\Delta$ при доверительной вероятности $P = 0,95$ приведены в таблице 4.

7.7.2 Результаты испытаний оформляют протоколом испытаний, требования к которому содержатся в ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025.

УДК 638.16:006.354 С52 ОКС 67.180.10

Ключевые слова: мед, редуцирующие сахара, сахароза, колориметр, сахара, высокоэффективная жидкостная хроматография, метрологические характеристики

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 24.03.2011. Подписано в печать 08.04.2011. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усп. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,40. Тираж 201 экз. Зак. 240.

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