ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54386— 2011

МЕД

Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимого вещества

DIN 10759-1:1998
Analysis of honey — Determination of saccharase activity — Part 1: Siegenthaler method
DIN 10750:2006
Analysis of honey — Determination of diastase activity (NEQ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

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 Центром 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 25 августа 2011 г. № 241-ст

4 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения национальных немецких стандартов: DIN 10759-1:1998 «Исследование меда. Определение активности сахаразы. Часть 1. Метод Зигенталера» (DIN 10759-1:1998 «Analysis of honey — Determination of saccharase activity — Part 1: Siegenthaler method») (аутентичный перевод, рег. № 3432/DIN от 30.05.2008 г.), DIN 10750:2006 «Анализ меда. Определение активности диастазы» (DIN 10750:2006 «Analysis of honey — Determination of diastase activity») (аутентичный перевод, рег. № 2875/DIN от 30.04.2007 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, 2013

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 2
6 Метод определения активности сахаразы 3
7 Метод определения диастазного числа 6
8 Метод определения диастазного числа по Шаде 8
9 Метод определения диастазного числа по Фадебазу 12
10 Метод определения нерастворимого вещества 15

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЕД

Методы определения активности сахаразы, диастазного числа, нерастворимого вещества

Honey. Methods for determination of succharase activity, diastase value, insoluble matter

Дата введения — 2013—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мед и устанавливает:

- метод определения активности сахаразы в диапазоне измерений от 20,0 до 200,0 ед./кг;
- метод определения диастазного числа в диапазоне измерений от 3,0 до 40,0 ед. Готе;
- метод определения диастазного числа по Шаде в диапазоне измерений от 0 до 40,0 ед. Шаде;
- метод определения диастазного числа по Фадебазу в диапазоне измерений от 0 до 40,0 ед. Шаде;
- метод определения массовой доли нерастворимых веществ в диапазоне измерений от 0 % до 0,500 %.

Требования к контролируемым показателям 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 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 53126—2008 Мед. Рефрактометрический метод определения воды

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

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 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 199—78 Реактивы. Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

Издание официальное

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

ГОСТ 3118—77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4159—79 Реактивы. Йод. Технические условия

ГОСТ 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4232—74 Реактивы. Калий йодистый. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 10163—75 Реактивы. Крахмал растворимый. Технические условия

ГОСТ 11773—76 Реактивы. Натрий фосфорнокислый двузамещенный. Технические условия

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

ГОСТ 19792—2001 Мед натуральный. Технические условия

ГОСТ 21241—89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

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 окружающей среды . . . . . от 15 °С до 25 °С;

относительная влажность воздуха при температуре 25 °С . . не более 80 %;

атмосферное давление . . . . . от 97 до 101 кПа (730—760 мм рт. ст.).

6 Метод определения активности сахаразы

6.1 Отбор и подготовка пробы

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

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

Мед с примесями процеживают при комнатной температуре через сито по 6.3.6. 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. При гомогенизации следует обратить внимание на то, чтобы меньше воздуха попало в мед.

6.2 Сущность метода

Метод основан на фотометрическом определении количества продукта расщепления субстрата в условиях проведения ферментативной реакции и последующем вычислении активности сахаразы (α-глюкозидазы, инвертазы) меда и инвертазного числа.

1 мкмоль субстрата, расщепленного сахаразой за 1 мин при оптимальных для ферментативной реакции условиях (значение pH, температура), соответствует 1 ед. активности.

Инвертазное число характеризует активность сахаразы меда.

Инвертазное число показывает массу сахаразы (в граммах), расщепленную содержащимися в 100 г меда ферментами за 1 ч при условиях испытания.

6.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

6.3.1 Спектрофотометр, снабженный светофильтром с максимумом пропускания при длине волны 400 нм и кюветами с четырьмя прозрачными стенками и длиной оптического пути 10 мм.

6.3.2 Весы по ГОСТ Р 53228 высокого класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,1 мг.

6.3.3 Термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном значений от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

6.3.4 Термостат, водяная баня или другое устройство, позволяющее проводить равномерный нагрев до температуры 60 °С.

6.3.5 pH-метр/иономер с пределами допускаемой основной абсолютной погрешности прибора при преобразовании измеренного значения ЭДС в pX (pH) ± 0,02 ед. pX (pH).

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

6.3.7 Секундомер механический СОСпр-26-2-000.

6.3.8 Шпатель лабораторный ШЛ.

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

6.3.10 Стаканы В 1-50 ТС по ГОСТ 25336.

6.3.11 Цилиндры мерные 1-500-2 по ГОСТ 1770.

6.3.12 Колбы мерные 1(2)-25(100,500,1000)-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

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

6.3.14 Калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4) по ГОСТ 4198, х.ч.

6.3.15 Натрий фосфорнокислый двузамещенный (Na_2HPO_4) по ГОСТ 11773, х.ч.

6.3.16 *n*-Нитрофенил-α-D-глюкопиранозид с содержанием основного вещества не менее 98,0 %.

6.3.17 *Трис*-(гидроксиметил)аминометан с содержанием основного вещества не менее 99,9 %.

6.3.18 Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.

6.3.19 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

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

6.4 Подготовка к испытаниям

6.4.1 Приготовление буферного раствора (pH = 6,0)

Калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4) по ГОСТ 4198 массой (11,66 ± 0,01) г и натрий фосфорнокислый двузамещенный (Na_2HPO_4) по ГОСТ 11773 массой (2,04 ± 0,01) г растворяют в

дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

6.4.2 Приготовление раствора субстрата

п-Нитрофенил-α-D-глюкопиранозид по 6.3.16 массой (3,0126 ± 0,0001) г растворяют в буферном растворе, приготовленном по 6.4.1, нагревая до температуры не выше (60 ± 1) °С, в мерной колбе вместимостью 500 см^3 по ГОСТ 1770. Раствор быстро охлаждают до комнатной температуры и доводят до метки буферным раствором, перемешивают.

Раствор хранят в склянке из темного стекла при температуре 4 °С в течение 30 сут.

6.4.3 Приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрацией 3 моль/дм^3

Соляную кислоту по ГОСТ 3118 объемом 270 см^3 осторожно, при перемешивании, приливают к 300 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

6.4.4 Приготовление фиксирующего раствора (pH = 9,5)

Трис-(гидроксиметил)аминометан по 6.3.17 массой (36,34 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770. Добавляют раствор соляной кислоты молярной концентрацией 3 моль/дм^3, приготовленный по 6.4.3, в объеме, достаточном для установления значения pH раствора (9,5 ± 0,1) ед. pH (по pH-метру по 6.3.5). Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

6.4.5 Приготовление раствора меда

В стакан вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336 взвешивают навеску меда, подготовленного по 6.1, массой (4,00 ± 0,01) г. К навеске приливают 5 см^3 буферного раствора, приготовленного по 6.4.1, мед тщательно растирают стеклянной палочкой и переносят жидкость в мерную колбу вместимостью 25 см^3 по ГОСТ 1770. Обработку пробы повторяют два-три раза до полного растворения меда, затем стакан несколько раз обмывают небольшими порциями буферного раствора, которые также сливают в мерную колбу. Объем раствора в колбе доводят до метки буферным раствором, перемешивают.

Раствор хранят при температуре 4 °С в течение 24 ч.

6.5 Проведение испытаний

6.5.1 В две мерные колбы вместимостью 25 см^3 по ГОСТ 1770 вносят по 5 см^3 раствора субстрата, приготовленного по 6.4.2. Колбы помещают в термостат или на водяную баню по 6.3.4 с регулятором температуры, установленным на температуру (40,0 ± 0,2) °С. Через 5 мин выдерживания при температуре (40,0 ± 0,1) °С в первую колбу добавляют 0,5 см^3 раствора меда, приготовленного по 6.4.5, и начинают отсчет времени по секундомеру по 6.3.7. Перемешивают содержимое колбы (рабочий раствор) в течение 10 с, вновь помещают колбу в термостат или на водяную баню температурой (40,0 ± 0,1) °С. Через 20 мин в обе колбы добавляют по 0,5 см^3 фиксирующего раствора, приготовленного по 6.4.4, смеси в колбах перемешивают в течение 10 с. Во вторую колбу добавляют 0,5 см^3 раствора меда, приготовленного по 6.4.5, смесь (контрольный раствор) вновь перемешивают. Контрольный раствор готовят для каждого образца меда.

6.5.2 После охлаждения растворов до комнатной температуры измеряют оптическую плотность (D) рабочего раствора по отношению к контрольному раствору на спектрофотометре по 6.3.1 при длине волны λ = 400 нм в течение 60 мин. Оптическую плотность раствора определяют не менее трех раз.

Вычисляют среднеарифметическое значение оптической плотности рабочего 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 $CR_{0,95}(3)$
От 0,101 до 1,007 включ.	$0,02\overline{D}$

6.5.3 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

6.6 Обработка и представление результатов испытаний

6.6.1 Значение активности сахаразы S, ед./кг меда, вычисляют по формуле

$$S = 794{,}7D \cdot m^{-1}, \quad (1)$$

где 794,7 — коэффициент, учитывающий разбавление (в пересчете на 1 кг меда), объем рабочего раствора, пересчет времени реакции на 1 мин, молярную концентрацию продукта разложения субстрата;

D — оптическая плотность рабочего раствора по 6.5.2;

m — масса навески меда, г.

6.6.2 Значение инвертазного числа IN вычисляют по формуле

$$IN = 21{,}64D, \quad (2)$$

где 21,64 — коэффициент линейной зависимости инвертазного числа от оптической плотности;

D — оптическая плотность рабочего раствора по 6.5.2.

6.6.3 За результаты испытаний принимают среднеарифметические значения двух параллельных определений активности сахаразы и инвертазного числа, полученных в условиях повторяемости, если абсолютные расхождения между параллельными определениями не превышают пределов повторяемости r по ГОСТ Р ИСО 5725-6. Значения пределов повторяемости r приведены в таблицах 2, 3.

Таблица 2

Диапазон измерений активности сахаразы S, ед./кг	Предел повторяемости r, при $P = 0{,}95$, ед./кг	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$, ед./кг	Предел воспроизводимости R, при $P = 0{,}95$, ед./кг	Границы абсолютной погрешности $\pm\Delta$, при $P = 0{,}95$, ед./кг
От 20,0 до 200,0 включ.	$0{,}07\overline{S}$	$0{,}10\overline{S}$	$0{,}13\overline{S}$	$0{,}12\overline{S}$

Таблица 3

Диапазон измерений инвертазного числа IN	Предел повторяемости r, при $P = 0{,}95$	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$	Предел воспроизводимости R, при $P = 0{,}95$	Границы абсолютной погрешности $\pm\Delta$, при $P = 0{,}95$
От 2,2 до 21,8 включ.	$0{,}07\overline{IN}$	$0{,}10\overline{IN}$	$0{,}13\overline{IN}$	$0{,}12\overline{IN}$

При превышении пределов повторяемости r целесообразно провести дополнительные определения значений активности сахаразы и инвертазного числа и получить еще по одному результату. Если при этом абсолютные расхождения ($S_{макс} - S_{мин}$), ($IN_{макс} - IN_{мин}$) результатов трех определений не превышают значений критических диапазонов $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательных результатов принимают среднеарифметические значения результатов трех определений активности сахаразы и инвертного числа. Значения критических диапазонов $CR_{0,95}(3)$ приведены в таблицах 2, 3.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

6.6.4 Абсолютные расхождения между результатами испытаний активности сахаразы, инвертазного числа, полученными в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, не должны превышать пределов воспроизводимости R по ГОСТ Р ИСО 5725-6. При выполнении этого условия приемлемы оба результата испытания каждого показателя и в качестве окончательного результата может быть использовано их среднеарифметическое значение. Значения пределов воспроизводимости R приведены в таблицах 2, 3.

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

$$(\overline{S} \pm \Delta),\ \text{ед./кг, при } P = 0{,}95,$$

где $\overline{S}$ — среднеарифметическое значение результатов определений активности сахаразы по 6.6.3, ед./кг;

$\pm\Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 6.7, ед./кг.

$(\overline{IN} \pm \Delta)$, при $P = 0,95$,

где $\overline{IN}$ — среднеарифметическое значение результатов определений инвертазного числа по 6.6.3;

$\pm \Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 6.7.

6.7 Характеристика погрешности испытаний

Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, получаемых согласно данному методу, $\pm \Delta$, при доверительной вероятности $P = 0,95$, приведены в таблицах 2, 3.

7 Метод определения диастазного числа

7.1 Отбор и подготовка пробы — по 6.1.

7.2 Сущность метода

Метод основан на колориметрическом определении количества субстрата, расщепленного в условиях проведения ферментативной реакции, и последующем вычислении диастазного числа.

Диастазное число характеризует активность амилолитических ферментов меда.

Диастазное число выражают количеством кубических сантиметров раствора крахмала массовой долей 1 %, которое разлагается за 1 ч амилолитическими ферментами, содержащимися в 1 г безводного вещества меда.

1 $см^3$ раствора крахмала массовой долей 1 % соответствует 1 ед. активности.

Метод применяется при возникновении разногласий.

7.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

7.3.1 Колориметр фотоэлектрический, снабженный светофильтром с максимумом пропускания при длине волны 590 нм и кюветами с четырьмя прозрачными стенками и длиной оптического пути 10 мм.

7.3.2 Весы по ГОСТ Р 53228 высокого класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,1 мг.

7.3.3 Термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном значений от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

7.3.4 Термостат, водяная баня или другое устройство, позволяющее проводить равномерный нагрев до температуры 40 °С.

7.3.5 pH-метр/иономер с пределами допускаемой основной абсолютной погрешности прибора при преобразовании измеренного значения ЭДС в pX (pH) ± 0,02 ед. pX (pH).

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

7.3.7 Секундомер механический СОСпр-26-2-000.

7.3.8 Шпатель лабораторный ШЛ.

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

7.3.10 Стаканы В 1-50 ТС по ГОСТ 25336.

7.3.11 Цилиндры мерные 1-50(100)-2 по ГОСТ 1770.

7.3.12 Колбы мерные 1(2)-50(100)-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

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

7.3.14 Пробирки П-2-20-14/23 ХС по ГОСТ 1770.

7.3.15 Пипетки 1-2-1-1 по ГОСТ 29227.

7.3.16 Бюретки 1-2-25(50)-0,1 по ГОСТ 29251.

7.3.17 Натрий хлористый по ГОСТ 4233, ч. д. а., раствор молярной концентрацией 0.1 моль/$дм^3$.

7.3.18 Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199, х.ч., раствор молярной концентрацией 0,2 моль/$дм^3$.

7.3.19 Кислота уксусная по ГОСТ 61, х.ч., ледяная, раствор молярной концентрацией 0,2 моль/$дм^3$.

7.3.20 Крахмал растворимый по ГОСТ 10163, ч.д.а.

7.3.21 Йод по ГОСТ 4159, ч.д.а., раствор молярной концентрацией 0,015 моль/$дм^3$.

7.3.22 2,4-динитрофенол, ч. д. а.

7.3.23 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается использование других средств измерений, 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 ацетатного буферного раствора молярной концентрацией 0,2 моль/дм^3 (pH = 5,0)

7.4.1.1 Смешивают 100 см^3 раствора уксусной кислоты по 7.3.19 и 300 см^3 раствора уксуснокислого натрия по 7.3.18. С помощью pH-метра по 7.3.5 устанавливают значение pH полученного раствора (5,0 ± 0,1) ед. pH, добавляя раствор уксусной кислоты или уксуснокислого натрия.

7.4.1.2 (0,350 ± 0,001) г 2,4-динитрофенола по 7.3.22 растворяют в 10—20 см^3 буферного раствора, приготовленного по 7.4.1.1, нагревая до температуры не выше (40 ± 1) °С, в стакане вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки буферным раствором, перемешивают.

7.4.2 Приготовление раствора крахмала

(0,250 ± 0,001) г крахмала по ГОСТ 10163 растворяют в 10—15 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в стакане вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336. Раствор осторожно количественно переносят в коническую колбу вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 25336 с 50 см^3 кипящей дистиллированной воды. Кипячение смеси продолжают в течение 2—3 мин. Колбу охлаждают до температуры (20 ± 1) °С. Содержимое количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

7.4.3 Приготовление комбинированного реактива

Смешивают восемь объемных частей раствора крахмала, приготовленного по 7.4.2, пять объемных частей ацетатного буферного раствора, приготовленного по 7.4.1, и одну объемную часть раствора хлористого натрия по 7.3.17. Полученную смесь тщательно перемешивают.

Реактив хранят при комнатной температуре не более 3 мес.

7.4.4 Приготовление раствора меда

(5,00 ± 0,01) г меда, подготовленного по 6.1, растворяют в 15—20 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в стакане вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед проведением испытания.

7.4.5 Определение массовой доли воды в меде

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

7.5 Проведение испытаний

7.5.1 В две пробирки по 7.3.14 отмеряют из бюретки по 7.3.16 по 14 см^3 комбинированного реактива, приготовленного по 7.4.3. Пробирки закрывают пробками и помещают на водяную баню с регулятором температуры, установленным на (40,0 ± 0,2) °С. Через 10 мин выдерживания при температуре (40,0 ± 0,1) °С, не доставая пробирки из бани, в первую вносят пипеткой 1,0 см^3 раствора меда, приготовленного по 7.4.4, во вторую — 1,0 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709, одновременно включая секундомер по 7.3.7. Содержимое пробирок перемешивают и вновь помещают на водяную баню. Каждую пробирку выдерживают на водяной бане при температуре (40,0 ± 0,1) °С в течение 15 мин.

7.5.2 В две мерные колбы вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 1770 помещают по 40 см^3 дистиллированной воды и по 1 см^3 свежеприготовленного раствора йода по 7.3.21, перемешивают и термостатируют на водяной бане при температуре (20,0 ± 0,1) °С.

7.5.3 Через 15 мин выдерживания, не доставая пробирок из водяной бани, быстро отбирают из каждой по 2,0 см^3 реакционных смесей и вносят их при перемешивании в мерные колбы с раствором йода по 7.5.2. Объемы растворов в колбах доводят до метки дистиллированной водой. Колбы закрывают пробками, содержимое тщательно перемешивают и выдерживают на водяной бане при температуре (20,0 ± 0,1) °С в течение 10 мин.

7.5.4 Затем быстро измеряют оптическую плотность испытуемого ($D_{исп}$) и контрольного ($D_к$) растворов по отношению к дистиллированной воде на фотоэлектроколориметре по 7.3.1 при длине волны 590 нм.

7.5.5 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

7.6 Обработка и представление результатов испытаний

7.6.1 Значение диастазного числа меда X, ед. Готе, в пересчете на 1 г безводного вещества, вычисляют по формуле

$$X = 100 \cdot 80(D_к - D_{исп}) \cdot D_к^{-1} \cdot (100 - W)^{-1}, \quad (3)$$

где 80 — коэффициент пересчета;

$D_к$ — оптическая плотность контрольного раствора;

$D_{исп}$ — соответствующая оптическая плотность испытуемого раствора;

W — массовая доля воды в меде, найденная по 7.4.5, %.

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

Таблица 4

Диапазон измерений диастазного числа X, ед. Готе	Предел повторяемости r, при P = 0,95, ед. Готе	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$, ед. Готе	Предел воспроизводимости R, при P = 0,95, ед. Готе	Границы абсолютной погрешности ± Δ, при P = 0,95, ед. Готе
От 3,0 до 20,0 включ.	$0,07\overline{X}$	$0,10\overline{X}$	$0,15\overline{X}$	$0,11\overline{X}$
Св. 20,0 до 40,0 включ.	$0,03\overline{X}$	$0,05\overline{X}$	$0,10\overline{X}$	$0,07\overline{X}$

При превышении предела повторяемости r целесообразно провести дополнительное определение значения диастазного числа и получить еще один результат. Если при этом абсолютное расхождение ($X_{макс} - X_{мин}$) результатов трех определений не превышает значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов трех определений диастазного числа. Значение критического диапазона $CR_{0,95}(3)$ приведено в таблице 4.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

7.6.3 Абсолютное расхождение между результатами испытаний диастазного числа, полученными в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, 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. Значение предела воспроизводимости R приведено в таблице 4.

7.6.4 Результат испытаний, округленный до первого десятичного знака, в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

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

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов определений диастазного числа по 7.6.2, ед. Готе;

$\pm \Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 7.7, ед. Готе.

7.7 Характеристика погрешности испытаний

Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, получаемых согласно данному методу, ± Δ, при доверительной вероятности P = 0,95, приведены в таблице 4.

8 Метод определения диастазного числа по Шаде

8.1 Отбор и подготовка пробы — по 6.1.

8.2 Сущность метода

Метод основан на колориметрическом определении времени окончания ферментативной реакции расщепления заданного количества субстрата по достижению раствором оптической плотности, соответствующей активности диастазы меда, и последующем вычислении диастазного числа.

Единица диастазной активности определяется количеством ферментов, содержащихся в 1 г меда и расщепляющих 0,01 г крахмала за 1 ч при температуре 40 °С.

Диастазное число характеризует активность амилолитических ферментов меда.

8.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

8.3.1 Спектрофотометр или колориметр фотоэлектрический, снабженный светофильтром с максимумом пропускания при длине волны 660 нм и кюветами с четырьмя прозрачными стенками и длиной оптического пути 10 мм.

8.3.2 Весы по ГОСТ Р 53228 высокого класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,1 мг.

8.3.3 Термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном значений от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

8.3.4 Термостат, водяная баня или другое устройство, позволяющее производить равномерный нагрев до температуры 40 °С.

8.3.5 pH-метр/иономер с пределами допускаемой основной абсолютной погрешности прибора при преобразовании измеренного значения ЭДС в pX (pH) ± 0,02 ед. pX (pH).

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

8.3.7 Секундомер механический СОСпр-26-2-000.

8.3.8 Шпатель лабораторный ШЛ.

8.3.9 Шкаф сушильный любого типа, обеспечивающий температуру нагрева до 250 °С с пределами абсолютной погрешности ± 2 °С.

8.3.10 Электроплитка по ГОСТ 14919.

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

8.3.12 Эксикатор по ГОСТ 25336.

8.3.13 Стаканы В 1-50 ТС по ГОСТ 25336.

8.3.14 Цилиндры мерные 1-100-2 по ГОСТ 1770.

8.3.15 Колбы мерные 1(2)-50(100,250,500)-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

8.3.16 Колбы конические Кн-1(2,3)-25(50,250)-29/32(34) ТС по ГОСТ 25336.

8.3.17 Пробирки П-2-20-14/23 ХС по ГОСТ 1770.

8.3.18 Стаканчики для взвешивания СН-45/13(60/14) по ГОСТ 25336.

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

8.3.20 Натрий хлористый по ГОСТ 4233, х.ч.

8.3.21 Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199, ч.д.а.

8.3.22 Кислота уксусная по ГОСТ 61, х.ч. ледяная.

8.3.23 Крахмал растворимый по ГОСТ 10163, ч.д.а.

8.3.24 Йод по ГОСТ 4159, ч.д.а., дважды возогнанный.

8.3.25 Калий йодистый по ГОСТ 4232, х.ч.

8.3.26 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

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

8.4 Подготовка к испытаниям

8.4.1 Приготовление раствора хлористого натрия

Хлористый натрий по ГОСТ 4233 массой (2,90 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

8.4.2 Приготовление ацетатного буферного раствора (pH = 5,3)

Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199 массой (43,50 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 250 $см^3$ по ГОСТ 1770. Добавляют 5 $см^3$ ледяной уксусной кислоты по ГОСТ 61 для установления значения pH раствора (5,3 ± 0,1) ед. pH по pH-метру по 8.3.5. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

8.4.3 Раствор крахмала

8.4.3.1 Высушивание крахмала

(3,0000 ± 0,0001) г растворимого крахмала по ГОСТ 10163 распределяют равномерным тонким слоем по дну бюксы по ГОСТ 25336, предварительно высушенной с крышкой до постоянной массы

при температуре (130 ± 2) °С (результат взвешивания в граммах записывают с точностью до четвертого десятичного знака). Крахмал сушат при температуре (130 ± 2) °С в течение 90 мин, охлаждают в эксикаторе по ГОСТ 25336 и взвешивают (результат взвешивания в граммах записывают с точностью до четвертого десятичного знака). Высушивание повторяют по 30 мин до достижения постоянной массы.

Примечание — Для приготовления раствора необходимо использовать только растворимый крахмал, образующий при процедуре калибровки (см. 8.4.7) прозрачный раствор голубого цвета с оптической плотностью в диапазоне от 0,745 до 0,770.

8.4.3.2 Приготовление раствора крахмала

Высушенный крахмал, подготовленный по 8.4.3.1, массой (2,000 ± 0,001) г помещают в коническую колбу вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 25336. Добавляют 90 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709, перемешивают. Содержимое колбы доводят до кипения и кипятят в течение 3 мин. Горячий раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770, быстро охлаждают под струей холодной воды до комнатной температуры. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Раствор следует использовать в день приготовления.

8.4.3.3 Приготовление рабочего раствора крахмала

В коническую колбу вместимостью 25 см^3 по ГОСТ 25336 помещают 10 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 и 5 см^3 раствора крахмала, приготовленного по 8.4.3.2. Смесь перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед проведением испытания.

8.4.4 Приготовление исходного раствора йода

Йод, дважды возогнанный, по ГОСТ 4159 массой (11,00 ± 0,01) г и калий йодистый по ГОСТ 4232 массой (22,00 ± 0,01) г растворяют в 30—40 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 500 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Раствор хранят в склянке из темного стекла при комнатной температуре не более 12 мес.

8.4.5 Приготовление рабочего раствора йода

Калий йодистый по ГОСТ 4232 массой (10,00 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 1770. Добавляют 1 см^3 исходного раствора йода, приготовленного по 8.4.4. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Свежеприготовленный раствор следует использовать в течение 24 ч, оберегая от попадания воздуха, быстро и плотно закрывать емкость после отбора необходимого количества раствора.

8.4.6 Калибровка раствора крахмала

8.4.6.1 При калибровке устанавливается объем дистиллированной воды, при добавлении которого получившийся йодно-крахмальный раствор имеет оптическую плотность от 0,745 до 0,770.

8.4.6.2 Необходимый объем дистиллированной воды должен быть от 10 до 25 см^3.

8.4.6.3 В четырнадцать конических колб вместимостью по 50 см^3 по ГОСТ 25336 помещают 12; 13; 14; 15; 16; 17; 18; 19; 20; 21; 22; 23; 24; 25 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 и по 5 см^3 рабочего раствора йода, приготовленного по 8.4.5. В первую колбу добавляют 0,5 см^3 рабочего раствора крахмала, приготовленного по 8.4.3.3, хорошо встряхивают. Затем быстро измеряют оптическую плотность раствора по отношению к дистиллированной воде на спектрофотометре по 8.3.1 при длине волны λ = 660 нм.

Последовательно таким же образом поступают с остальными колбами до тех пор, пока не будет найден раствор с оптической плотностью от 0,745 до 0,770. Соответствующий объем дистиллированной воды следует считать стандартным для всех последующих испытаний, проводимых с раствором крахмала.

Примечание — Качество и чистота крахмала могут быть различными и зависят от партии и производителя. Объем дистиллированной воды следует устанавливать для каждой упаковки реактива. Время между добавлением рабочего раствора крахмала и определением оптической плотности должно быть, по возможности, одинаковым как при калибровке раствора крахмала, так и при проведении испытания пробы меда.

8.4.7 Приготовление раствора меда

(10,00 ± 0,01) г меда, подготовленного по 6.1, растворяют в 15 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709 и 5 см^3 ацетатного буферного раствора, приготовленного по 8.4.2, в стакане вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336. Раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3 по

ГОСТ 1770, добавляют 3 см^3 раствора хлористого натрия, приготовленного по 8.4.1. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед проведением испытания.

8.5 Проведение испытаний

8.5.1 Испытание раствора пробы

8.5.1.1 В пробирку вместимостью 20 см^3 по ГОСТ 1770 помещают 10 см^3 раствора меда, приготовленного по 8.4.7. В другую пробирку — 10 см^3 раствора крахмала, приготовленного по 8.4.3.3. Обе пробирки закрывают пробками и помещают в термостат или на водяную баню по 8.3.4 с регулятором температуры, установленным на (40,0 ± 0,2) °С. Через 15 мин выдерживания при температуре (40.0 ± 0,1) °С из второй пробирки отбирают 5 см^3 раствора крахмала и переносят в первую пробирку с раствором меда. Реакционную смесь перемешивают и начинают отсчет времени по секундомеру по 8.3.7.

8.5.1.2 Через периодические промежутки времени Δt (первый раз через 5 мин) из пробирки отбирают по 0,5 см^3 реакционной смеси, приготовленной по 8.5.1.1, и быстро добавляют к 5 см^3 рабочего раствора йода, приготовленного по 8.4.5, в коническую колбу вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336. Добавляют дистиллированную воду объемом, установленным по 8.4.6.3, перемешивают.

8.5.1.3 Затем быстро измеряют оптическую плотность каждого раствора из 8.5.1.2 (D_t) по отношению к дистиллированной воде на спектрофотометре по 8.3.1 при длине волны λ = 660 нм.

8.5.1.4 Если измеренное значение оптической плотности раствора ниже 0,350, то проведение испытания начинают снова по 8.5.1 с новой порцией раствора меда, сократив время первого промежутка времени выдерживания.

Таблица 5

Значение оптической плотности раствора D_t	Следующий промежуток времени Δt, мин
От 0,456 до 0,523 включ.	От 2 до 5
Св. 0,523 до 0,658 включ.	От 5 до 10
Св. 0,658	10 и более

8.5.1.5 Периодические промежутки времени после первого отбора реакционной смеси следует отмерять таким образом, чтобы три-четыре измеренных значения оптической плотности растворов укладывались в диапазон значений от 0,155 до 0,456. Примерные рекомендуемые значения промежутков времени между отборами реакционной смеси приведены в таблице 5.

8.5.2 Испытание контрольного раствора

Определяют значение оптической плотности контрольного раствора (D_x) по 8.5.1, заменив объем раствора крахмала на соответствующий объем дистиллированной воды.

8.5.3 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

8.6 Обработка результатов

8.6.1 Значение оптической плотности каждого раствора D вычисляют по формуле

$$D = D_t - D_x, \quad (4)$$

где D_t — оптическая плотность каждого раствора пробы с определенным промежутком времени выдерживания;

D_x — соответствующая оптическая плотность каждого контрольного раствора.

8.6.2 Строят градуировочный график, откладывая на оси ординат значение оптической плотности каждого раствора (D), а на оси абсцисс — соответствующее этому значению время реакции (t) в минутах. Градуировочный график должен быть линейным в заданном диапазоне.

8.6.3 Для каждой пробы по градуировочному графику находят значение времени реакции (t_x), соответствующее значению оптической плотности D = 0,301.

8.6.4 Значение диастазного числа X, ед. Шаде, вычисляют по формуле

$$X = 300t_x^{-1}, \quad (5)$$

где 300 — коэффициент пересчета;

t_x — время реакции, найденное по 8.6.3, мин.

8.6.5 За результат испытаний принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений диастазного числа, полученных в условиях повторяемости, если абсолютное расхождение

между параллельными определениями не превышает предела повторяемости r по ГОСТ Р ИСО 5725-6. Значение предела повторяемости r приведено в таблице 6.

При превышении предела повторяемости r целесообразно провести дополнительное определение значения диастазного числа и получить еще один результат. Если при этом абсолютное расхождение ($X_{макс} - X_{мин}$) результатов трех определений не превышает значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов трех определений диастазного числа. Значение критического диапазона $CR_{0,95}(3)$ приведено в таблице 6.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

Таблица 6

Диапазон измерений диастазного числа X, ед. Шаде	Предел повторяемости r, при $P = 0,95$, ед. Шаде	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$, ед. Шаде	Предел воспроизводимости R, при $P = 0,95$, ед. Шаде	Границы абсолютной погрешности $\pm \Delta$, при $P = 0,95$, ед. Шаде
От 0 до 40,0 включ.	$0,05\overline{X}$	$0,06\overline{X}$	$0,15\overline{X}$	$0,11\overline{X}$

8.6.6 Абсолютное расхождение между результатами испытаний диастазного числа, полученными в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, 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. Значение предела воспроизводимости R приведено в таблице 6.

8.6.7 Результат испытаний, округленный до первого десятичного знака, в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

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

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов определений диастазного числа по 8.6.5, ед. Шаде;

$\pm \Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 8.7, ед. Шаде.

8.7 Характеристика погрешности испытаний

Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, получаемых согласно данному методу, $\pm \Delta$, при доверительной вероятности $P = 0,95$, приведены в таблице 6.

9 Метод определения диастазного числа по Фадебазу

9.1 Отбор и подготовка пробы — по 6.1.

9.2 Сущность метода

Метод основан на фотометрическом определении оптической плотности раствора меда, окрашенного в голубой цвет продуктами ферментативной реакции расщепления определенного количества субстрата (таблетки теста «Фадебаз» на амилазу), прямо пропорциональной активности диастазы меда, и последующем вычислении диастазного числа.

Единица диастазной активности определяется количеством ферментов, содержащихся в 1 г меда и расщепляющих 0,01 г крахмала за 1 ч при температуре 40 °С.

Диастазное число характеризует активность амилолитических ферментов меда.

9.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

9.3.1 Спектрофотометр или колориметр фотоэлектрический, снабженный светофильтром с максимумом пропускания при длине волны 620 нм и кюветами с четырьмя прозрачными стенками и длиной оптического пути 10 мм.

9.3.2 Весы по ГОСТ Р 53228 среднего класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,01 г.

9.3.3 Термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном значений от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

9.3.4 Термостат, водяная баня или другое устройство, позволяющее проводить равномерный нагрев до температуры 40 °С.

9.3.5 pH-метр/иономер с пределами допускаемой основной абсолютной погрешности прибора при преобразовании измеренного значения ЭДС в pX (pH) ± 0,02 ед. pX (pH).

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

9.3.7 Секундомер механический СОСпр-26-2-000.

9.3.8 Шпатель лабораторный ШЛ.

9.3.9 Микросмеситель ППЭ-3 по НД.

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

9.3.11 Пинцет по ГОСТ 21241.

9.3.12 Фильтры обеззоленные, марка «синяя лента».

9.3.13 Воронки В-56-80 ХС по ГОСТ 25336.

9.3.14 Стаканы В 1-50 ТС по ГОСТ 25336.

9.3.15 Колбы мерные 1(2)-100(1000)-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

9.3.16 Пробирки П2Т-10 ТС по ГОСТ 25336.

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

9.3.18 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х.ч.

9.3.19 Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199, ч.д.а.

9.3.20 Кислота уксусная по ГОСТ 61, х.ч. ледяная.

9.3.21 Таблетки теста «Фадебаз» на амилазу с содержанием крахмала 45,0 мг.

9.3.22 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

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

9.4 Подготовка к испытаниям

9.4.1 Приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрацией 0,5 моль/дм^3

Натрий гидроокись по ГОСТ 4328 массой (20,00 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

9.4.2 Приготовление ацетатного буферного раствора (pH = 5,2)

Натрий уксуснокислый 3-водный по ГОСТ 199 массой (13,60 ± 0,01) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6709 в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 по ГОСТ 1770. Добавляют 1—2 см^3 ледяной уксусной кислоты по ГОСТ 61 для установления значения pH раствора (5,2 ± 0,1) ед. pH по pH-метру по 9.3.5. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

9.4.3 Приготовление раствора меда

В стакан вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336 взвешивают навеску меда, подготовленного по 6.1, массой (1,00 ± 0,01) г. К навеске приливают 10 см^3 ацетатного буферного раствора, приготовленного по 9.4.2, мед тщательно растирают стеклянной палочкой и переносят жидкость в мерную колбу вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770. Обработку пробы повторяют два-три раза до полного растворения меда, затем стакан несколько раз обмывают небольшими порциями буферного раствора, которые также сливают в мерную колбу. Объем раствора в колбе доводят до метки буферным раствором, перемешивают.

Раствор готовят в течение 1 ч непосредственно перед проведением испытания.

9.5 Проведение испытаний

9.5.1 В одну пробирку вместимостью 10 см^3 по ГОСТ 25336 помещают 5 см^3 раствора меда, приготовленного по 9.4.3, в другую — 5 см^3 ацетатного буферного раствора, приготовленного по 9.4.2. Пробирки помещают на водяную баню или в термостат по 9.3.4 с регулятором температуры, установленным на температуру (40,0 ± 0,2) °С. Через 15 мин выдерживания при температуре (40,0 ± 0,1) °С в каждую из пробирок с помощью пинцета по ГОСТ 21241 добавляют по одной таблетке теста «Фадебаз» на амилазу по 9.3.21 и начинают отсчет времени по таймеру. Содержимое пробирок перемешивают на микросмесителе по 9.3.9 в течение 10 с. Пробирки с растворами (рабочим и холостым) снова помещают в термостат или на водяную баню. Через 30 мин выдерживания при температуре (40,0 ± 0,1) °С в каждую из пробирок добавляют по 1 см^3 раствора гидроокиси натрия, приготовленного по 9.4.1, смеси тщательно перемешивают на микросмесителе в течение 5 с. Растворы быстро фильтруют через бумаж-

ный фильтр по 9.3.12 и измеряют оптическую плотность фильтрата рабочего раствора (D_t) и холостого раствора (D_x) по отношению к дистиллированной воде на спектрофотометре по 9.3.1 при длине волны λ = 620 нм.

9.5.2 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

9.6 Обработка результатов

9.6.1 Значение оптической плотности раствора пробы D вычисляют по формуле

$$D = D_t - D_x, \quad (6)$$

где D_t — оптическая плотность рабочего раствора;

D_x — оптическая плотность холостого раствора.

9.6.2 Если найденное по формуле (6) значение $D > 1,0$, то для приготовления раствора меда по 9.4.3 следует использовать мерную колбу вместимостью 200 см^3 по ГОСТ 1770. Отмечают фактор разбавления раствора меда (Q).

9.6.3 Значение диастазного числа X, ед. Шаде, вычисляют по формуле

$$X = 28,20D \cdot Q + 2,64, \quad (7)$$

где 28,20 и 2,64 — коэффициенты линейной зависимости;

D — оптическая плотность пробы меда по 9.6.1;

Q — фактор разбавления раствора меда по 9.6.2.

9.6.4 За результат испытаний принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений диастазного числа, полученных в условиях повторяемости, если абсолютное расхождение между параллельными определениями не превышает предела повторяемости r по ГОСТ Р ИСО 5725-6. Значение предела повторяемости r приведено в таблице 7.

Таблица 7

Диапазон измерений диастазного числа X, ед. Шаде	Предел повторяемости r при P = 0,95, ед. Шаде	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$, ед. Шаде	Предел воспроизводимости R при P = 0,95, ед. Шаде	Границы абсолютной погрешности ± Δ при P = 0,95, ед Шаде
От 0 до 40,0 включ.	$0,05\overline{X}$	$0,06\overline{X}$	$0,12\overline{X}$	$0,15\overline{X}$

При превышении предела повторяемости r целесообразно провести дополнительное определение значения диастазного числа и получить еще один результат. Если при этом абсолютное расхождение ($X_{макс} - X_{мин}$) результатов трех определений не превышает значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов трех определений диастазного числа. Значение критического диапазона $CR_{0,95}(3)$ приведено в таблице 7.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

9.6.5 Абсолютное расхождение между результатами испытаний диастазного числа, полученными в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, 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. Значение предела воспроизводимости R приведено в таблице 7.

9.6.6 Результат испытаний, округленный до первого десятичного знака, в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

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

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов определений диастазного числа по 9.6.4, ед. Шаде;

± Δ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 9.7, ед. Шаде.

9.7 Характеристика погрешности испытаний

Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, получаемых согласно данному методу, ± Δ, при доверительной вероятности P = 0,95, приведены в таблице 7.

10 Метод определения нерастворимого вещества

10.1 Отбор и подготовка пробы — по 6.1.

10.2 Сущность метода

Метод основан на гравиметрическом определении массовой доли нерастворимых в воде веществ меда.

10.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

10.3.1 Весы по ГОСТ Р 53228 высокого класса точности с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,1 мг.

10.3.2 Термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном значений от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1 °С по ГОСТ 28498.

10.3.3 Термостат, водяная баня или другое устройство, позволяющее производить равномерный нагрев до температуры 80 °С.

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

10.3.5 Шкаф сушильный любого типа, обеспечивающий температуру нагрева до 250 °С с пределами абсолютной погрешности ± 2 °С.

10.3.6 Секундомер механический СОСпр-26-2-000.

10.3.7 Шпатель лабораторный ШЛ.

10.3.8 Тигель типа ТФ с фильтром класса ПОР-40 по ГОСТ 25336.

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

10.3.10 Эксикатор по ГОСТ 25336.

10.3.11 Стаканы В 1-500 ТС по ГОСТ 25336.

10.3.12 Цилиндры мерные 1-500-2 по ГОСТ 1770.

10.3.13 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

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

10.4 Приготовление раствора меда

В стакан вместимостью 500 см^3 по ГОСТ 25336 помещают навеску меда, подготовленного по 6.1, массой (20,0000 ± 0,0001) г. К навеске приливают 200 см^3 дистиллированной воды по ГОСТ 6709, нагретой до температуры не выше (80 ± 1) °С. Пробу тщательно растирают стеклянной палочкой до полного растворения меда, раствор перемешивают.

10.5 Проведение испытаний

10.5.1 Приготовленный по 10.4 раствор меда фильтруют через тигель по ГОСТ 25336, предварительно высушенный до постоянной массы при температуре (135 ± 2) °С (результат взвешивания в граммах записывают с точностью до четвертого десятичного знака). Остаток на фильтре промывают 200 см^3 дистиллированной воды, нагретой до температуры 40 °С — 60 °С, сушат в сушильном шкафу по 10.3.5 при температуре (135 ± 2) °С в течение 1 ч, охлаждают в эксикаторе по ГОСТ 25336 и взвешивают (результат взвешивания в граммах записывают с точностью до четвертого десятичного знака). Высушивание повторяют по 30 мин до достижения постоянной массы.

10.5.2 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

10.6 Обработка результатов

10.6.1 Значение массовой доли нерастворимых веществ меда X, %, вычисляют по формуле

$$X = 100(m_3 - m_2) \cdot m_1^{-1}, \quad (8)$$

где m_1 — масса навески меда, г;

m_2 — масса высушенного фильтра до проведения испытания, г;

m_3 — масса высушенного фильтра после проведения испытания, г.

10.6.2 За результат испытаний принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений массовой доли нерастворимых веществ меда, полученных в условиях повторяемости, если абсолютное расхождение между параллельными определениями не превышает предела повторяемости r по ГОСТ Р ИСО 5725-6. Значение предела повторяемости r приведено в таблице 8.

Таблица 8

Диапазон измерений массовой доли нерастворимых веществ меда 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, ± Δ, %
От 0 до 0,500 включ.	$0,07\overline{X}$	$0,08\overline{X}$	$0,14\overline{X}$	$0,10\overline{X}$

При превышении предела повторяемости r целесообразно провести дополнительное определение значения массовой доли нерастворимых веществ меда и получить еще один результат. Если при этом абсолютное расхождение ($X_{макс} - X_{мин}$) результатов трех определений не превышает значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов трех определений массовой доли нерастворимых веществ меда. Значение критического диапазона $CR_{0,95}(3)$ приведено в таблице 8.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

10.6.3 Абсолютное расхождение между результатами испытаний массовой доли нерастворимых веществ меда, полученными в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, 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. Значение предела воспроизводимости R приведено в таблице 8.

10.6.4 Результат испытаний, округленный до третьего 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 массовой доли нерастворимых веществ меда по 10.6.2, %;

$\pm\Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по 10.7, %.

10.7 Характеристика погрешности испытаний

Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, получаемых согласно данному методу, $\pm\Delta$, при доверительной вероятности P = 0,95, приведены в таблице 8.

УДК 638.16:006.354 С52 ОКС 67.180.10

Ключевые слова: мед, активность сахаразы, диастазное число, диастазное число по Шаде, диастазное число по Фадебазу, единица Готе, нерастворимое вещество, метрологические характеристики

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

Сдано в набор 11.12.2012. Подписано в печать 18.02.2013 Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10. Тираж 180 экз. Зак. 186

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.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