ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 53592— 2009 (ИСО 9874:2006)

МОЛОКО

Спектрофотометрический метод определения массовой доли общего фосфора

ИСО 9874:2006
Milk — Determination of total phosphorus content — Method using molecular absorption spectrometry
(MOD)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН ОАО «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» и Государственным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» на основе аутентичного перевода стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 335 «Методы испытаний агропромышленной продукции на безопасность»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 декабря 2009 г. № 903-ст

4 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту ИСО 9874:2006 «Молоко. Определение содержания общего фосфора. Метод с использованием молекулярной абсорбционной спектрометрии» (ISO 9874:2006 «Milk — Determination of total phosphorus content — Method using molecular absorption spectrometry»).

При этом уточняющие отдельные слова, фразы, абзацы, показатели и значения показателей в тексте стандарта для учета потребностей национальной экономики Российской Федерации и особенностей российской национальной стандартизации выделены в тексте стандарта курсивом.

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ Р 1.5* (пункт 3.5).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать сведения о соответствии международных стандартов национальным стандартам Российской Федерации, использованным в настоящем стандарте в качестве нормативных ссылок, указанные в приложении А

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2011 г.

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

---

* В части раздела 8 и приложений Ж, И, К действует ГОСТ Р 1.7—2008.

© Стандартинформ, 2010
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2011

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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

МОЛОКО

Спектрофотометрический метод определения массовой доли общего фосфора

Milk. Spectrophotometric method for determination of total phosphorus content

Дата введения — 2011—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает спектрофотометрический метод определения массовой доли общего фосфора в молоке.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

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

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 4198—75 Реактивы. Калий фосфорнокислый однозамещенный. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 10929—76 Реактивы. Водорода пероксид. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 19908—90 Тигли, чаши, стаканы, колбы, воронки, пробирки и наконечники из прозрачного кварцевого стекла. Общие технические условия

ГОСТ 24104—2001* Весы лабораторные. Общие технические требования

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

ГОСТ 26809—86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

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

ГОСТ 29169–91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

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 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.

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **массовая доля общего фосфора:** Массовая доля общего фосфора, определяемая методом, установленным в настоящем стандарте и выраженная в процентах.

4 *Сущность* метода

Метод основан на полном разрушении органических веществ пробы молока, обработанной серной кислотой и пероксидом водорода (метод мокрого озоления) или под действием высокой температуры (метод сухого озоления), добавлении раствора молибдата натрия в аскорбиновой кислоте, спектрофотометрическом измерении оптической плотности образовавшегося молибденового голубого при длине волны 820 нм и определении массовой доли общего фосфора по градуировочному графику.

5 Реактивы

Используют реактивы только признанного аналитического качества, если не оговорено иначе. Используемая вода должна быть дистиллированной или деионизированной и не должна содержать соединений фосфора.

5.1 Кислота серная концентрированная по ГОСТ 4204, ρ_{20} = 1,84 г/см^3, *c* (H_2SO_4) = 18 моль/дм^3.

5.2 Раствор серной кислоты *c* (H_2SO_4) = 5 моль/ дм^3

В колбу к 722 см^3 воды добавляют осторожно при постоянном перемешивании 278 см^3 концентрированной серной кислоты (по 5.1).

5.3 Кислота соляная разбавленная *c* (HCl) = 1 моль/дм^3 (применяют при сухом озолении)

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 осторожно наливают 83 см^3 концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118 (ρ_{20} = 1,19 г/см^3) и разбавляют водой до 1000 см^3.

5.4 Раствор пероксида водорода по ГОСТ 10929 *c* (H_2O_2) = 9 моль/дм^3, не содержащий соединений фосфора.

5.5 Раствор молибдата натрия *c* (Na_2MoO_4) = 0,1 моль/дм^3

Взвешивают 2,5 г дигидрата молибдата натрия на лабораторных весах по ГОСТ 24104 с записью результатов до второго знака. В мерную колбу по ГОСТ 1770 вместимостью 100 см^3 с одной меткой количественно переносят дигидрат молибдата натрия и добавляют разбавленную серную кислоту в количестве, достаточном для его растворения. Доводят раствор до метки разбавленной серной кислотой при постоянном перемешивании.

5.6 Раствор аскорбиновой кислоты *c* ($C_6H_8O_6$) = 0,25 моль/дм^3

Взвешивают 5 г аскорбиновой кислоты на лабораторных весах по ГОСТ 24104 с записью результатов до второго знака. В мерную колбу по ГОСТ 1770 вместимостью 100 см^3 с одной меткой количественно переносят аскорбиновую кислоту и добавляют достаточный объем воды для ее растворения. Доводят раствор до метки водой при постоянном перемешивании.

Для определения применяют только свежеприготовленный раствор.

5.7 Раствор молибдата в аскорбиновой кислоте

В мерную колбу по ГОСТ 1770 вместимостью 100 см^3 с одной меткой добавляют 10 см^3 раствора аскорбиновой кислоты и непосредственно перед использованием добавляют 25 см^3 раствора дигидрат молибдата натрия и доводят раствор до метки водой при постоянном перемешивании.

Для определения применяют только свежеприготовленный раствор.

5.8 Стандартный раствор А

В эксикаторе высушивают не менее 48 ч около 1 г однозамещенного форфорнокислого калия (KH_2PO_4) по ГОСТ 4198. Взвешивают 0,4394 г сухого фосфата на лабораторных весах по ГОСТ 24104 с записью результатов до третьего знака и количественно переносят в мерную колбу по ГОСТ 1770 вместимостью 1000 см^3 с одной меткой и растворяют в воде. Доводят раствор водой до метки при постоянном перемешивании.

Содержание фосфора в растворе А составляет 100 мг/дм^3.

5.9 Стандартный раствор Б

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 с одной меткой приливают пипеткой 10 см^3 раствора А по 5.8. Доводят раствор водой до метки при постоянном перемешивании.

Содержание фосфора в растворе Б составляет 10 мг/дм^3.

Срок хранения раствора Б — не более одного месяца.

6 *Аппаратура и материалы*

Предупреждение — Вся стеклянная посуда должна быть тщательно вымыта моющим средством, не содержащим фосфора, и промыта дистиллированной или деионизированной водой.

6.1 Весы лабораторные с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ± 0,1 *мг* по ГОСТ 24104.

6.2 Баня водяная, которая может поддерживать температуру 100 °С.

6.3 Термостат или сушильный шкаф, позволяющий проводить испытания при температуре100 °С.

6.4 Электронагреватель или газовая микрогорелка.

6.5 Колба или пробирки для мокрого озоления (колба Кьельдаля) по ГОСТ 25336 вместимостью 50 см^3.

6.6 Стеклянные шарики диаметром около 5 мм.

6.7 Тигель, изготовленный из платины или кварца по ГОСТ 19908, диаметром около 55 мм и соответствующее предметное стекло.

6.8 Печь электрическая (муфельная) с циркуляцией воздуха, позволяющая проводить испытания при температуре от 500 °С до 550 °С.

6.9 Цилиндры мерные по ГОСТ 1770 вместимостью 5 и 25 см^3.

6.10 Колбы мерные с одной меткой по ГОСТ 1770, 2-го класса точности, вместимостью 50, 100 и 1000 см^3.

6.11 Пипетки с одной меткой по ГОСТ 29169, 2-го класса точности, вместимостью 1, 2, 5 и 10 см^3.

6.12 Спектрофотометр, позволяющий проводить измерения при длине волны 820 нм, оснащенный кюветами с длиной оптического пути 10 мм, или фотометр, позволяющий проводить измерения в области длин волн от 800 до 850 нм.

6.13 Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026 со средним размером пор или фильтры обеззоленные «белая лента» диаметром 11 см.

6.14 Эксикатор по ГОСТ 25336, содержащий эффективный осушающий агент.

6.15 Термометр лабораторный жидкостный нертутный по ГОСТ 28498, ценой деления 0,5 °С и диапазоном измерений от 0 °С до 150 °С.

7 Отбор проб

Проба не должна быть повреждена или модифицирована при транспортировании или хранении.

Отбор проб не является частью метода, устанавливаемого в настоящем стандарте.

Метод отбора проб — по ГОСТ 26809, для экспортно-импортных операций — по ИСО 707, [1].

8 Подготовка пробы для испытаний

Лабораторную пробу молока нагревают до температуры (20 ± 2) °С и тщательно перемешивают. В случае, если не образуется гомогенное распределение жира, пробу медленно нагревают до температуры 40 °С, осторожно перемешивают и охлаждают до температуры (20 ± 2) °С, перед тем как отобрать анализируемую пробу для испытаний.

9 Проведение испытаний

9.1 Метод мокрого озоления

9.1.1 Взвешивают 1,5 г молока на лабораторных весах по ГОСТ 24104 с записью результатов до третьего знака. В колбу для мокрого озоления количественно переносят навеску пробы молока, подго-

товленного в соответствии с разделом 8. Добавляют три стеклянных шарика и 4 $см^3$ концентрированной серной кислоты.

9.1.2 Устанавливают колбу в наклонном положении в хорошо вентилируемом вытяжном шкафу и нагревают при помощи электронагревателя или газовой микрогорелки.

Нагрев контролируют таким образом, чтобы ограничить образование пены в колбе.

В колбе поддерживают слабое кипение. Не допускаются местные перегревы колбы и нагрев колбы выше уровня жидкости.

9.1.3 Как только в колбе прекратится пенообразование, ее охлаждают до комнатной температуры. Осторожно добавляют 2 $см^3$ пероксида водорода (5.4) и снова нагревают. Повторяют данную процедуру до тех пор, пока содержимое не станет прозрачным и бесцветным. В процессе нагрева содержимое колбы периодически перемешивают осторожными круговыми движениями, не допуская местных перегревов.

9.1.4 Смесь охлаждают до комнатной температуры и промывают горло колбы водой около 2 $см^3$. Смесь нагревают вновь до тех пор, пока вода не испарится. Смесь кипятят в течение 30 мин до полного разложения пероксида водорода, не допуская местных перегревов.

9.1.5 Смесь охлаждают до комнатной температуры. Количественно переносят смесь в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ с одной меткой и доводят до метки водой при тщательном перемешивании.

9.1.6 Отбирают пипеткой 2 $см^3$ смеси в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ с одной меткой и добавляют около 25 $см^3$ воды. Затем в колбу добавляют 2,0 $см^3$ раствора молибдата в аскорбиновой кислоте, тщательно перемешивают и доводят объем раствора в колбе до метки водой.

9.1.7 Содержимое колбы кипятят 15 мин на водяной бане.

9.1.8 Охлаждают колбу со смесью до комнатной температуры в холодной воде. Далее проводят измерение оптической плотности по 9.5. Смесь пригодна для измерения в течение 1 ч.

9.2 Метод сухого озоления

9.2.1 Взвешивают 10 г молока на лабораторных весах по ГОСТ 24104 с записью результатов до третьего знака. В тигель из платины или кварцевую чашку количественно переносят навеску анализируемой пробы молока, подготовленного в соответствии с разделом 8.

9.2.2 Выпаривают навеску до сухого остатка в термостате при температуре 100 °С или на водяной бане.

9.2.3 После завершения выпаривания анализируемую пробу молока прокаливают в муфельной печи при температуре от 500 °С до 550 °С до тех пор, пока не образуется белая (или почти белая) зола.

Предпочтительно прежде, чем установить тигель в муфельную печь, нагреть его на газовой или электрической плитке, чтобы сжечь легко воспламеняющиеся компоненты.

9.2.4 Тигель с содержимым охлаждают в электрической печи и затем накрывают предметным стеклом. Золу растворяют в растворе соляной кислоты объемом от 2 до 3 $см^3$ и добавляют около 3 $см^3$ воды.

9.2.5 Количественно переносят раствор золы в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ с одной меткой, промывают предметное стекло и тигель водой и переносят промывочную воду в колбу. Доводят объем раствора до метки водой и тщательно перемешивают. Раствор фильтруют через фильтровальную бумагу.

9.2.6 Наливают пипеткой 10 $см^3$ фильтрата в мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ с одной меткой. Доводят объем раствора до метки водой и тщательно перемешивают.

9.2.7 Наливают пипеткой 2 $см^3$ фильтрата в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ с одной меткой и добавляют около 25 $см^3$ воды. Затем добавляют 2,0 $см^3$ раствора молибдата в аскорбиновой кислоте и доводят объем раствора до метки водой при тщательном перемешивании.

9.2.8 Содержимое колбы кипятят на водяной бане в течение 15 мин.

9.2.9 Охлаждают колбу со смесью до комнатной температуры в холодной воде. Измерения проводят по 9.5. Смесь пригодна для спектрометрического измерения в течение 1 ч.

9.3 Контрольное измерение (холостой опыт)

Одновременно с измерением анализируемой пробы проводят контрольное измерение (холостой опыт) по той же методике, что применялась для анализируемой пробы молока, но используя соответственно 1,5 или 10 $см^3$ воды, не содержащей фосфора, вместо анализируемой пробы.

9.4 Построение градуировочного графика

9.4.1 Наливают пипеткой в пять мерных колб вместимостью 50 $см^3$ с одной меткой соответственно 0, 1, 2, 3 и 5 $см^3$ стандартного раствора Б. Затем приливают в каждую колбу по 25 $см^3$ воды.

9.4.2 К содержимому каждой мерной колбы добавляют по 2,0 см^3 раствора молибдата в аскорбиновой кислоте. Каждый раствор доводят до метки водой и тщательно перемешивают. Приготовленные растворы содержат 0, 10, 20, 30 и 50 мкг фосфора соответственно.

9.4.3 Содержимое колб кипятят на водяной бане в течение 15 мин.

9.4.4 Растворы охлаждают до комнатной температуры в холодной воде. В течение 1 ч измеряют на спектрофотометре при длине волны 820 нм, используя кюветы с длиной оптического пути 10 мм, оптическую плотность каждого калибровочного раствора относительно аналогичного показателя раствора, содержащего 0 мкг фосфора (см. 9.4.2).

Если значение оптической плотности раствора, содержащего 0 мкг фосфора в 50 см^3, высокое, проверяют состояние реактивов.

9.4.5 Строят график зависимости полученных фактических значений оптической плотности от массы фосфора в микрограммах, содержащегося в градуировочных растворах (9.4.2).

9.5 Спектрофотометрические измерения

Не позднее чем через 1 ч после приготовления измеряют оптическую плотность анализируемого раствора по 9.1.8 или 9.2.9 относительно контрольной пробы (9.3) с помощью спектрофотометра или фотометра при длине волны 820 нм, используя кюветы с длиной оптического пути 10 мм.

10 Обработка и оформление результатов *измерений*

Используя градуировочный график (9.4), определяют массу фосфора, соответствующую измеренному значению оптической плотности испытуемого раствора.

Рассчитывают массовую долю общего фосфора в пробе w_{p1} или w_{p2}, %, по формулам

- метод мокрого озоления

$$w_{p1} = \frac{m_1 \cdot 100}{200 m_0}, \quad (1)$$

- метод сухого озоления

$$w_{p2} = \frac{m_1 \cdot 100}{20 m_0}, \quad (2)$$

где m_1 — масса фосфора, *определенная по градуировочному* графику, мкг;

200 и 20 — *коэффициенты разбавления пробы, мкг/г;*

m_0 — масса испытуемой пробы (9.1.1 или 9.2.1), г.

Результаты округляют до третьего десятичного знака.

11 Прецизионность по [1]

11.1 Повторяемость

Предел повторяемости метода, т.е. разность между двумя независимыми результатами испытаний, полученными с использованием *настоящего* метода применительно к идентичному испытуемому материалу в той же лаборатории, одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования в течение короткого периода времени, *составляет* 0,005 % (в единицах массовой *доли общего фосфора*).

11.2 Воспроизводимость

Предел воспроизводимости метода, т.е. разность между двумя независимыми результатами испытаний, полученными с использованием *настоящего* метода применительно к идентичному испытуемому материалу в различных лабораториях, различными операторами с использованием различного оборудования, *составляет* 0,016 % (в единицах массовой *доли общего фосфора*).

В случае, если разница превышает 0,005 % (в единицах массовой концентрации), оба результата отклоняют и проводят два новых отдельных определения.

12 Неопределенность измерений

Перед использованием настоящего стандарта пользователь должен провести оценку неопределенности измерений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-2 или [2].

Приложение А
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам Российской Федерации, использованным в настоящем стандарте в качестве нормативных ссылок

Обозначение ссылочного национального стандарта Российской Федерации	Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта и условное обозначение степени его соответствия ссылочному национальному стандарту
ГОСТ Р ИСО 5725-2—2002	ИСО 5725-2—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений» (IDT)
ГОСТ Р 52501—2005 (ИСО 3696:1987)	ИСО 3696:1987 «Вода для лабораторного анализа. Требования и методы испытаний» (MOD)
ГОСТ 450—77	—
ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80)	ИСО 1042—98 «Посуда лабораторная стеклянная. Мерные колбы с одной меткой» (MOD), ИСО 4788—2005 «Посуда лабораторная стеклянная. Градуированные мерные цилиндры» (MOD)
ГОСТ 3118—77	—
ГОСТ 4166—76	—
ГОСТ 5556—81	—
ГОСТ 12026—76	—
ГОСТ 13979.0—86	—
ГОСТ 13979.1—68	—
ГОСТ 22551—77	—
ГОСТ 24104—2001	—
ГОСТ 25336—82	—
ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1:1981)	ИСО 835:2007 «Посуда лабораторная стеклянная. Мерные градуированные пипетки» (IDT)
ГОСТ 29169—91 (ИСО 648:1977)	ИСО 648:2008 «Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной меткой» (IDT)

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичные стандарты;
- MOD — модифицированные стандарты.

Библиография

[1] ИСО 707—97* Молоко и молочные продукты. Методы отбора проб

[2] Р 50.1.060—2006 *Рекомендации по стандартизации «Государственная система обеспечения единства измерений. Статистические методы. Руководство по использованию оценок повторяемости, воспроизводимости и правильности при оценке неопределенности измерений». Приняты Ростехрегулированием, 2006 г.*

* Действует ИСО 707—2008.

УДК 637.11.001:006.354 ОКС 67.100.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: молоко, спектрофотометрический метод, определение содержания фосфора, молибдат в аскорбиновой кислоте, мокрое озоление, сухое озоление, градуировочный график, повторяемость, воспроизводимость

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Подписано в печать 12.05.2011. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90. Тираж 55 экз. Зак. 345.

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