МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
33527—
2015**

МОЛОЧНЫЕ И МОЛОЧНЫЕ СОСТАВНЫЕ ПРОДУКТЫ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Определение массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Государственным бюджетным учреждением Ярославской области «Ярославский государственный институт качества сырья и пищевых продуктов» (ГБУ ЯО «ЯГИКСПП»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 12 ноября 2015 г. № 82-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30 ноября 2015 г. № 2083-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33527—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2016 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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, 2016

В Российской Федерации 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 Сущность метода 2
5 Отбор проб 2
6 Условия проведения измерений 2
7 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы 2
8 Подготовка к проведению измерений 3
9 Проведение измерений 6
10 Обработка результатов измерений 7
11 Проверка приемлемости результатов измерений 7
12 Оформление результатов определения 8
13 Требования, обеспечивающие безопасность 9
Приложение А (справочное) Электрофореграмма градуировочного раствора моно- и дисахаридов 10
Приложение Б (рекомендуемое) Рекомендуемый выбор параметров детектора 11
Библиография 12

МКС 67.100.10

Поправка к ГОСТ 33527—2015 Молочные и молочные составные продукты для детского питания. Определение массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан

(ИУС № 7 2019 г.)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МОЛОЧНЫЕ И МОЛОЧНЫЕ СОСТАВНЫЕ ПРОДУКТЫ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Определение массовой доли моно- и дисахаридов с использованием капиллярного электрофореза

Milk and dairy component products for baby food.
Determination of mono- and disugars mass concentration by method of capillary electrophoresis

Дата введения* — 2016—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молочные и молочные составные продукты для детского питания и устанавливает метод определения моно- и дисахаридов с использованием системы капиллярного электрофореза в диапазоне измерений от 0,5 % до 10,0 %.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

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

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

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

ГОСТ 12.1.010—76 Система стандартов безопасности труда. Взрывобезопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

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 OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

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 4328—77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-6—2003*** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 5833—75 Реактивы. Сахароза. Технические условия

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

---

* Дату введения стандарта в действие на территории государств устанавливают их национальные органы по стандартизации.

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019—2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

Издание официальное

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ ИСО/МЭК 17025—2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

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

ГОСТ 26809.1—2014 Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу. Часть 1. Молоко, молочные, молочные составные и молокосодержащие продукты

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 29245—91 Консервы молочные. Методы определения физических и органолептических показателей

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов на территории государства по соответствующему указателю стандартов, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (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 [1] и ГОСТ ИСО 5725-6, а также следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **капиллярный электрофорез**: Метод анализа сложных смесей, использующий электрокинетические явления – электромиграцию ионов и других заряженных частиц и электроосмос — для разделения и определения компонентов.

4 Сущность метода

Метод капиллярного электрофореза для определения массовых долей моно- и дисахаридов основан на разделении их под действием электрического поля в кварцевом капилляре в условиях, способствующих подавлению влияния посторонних веществ. Идентификацию и количественное определение анализируемых моно- и дисахаридов проводят косвенным методом, регистрируя оптическое поглощение при длине волны 230 нм.

5 Отбор проб

Отбор и подготовка проб к анализу — по ГОСТ 26809.1.

6 Условия проведения измерений

При выполнении измерений в лаборатории следует соблюдать следующие условия:

температура окружающего воздуха	(20 ± 5) °С;
относительная влажность воздуха	(55 ± 25) %;
атмосферное давление	(95 ± 10) кПа.

7 Средства измерения, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы

Система капиллярного электрофореза с источником высокого напряжения диапазоном от минус 30 до 30 кВ, оснащенная кварцевым капилляром (эффективная длина не менее 56 см, внутренний диаметр 50 мкм), системой поддержания рабочей температуры капилляра, фотометрическим или спектрофотометрическим детектором, позволяющим проводить измерение в области длин волн от 200 до 300 нм, и компьютером со специальным программным обеспечением для регистрации и обработки электрофореграмм.

Весы по ГОСТ OIML R 76-1, обеспечивающие точность взвешивания с пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,0005 г.

Термометр лабораторный с диапазоном измерений от 0 °С до 100 °С с ценой деления шкалы 0,5 °С или 1 °С по ГОСТ 28498.

Центрифуга лабораторная, обеспечивающая частоту вращения не менее 3000 об/мин.

Пробирки для центрифугирования пластиковые вместимостью 30 $см^3$.

Баня водяная с регулятором нагрева с погрешностью поддержания температуры ± 2 °С.

Ванна ультразвуковая лабораторная с рабочей частотой 35 кГц и рабочим диапазоном температур от 15 °С до 65 °С, погрешность поддержания температуры ± 1 °С.

Фильтры целлюлозно-ацетатные с размером диаметра пор 0,2 мкм, или бумажные обеззоленные фильтры типа «синяя лента», или шприцевые одноразовые фильтры с размером диаметра пор 0,2 мкм.

Емкости из полимерного материала с плотно завинчивающимися крышками вместимостью 100 $см^3$.

Воронки В-75-110 ХС по ГОСТ 25336.

Стаканы В-1-50(100) ТХС по ГОСТ 25336.

Колбы мерные 2(2а)-50(100)-2 по ГОСТ 1770.

Пипетки градуированные 1(2, 3)-1(1а, 2, 2а)-2-1(5, 10, 25) по ГОСТ 29227.

Цилиндры мерные 1-100-2 по ГОСТ 1770.

Емкости для жидких проб из полимерного материала (виалы) вместимостью 1 $см^3$, снабженные крышками с силиконовой мембраной.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Вода деионизованная электрическим сопротивлением не менее 18,2 мОм. Для получения деионизованной воды рекомендуется использовать специальную установку.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, х. ч.

Соляная кислота по ГОСТ 3118, х. ч.

Фруктоза массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.

D-глюкоза по ГОСТ 6038, х. ч.

Лактоза массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.

Сахароза по ГОСТ 5833, х. ч.

Кислота дипиколиновая массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.

МТАВ (миристилтриметиламмония бромид) массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.

Допускается применение других средств измерения и вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов по качеству не хуже вышеуказанных.

8 Подготовка к проведению измерений

8.1 Приготовление буферных и вспомогательных растворов

8.1.1 Раствор гидроокиси натрия молярной концентрации с (NaOH) = 0,5 моль/$дм^3$

(2,00 ± 0,01) г гидроокиси натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в 50 — 60 $см^3$ деионизованной воды и доводят объем раствора в колбе до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора гидроокиси натрия в емкости из полиэтилена с плотно завинчивающейся крышкой при комнатной температуре — не более 6 мес.

8.1.2 Раствор соляной кислоты молярной концентрации с (HCl) = 1,0 моль/$дм^3$

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ пипеткой вносят 8,3 $см^3$ соляной кислоты и доводят объем раствора в колбе до метки деонизованной водой.

Срок хранения раствора соляной кислоты в емкости из полиэтилена с плотно завинчивающейся крышкой при комнатной температуре — не более 6 мес.

Допускается приготовление раствора соляной кислоты молярной концентрации 1,0 моль/$дм^3$ из фиксанала.

Растворы по 8.1.1 и 8.1.2 предназначены только для промывок капилляра.

8.1.3 Раствор гидроокиси натрия молярной концентрации с (NaOH) = 1 моль/$дм^3$

(4,00 ± 0,01) г гидроокиси натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$, растворяют в 50 — 60 $см^3$ деионизованной воды и доводят объем раствора в колбе до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора гидроокиси натрия в емкости из полиэтилена с плотно завинчиваю-

щейся крышкой ри комнатной температуре — не более 6 мес.

8.1.4 Раствор гидроокиси натрия молярной концентрации с (NaOH) = 0,1 моль/дм^3

(0,40 ± 0,01) г гидроокиси натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, растворяют в 50 — 60 см^3 деионизованной воды и доводят объем раствора в колбе до метки деионизованной водой.

Срок хранения раствора гидроокиси натрия в емкости из полиэтилена с плотно завинчивающейся крышкой при комнатной температуре — не более 6 мес.

Допускается приготовление раствора гидроокиси натрия молярной концентрации 0,1 моль/дм^3 из фиксанала.

8.1.5 Рабочий буферный раствор

(0,334 ± 0,001) г дипиколиновой кислоты, (0,017 ± 0,001) ТТАВ помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 6 см^3 раствора гидроокиси натрия по 8.1.3 и 5 см^3 раствора гидроокиси натрия по 8.1.4. Затем доводят объем раствора в колбе до метки деионизованной водой, тщательно перемешивают до полного растворения.

Полученный рабочий буферный раствор фильтруют через ацетатно-целлюлозный фильтр или фильтр-насадку с размером диаметра пор 0,2 мкм, отбросив первые порции фильтрата 1–2 см^3 и дегазируют на ультразвуковой ванне в течение 10 мин.

Срок хранения рабочего буферного раствора в емкости из полиэтилена с плотно завинчивающейся крышкой при комнатной температуре — не более 3 мес.

8.2 Приготовление градуировочных растворов

Основной градуировочный раствор смеси моно- и дисахаридов массовой концентрации 5,0 г/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят: фруктозу — (0,500 ± 0,001) г, D-глюкозу — (0,500 ± 0,001) г (или моногидрат глюкозы — (0,550 ± 0,001) г), лактозу — (0,500 ± 0,001) г (или моногидрат лактозы — (0,526 ± 0,001) г), сахарозу — (0,500 ± 0,001) г и добавляют 50–70 см^3 деонизованной воды, растворяют содержимое и доводят объем раствора водой до метки.

Градуировочные растворы (массовой концентрации 0,5; 1,0; 2,5; 4,0 г/дм^3) готовят из основного градуировочного раствора. Для этого вносят в 4 мерные колбы с пришлифованными пробками вместимостью 50 см^3 пипетками 5, 10, 25, 40 см^3 основного градуировочного раствора соответственно. Затем доводят объемы растворов в колбах до метки деионизованной водой, закрывают колбы пробками и тщательно перемешивают.

Градуировочные растворы массовой концентрации 0,5; 1,0; 2,5; 4,0; 5,0 г/дм^3 фильтруют через ацетатно-целлюлозный фильтр, затем дегазируют на ультразвуковой бане в течение 5 мин для удаления растворенного воздуха.

Градуировочные растворы готовят непосредственно перед проведением градуировки.

8.3 Подготовка системы капиллярного электрофореза к измерениям

Систему капиллярного электрофореза подготавливают к работе в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации.

Рекомендуемые условия проведения анализа приведены в таблице 1.

На электрофореграмме определяемые моно- и дисахариды расположены в следующей последовательности: фруктоза, глюкоза, лактоза, сахароза (см. приложение А, рисунок А.1).

Таблица 1 — Условия проведения анализа методом капиллярного электрофореза

Параметр	Определение фруктозы, глюкозы, лактозы и сахарозы
Длина волны, нм	Косвенное детектирование, 230 (см. приложение Б)
Ввод пробы	Гидродинамический (давление 50 мбар, время 3 с)
Режим анализа	Напряжение минус 25 кВ, время 14 мин
Рабочий буферный раствор	По 8.1.5
Температура, °С	20

8.4 Подготовка капилляра к работе

8.4.1 Подготовка нового капилляра к работе

Подготовку нового капилляра к работе проводят в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации системы капиллярного электрофореза.

8.4.2 Ежедневная подготовка капилляра к работе

Перед работой капилляр промывают последовательно по 10 мин деионизованной водой, раствором гидроокиси натрия по 8.1.1, деионизованной водой и рабочим буферным раствором по 8.1.5. Затем капилляр промывают рабочим буферным раствором при заданном рабочем напряжении в течение 2 мин и проводят контроль стабильности градуировочной характеристики по 8.6.

Между анализами проб капилляр промывают рабочим буферным раствором в течение 5 мин. После завершения анализа проб капилляр промывают 10 мин деионизованной водой и оставляют концы капилляра погруженными в виалы с деионизованной водой.

Рекомендуется заменять рабочий буферный раствор в виалах через каждые пять измерений.

Примечание — при анализе проб на электрофореграмме возможно наблюдать дрейф базовой линии, появление ступеней и смещение времени миграции компонентов, что связано с возможным мешающим влиянием матричных компонентов или примесей. В этом случае рекомендуется:

- увеличивать время промывки рабочим буферным раствором между анализами проб;
- проводить короткую промывку под напряжением рабочим буферным раствором;
- при появлении ступеней заменять свежими порциями рабочий буферный раствор в виалах на входе и выходе капилляра;
- промывать капилляр деионизованной водой, раствором гидроокиси натрия, деионизованной водой по 2 мин и рабочим буферным раствором 5 мин.

8.4.3 Хранение капилляра

При перерывах в работе не более одной недели капилляр промывают в течение 10 мин деионизованной водой и оставляют концы капилляра погруженными в виалы с деионизованной водой.

При перерывах в работе на более длительный срок капилляр последовательно промывают по 5 мин деионизованной водой, раствором гидроокиси натрия по 8.1.1, деионизованной водой, раствором соляной кислоты по 8.1.2 и деионизованной водой — 10 минут, затем высушивают и оставляют в сухом состоянии. После сухого хранения для восстановления работоспособности капилляр готовят к работе как новый капилляр по 8.4.1.

8.5 Установление градуировочной характеристики

Установление градуировочной характеристики проводят, используя градуировочные растворы, приготовленные по 8.2, в соответствии с параметрами, указанными в таблице 1. Регистрируют не менее двух электрофореграмм каждого градуировочного раствора, проверяют правильность автоматической разметки пиков и при необходимости корректируют ее. Капилляр после каждого анализа проб промывают по 8.4.2. На основе полученных данных строят градуировочные зависимости в соответствии с процедурой построения градуировочных графиков, предусмотренной инструкцией пользователя программы обработки данных, и рассчитывают величины градуировочных коэффициентов корреляции методом наименьших квадратов и их среднеквадратичные отклонения (СКО). Построение градуировочной зависимости считают успешным, если величины СКО не превышают 5 % и коэффициент корреляции — не менее 0,99.

При несоблюдении вышеуказанных требований находят причины несоответствия и устраняют их, после чего установление градуировочной характеристики проводят повторно.

Установление градуировочной характеристики обязательно проводят заново в следующих случаях:

- при замене капилляра;
- после проведения ремонта или длительного простоя системы капиллярного электрофореза;
- при замене хотя бы одного из компонентов рабочего буферного раствора;
- при изменении одного из условий проведения анализа (температуры, рабочего напряжения, времени или давления при вводе пробы);
- при неудовлетворительных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.

8.6 Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят после промывки капилляра по 8.4.2, используя в качестве контрольных образцов градуировочные растворы, содержащие определяемые компоненты массовой концентрации, соответствующей границам диапазона градуировочной характеристики по 8.2.

Регистрируют не менее двух электрофореграмм в тех же условиях, что и при проведении анализа проб (см. таблицу 1), проводят автоматическую идентификацию компонентов, установив ширину

окна идентификации 5 %, и при необходимости вносят коррекцию разметки пиков. Используя градуировочную характеристику по 8.5, устанавливают значения массовой концентрации компонентов в контрольном образце для каждого ввода C_i, г/дм^3.

Градуировочная зависимость признается стабильной, если выполняется условие

$$|C_i - C_{ki}| \le 0{,}01 \cdot G \cdot C_{ki}, \quad (1)$$

где C_i — измеренное значение массовой концентрации i-го компонента в контрольном растворе, г/дм^3;

C_{ki} — фактическое значение массовой концентрации i-го компонента в контрольном растворе, используемом для контроля стабильности градуировочной характеристики, г/дм^3;

G — норматив контроля стабильности градуировочной характеристики, %, рассчитываемый по формуле

$$G = 0{,}8 \cdot \delta, \quad (2)$$

где δ — доверительные границы допускаемой относительной погрешности, % (см. таблицу 2).

Если условие (1) не выполняется, то промывают капилляр по 8.4, процедуру контроля повторяют и при повторном получении неудовлетворительного результата установление градуировочной характеристики повторяют заново.

8.7 Подготовка проб

8.7.1 Жидкие и пастообразные продукты

(3,00 ± 0,01) г пробы продукта, подготовленной по разделу 5, помещают в мерную колбу вместимостью 50 см^3. Объем раствора доводят деионизованной водой до метки и перемешивают. Экстракцию моно- и дисахаридов проводят при помощи ультразвуковой ванны в течение 15 мин при температуре (40 ± 5) °С. Экстракт переносят в центрифужные стаканы и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 мин. Осадок отбрасывают, а супернатант фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 5 см^3 фильтрата. Фильтрат далее анализируют согласно разделу 9.

Допускается коррекция массы пробы продукта в ту или иную сторону в зависимости от предполагаемого содержания определяемых моно- и дисахаридов.

8.7.2 Сухие продукты

Сухие молочные продукты предварительно восстанавливают в соответствии с ГОСТ 29245 (раздел 3) и затем пробоподготовку проводят по 8.7.1.

9 Проведение измерений

Промывают капилляр в соответствии с 8.4.

Подготовленную по 8.7 анализируемую пробу продукта помещают в устройство ввода проб системы капиллярного электрофореза и проводят измерения в соответствии с руководством (инструкцией) по эксплуатации при рабочих параметрах, предусмотренных таблицей 1, регистрируя не менее двух электрофореграмм в условиях повторяемости по 11.1.

На электрофореграммах проверяют правильность автоматической разметки пиков с использованием программного обеспечения (при необходимости вносят коррективы) и проводят идентификацию определяемых компонентов в анализируемой пробе продукта по совпадению времен миграции компонентов в пробе при построении градуировочной зависимости. Затем определяют площади пиков, соответствующие идентифицированным компонентам в пробе.

При возникновении разногласий при идентификации компонентов используют метод добавок. Увеличение высоты соответствующего пика подтверждает правильность идентификации. Добавка должна составлять 50 % — 150 % от массовой концентрации компонента в пробе.

Если при анализе пробы компоненты обнаружены, то определяют их массовую концентрацию для каждой электрофореграммы по установленным градуировочным зависимостям.

Если измеренные значения массовой концентрации одного или нескольких компонентов в анализируемой пробе превышают верхние границы диапазона градуировочной характеристики, то пробу разбавляют деионизованной водой так, чтобы массовая концентрация компонентов в полученном растворе находилась в середине линейного диапазона измеряемых значений массовой концентрации, и повторяют регистрацию электрофореграмм.

Коэффициент разбавления анализируемой пробы Q_1 вычисляют по формуле

$$Q_1 = \frac{Vk}{Va}, \quad (3)$$

где V_k — объем разбавленной пробы, см^3;
V_a — объем аликвотной порции пробы, взятой для разбавления, см^3.

Примечание — Установлено, что количественному определению моно- и дисахаридов не мешают аминокислоты, анионы, органические кислоты и другие вещества, входящие в состав молочных продуктов.

10 Обработка результатов измерений

Массовую долю конкретного компонента (моно- и дисахарида) в анализируемой пробе X_i, %, вычисляют по формуле

$$X_i = \frac{V_{экст} \cdot Ci \cdot 100}{m \cdot 1000} \cdot Q, \quad (4)$$

где $V_{экст}$ — объем пробы экстракта для анализа, см^3;
C_i — массовая концентрация *i*-сахарида, определенная по градуировочной зависимости, г/дм^3;
Q — коэффициент разбавления анализируемой пробы;
m — масса анализируемой пробы по 8.7, г;
1000 — коэффициент согласования размерности единиц;
100 — коэффициент пересчета в проценты.

Вычисления выполняют до второго десятичного знака с последующим округлением результатов до первого десятичного знака.

При анализе каждой анализируемой пробы проводят два параллельных определения. За окончательный результат определения принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений при выполнении условия приемлемости по 11.1.

Контроль показателей качества результатов измерений в лаборатории предусматривает проведение контроля стабильности результатов измерений с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6 или [2].

Контроль стабильности результатов измерений в лаборатории осуществляют, используя метод контроля стабильности стандартного отклонения промежуточной прецизионности и метод контроля стабильности показателя правильности по ГОСТ ИСО 5725-6 с применением контрольных карт Шухарта.

При неудовлетворительных результатах контроля, например при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют и устраняют причины этих отклонений.

Периодичность и процедуры контроля стабильности результатов измерений проводят в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025.

11 Проверка приемлемости результатов измерений

11.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов определений массовой доли моно- и дисахаридов, полученных в условиях повторяемости (два параллельных определения, в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования, в пределах короткого промежутка времени), проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6.

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии:

$$|X_1 - X_2| \le 0{,}01 \cdot r \cdot \overline{X}, \quad (5)$$

где X_1, X_2 — результаты первого и второго параллельных определений, полученных в условиях повторяемости, соответственно, % (раздел 10);
$\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений, %;
r — предел повторяемости, % (см. таблицу 2).

Если данное условие не выполнено, то проводят повторные определения и проверку приемлемости результатов определений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6.

При повторном невыполнении данного условия выясняют причины, приводящие к неудовлетво-

рительным результатам анализа.

11.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов определений массовой доли моно- и дисахаридов в анализируемой пробе, полученных в условиях воспроизводимости (в двух лабораториях, разными операторами, с использованием различного оборудования), проводят с учетом требований ГОСТ ИСО 5725-6.

Результаты определений, выполненных в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми при условии:

$$|X'_1 - X'_2| \le 0{,}01 \cdot R \cdot \overline{X}', \quad (6)$$

где X'_1, X'_2 — результаты первого и второго определений, полученные в условиях воспроизводимости, соответственно, %;

$\overline{X}'$ — среднеарифметическое значение результатов двух определений, полученных в условиях воспроизводимости, %;

R — предел воспроизводимости, % (см. таблицу 2).

11.3 Метрологические характеристики

Метод обеспечивает получение результатов измерения с метрологическими характеристиками при доверительной вероятности $P = 0{,}95$, не превышающими значений, приведенных в таблице 2.

Таблица 2 — Метрологические характеристики

Предел повторяемости $r_{отн}$, %	Предел воспроизводимости $R_{отн}$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности* при $P = 0{,}95$) $\pm \delta$, %
14	24	18
* Установленные числовые значения границ относительной погрешности соответствуют числовым значениям расширенной неопределенности измерений $U_{отн}$ (в относительных единицах) при коэффициенте охвата $k_{ох} = 2$.		

12 Оформление результатов определения

Результаты определения регистрируют в протоколе испытаний, который оформляют в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО/МЭК 17025, при этом протокол испытаний должен содержать ссылку на настоящий стандарт с указанием метода определения.

Результаты определений содержания моно- и дисахаридов представляют в виде (при подтвержденном в лаборатории соответствии аналитической процедуры требованиям настоящего стандарта)

$$(\overline{X} \pm U), \%, \quad (7)$$

где $\overline{X}$ — результат измерений, полученный в соответствии с процедурами по разделу 10, %;

U — расширенная неопределенность измерений при коэффициенте охвата $k = 2$, %, рассчитываемая по формуле

$$U = 0{,}01 \cdot U_{отн} \cdot \overline{X}, \quad (8)$$

где $U_{отн}$ — расширенная неопределенность измерений (в относительных единицах) при коэффициенте охвата $k = 2$ по таблице 2, %.

Числовое значение результата определения должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение расширенной неопределенности измерений.

Допускается результат измерений представлять в виде

$$(\overline{X} \pm U_{лаб}), \%. \quad (9)$$

При условии $U_{лаб} < U$, где $U_{лаб}$ – значение расширенной неопределенности измерений, установленное при реализации настоящего метода в лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений в лаборатории.

13 Требования, обеспечивающие безопасность

13.1 Условия безопасного проведения работ

При работе на системе капиллярного электрофореза следует соблюдать следующие требования:

- помещение, в котором проводят измерения, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021. Работу с реактивами необходимо проводить в вытяжном шкафу. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных требованиями ГОСТ 12.1.005;
- требования электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации системы капиллярного электрофореза;
- требования взрывобезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.010;
- помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожаробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004, ГОСТ 12.1.018 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с требованиями ГОСТ 12.4.009;
- при работе с концентрированными кислотами и щелочами необходимо использовать резиновые перчатки. При выполнении анализов следует соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами согласно ГОСТ 12.1.007.

13.2 Требования к квалификации оператора

К работе на системе капиллярного электрофореза допускаются лица, имеющие квалификацию инженер, техник или лаборант, владеющие навыками проведения анализа методом капиллярного электрофореза и изучившие инструкцию по эксплуатации применяемой аппаратуры.

Приложение А
(справочное)

Электрофореграмма градуировочного раствора моно- и дисахаридов

А.1 Электрофореграмма градуировочного раствора моно- и дисахаридов приведена на рисунке А.1.

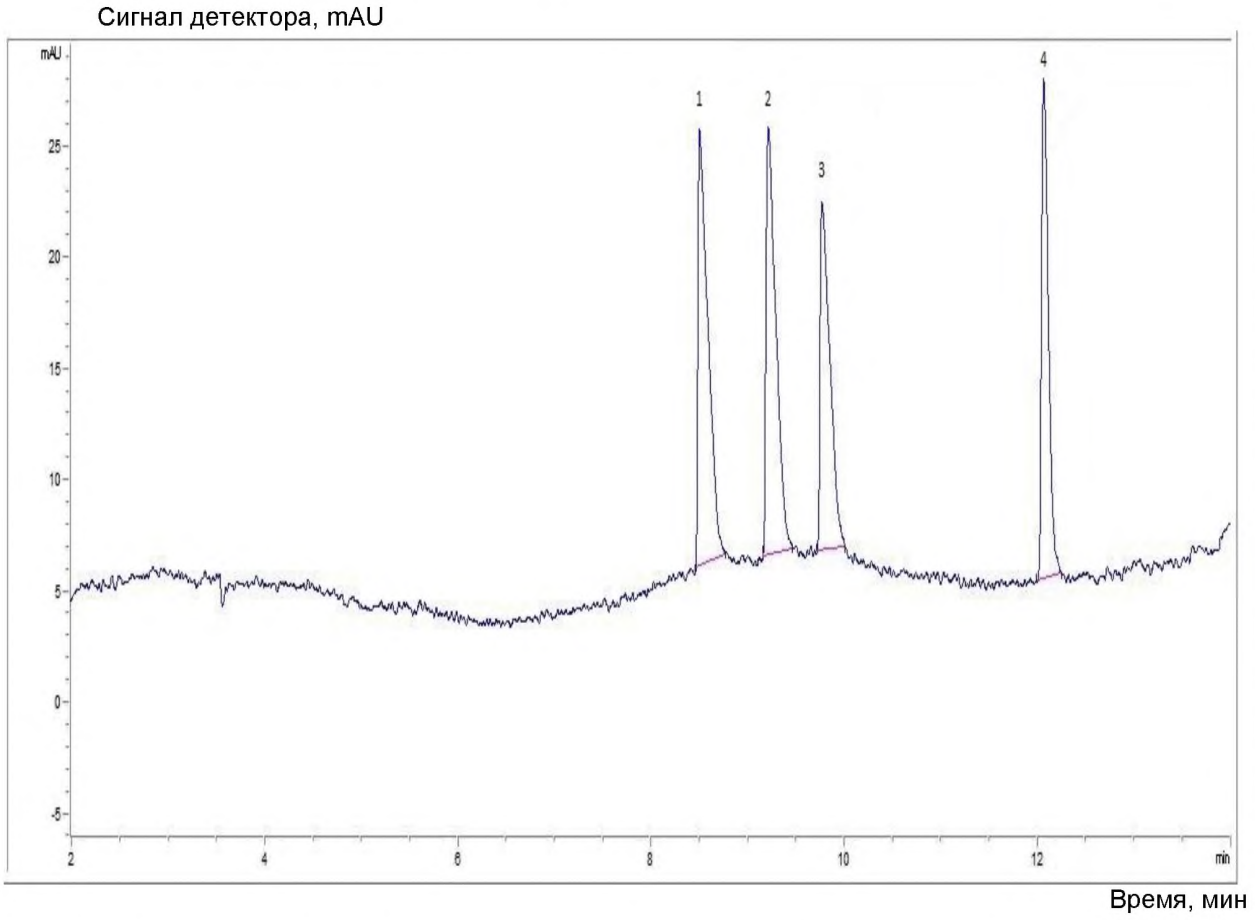


Рисунок А.1 — Электрофореграмма, полученная при разделении градуировочного раствора моно- и дисахаридов массовой концентрации 1 г/дм^3 (1-фруктоза, 2-глюкоза, 3-лактоза, 4-сахароза) по 8.2 в условиях, приведенных в 8.3

Приложение Б
(рекомендуемое)

Рекомендуемый выбор параметров детектора

Для каждого сигнала программным обеспечением предусмотрено указание длины волны и соответствующей ей ширины полосы, используемых для измерения; контрольной длины волны и соответствующей ей ширины полосы.

Для снижения минимума уровня шума на базовой линии рекомендуется проводить анализ без пользования контрольной длиной волны. Однако контрольные длины волн могут помочь скомпенсировать постепенные уходы сигналов. Поскольку в качестве контрольных называются более высокие длины волн, уровень шума на базовой линии возрастает при пользовании такими длинами волн. Поэтому рекомендуется регистрировать два сигнала на той же самой длине волны: один с использованием контрольной длины волны, другой — без контрольной длины волны.

Для данного метода рекомендуется установить длину контрольной волны — 350 нм.

Библиография

[1] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», принятый Решением Совета Евразийской Экономической комиссии № 67 от 9 октября 2013 г.
[2] РМГ 61—2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки

УДК 637.147.2:543:06:006.354 МКС 67.100.10

Ключевые слова: продукты молочные составные, продукты молочные для детского питания, капиллярный электрофорез, сущность метода, моно- и дисахариды, фруктоза, глюкоза, лактоза, сахароза, отбор проб, буферный раствор, электрофореграмма, проверка приемлемости результатов измерений

Редактор *М.Е. Никулина*
Корректор *Л.С. Лысенко*
Компьютерная верстка *А.В. Балвановича*

Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,86. Тираж 48 экз. Зак. 117.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru