ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 54947— 2012

МЕД

Метод определения пролина

DIN 10754:2002-08
(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 «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 31 июля 2012 г. № 209-ст

4 Настоящий стандарт разработан с учетом основных нормативных положений немецкого национального стандарта DIN 10754:2002-08 «Анализ меда. Определение содержания пролина» (DIN 10754:2002-08 «Analysis of honey. Determination of proline content», NEQ) (аутентичный перевод, рег. № 5016/DIN от 21.10.2010 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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МЕД

Метод определения пролина

Honey. Method for determination of proline content

Дата введения — 2013—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на мед и устанавливает метод определения массовой доли пролина в диапазоне измерений от 170,00 до 770,00 мг/кг.

Требования к контролируемому показателю установлены в ГОСТ Р 52451, ГОСТ Р 54644.

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

ГОСТ Р 54644—2001 Мед натуральный. 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 5848—73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 6709—79 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9805—84 Спирт изопропиловый. Технические условия

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

Издание официальное

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

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, 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 Отбор и подготовка пробы

Пробу меда массой не менее 200 г отбирают по ГОСТ Р 54644.

Закристаллизованный мед размягчают в термостате или на термостатируемой водяной бане по 8.3 при температуре не выше 40 °С. Пробу охлаждают до комнатной температуры.

Мед с примесями процеживают при комнатной температуре через сито по 8.5. Закристаллизованный мед продавливают через сито шпателем по 8.6. Крупные механические частицы удаляют вручную.

Сотовый мед (без пороговых 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 в мед попало меньше воздуха.

7 Сущность метода

Метод основан на растворении меда в воде, проведении реакции пролина с нингидрином с образованием окрашенного комплексного соединения, измерении оптической плотности раствора пробы и раствора сравнения и последующем вычислении массовой доли пролина.

8 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

8.1 Спектрофотометр, снабженный светофильтром с максимумом пропускания в области длин волн от 500 до 520 нм и кюветами с четырьмя прозрачными стенками и длиной оптического пути 10 мм.

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

8.3 Термостат, водяная баня или другое устройство, позволяющее производить равномерный нагрев до температуры 100 °С.

8.4 Секундомер механический СОСпр-26-2-000.

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

8.6 Шпатель лабораторный ШЛ.

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

8.8 Колбы мерные 1(2)-25(50, 100)-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

8.9 Колбы конические Кн-1(2, 3)-100-14/23(29/32) ТС по ГОСТ 25336.

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

8.11 Цилиндры 3-25-2 по ГОСТ 1770.

8.12 Стаканы В-1-50 ТС по ГОСТ 25336.

8.13 Пробирки П-2-20(25)-14/23 ХС по ГОСТ 1770.

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

8.15 Кислота муравьиная по ГОСТ 5848, ч. д. а.

8.16 Нингидрин 1-водный, х. ч., раствор в монометиловом эфире этиленгликоля массовой концентрацией 30,0 г/дм^3.

8.17 L-пролин с содержанием основного вещества не менее 99,0 %.

8.18 Изопропиловый спирт по ГОСТ 9805, марки «абсолютированный».

8.19 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.

9 Подготовка к испытаниям

9.1 Приготовление исходного раствора L-пролина

L-пролин по 8.17 массой (0,040 ± 0,001) г растворяют в дистиллированной воде по ГОСТ 6907 в мерной колбе вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой по 8.19, перемешивают.

Раствор при необходимости хранят при температуре 4 °С в течение 6 мес.

9.2 Приготовление стандартного раствора L-пролина

Исходный раствор L-пролина, приготовленный по 9.1, объемом 1 см^3 помещают в мерную колбу вместимостью 25 см^3 по ГОСТ 1770. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой по 8.19, перемешивают.

Раствор при необходимости хранят при температуре 4 °С в течение 1 мес.

9.3 Приготовление 50 %-ного изопропилового спирта

К 25 см^3 изопропилового спирта по ГОСТ 9805 добавляют 25 см^3 дистиллированной воды по 8.19 в конической колбе вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 25336, перемешивают.

Раствор хранят при комнатной температуре в течение 6 мес.

9.4 Приготовление раствора пробы

В стакан вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 25336 взвешивают навеску меда массой (5,000 ± 0,001) г, подготовленного по разделу 6. К навеске приливают 10—20 см^3 дистиллированной воды по 8.19, 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 воды по 8.19, которые также сливают в мерную колбу, при этом объем жидкости не должен превышать 2/3 объема колбы. Объем раствора в колбе доводят до метки водой по 8.19, перемешивают.

10 Проведение испытаний

10.1 В три пробирки по 8.13 вносят 0,5 см^3 раствора пробы, приготовленного по 9.4, 0,5 см^3 дистиллированной воды по 8.19 (холостая проба), 0,5 см^3 стандартного раствора L-пролина, приготовленного по 9.2, соответственно. В каждую пробирку добавляют по 1 см^3 раствора нингидрина по 8.16 и по 1 см^3 муравьиной кислоты по ГОСТ 5848. Содержимое пробирок тщательно перемешивают после до-

бавления каждого реактива. Пробирки плотно закрывают и помещают на кипящую водяную баню по 8.3. Уровень воды в бане должен быть выше уровня жидкости в пробирках. Необходимо следить за тем, чтобы вода в бане постоянно кипела.

Пробирки с жидкостями выдерживают на кипящей водяной бане ровно в течение 15 мин, затем переносят в нагретую до температуры (70,0 ± 0,5) °С водяную баню по 8.3. В каждую из пробирок добавляют по 5 см^3 50 %-ного изопропилового спирта, приготовленного по 9.3, и снова быстро закрывают пробками. Пробирки с жидкостями выдерживают на водяной бане ровно в течении е 10 мин, после чего охлаждают при комнатной температуре ровно в течение 45 мин.

Делают не менее трех измерений максимальной оптической плотности испытуемого ($D_р$)и стандартного (D_s) растворов по отношению к холостой пробе на спектрофотометре по 8.1 в области длин волн от 500 до 520 нм.

10.2 Вычислят среднеарифметические значения показаний спектрофотомера $\overline{D}_р$ и $\overline{D}_s$ при условии, если абсолютные расхождения ($D_{р,\,макс} - D_{р,\,мин}$), ($D_{s,\,макс} - D_{s,\,мин}$) результатов трех определений значений оптической плотности не превосходят 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 0,004 до 0,018 включ.	0,02 $\overline{D}$

10.3 При анализе каждой пробы выполняют два параллельных определения.

11 Обработка и представление результатов испытаний

11.1 Значение массовой доли пролина X, мг/кг, вычисляют по формуле

$$X = 80 \cdot \overline{D}_р \cdot m_1 \cdot [\overline{D}_s]^{-1} \cdot m_2^{-1}, \quad (1)$$

где 80 — фактор разведения в расчете на 1 кг меда;

$\overline{D}_р$ — среднеарифметическое значение оптической плотности испытуемого раствора по 10.2;

m_1 = 40 — масса пролина в исходном растворе, мг;

$\overline{D}_s$ — среднеарифметическое значение оптической плотности стандартного раствора пролина по 10.2;

m_2 = 5,0 — анализируемая проба меда, г.

11.2 За результаты испытаний принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений массовой доли пролина, 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 2.

При превышении предела повторяемости r целесообразно провести дополнительное определение значения массовой доли пролина 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 пролина. Значение критического диапазона $CR_{0,95}(3)$ приведено в таблице 2.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

Таблица 2

Диапазон измерений массовой доли пролина X, мг/кг	Предел повторяемости при P = 0,95, r, мг/кг	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$, мг/кг	Предел воспроизводимости при P = 0,95, R, мг/кг	Границы абсолютной погрешности при P = 0,95, ± Δ, мг/кг
От 170,00 до 770,00 включ.	0,06 $\overline{X}$	0,09 $\overline{X}$	0,12 $\overline{X}$	0,09 $\overline{X}$

11.3 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. Значение предела воспроизводимости R приведено в таблице 2.

11.4 Результат испытаний, округленный до второго десятичного знака, в документах, предусматривающих их использование, представляют в виде:

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

где $\overline{X}$ — среднеарифметическое значение результатов определений массовой доли пролина по 11.2, мг/кг;

$\pm\,\Delta$ — границы абсолютной погрешности результатов определений по разделу 12, мг/кг.

12 Характеристика погрешности испытаний

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

УДК 638.16:006.354 ОКС 67.180.10 С52

Ключевые слова: мед, пролин, оптическая плотность, метрологические характеристики

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 08.07.2013. Подписано в печать 15.07.2013. Формат 60x84 1/8. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 0,93.
Уч.-изд. л. 0,65. Тираж 163 экз. Зак. 771.

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