МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32939— 2014

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения аммиака

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

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 научным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемии)

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

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 5 декабря 2014 г. № 46)

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
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 декабря 2014 г. № 1960-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32939—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 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, 2015

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

Метод определения аммиака

Milk and milk products.
Method for determination of ammonia

Дата введения — 2016—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молоко и молочные продукты (молоко сырье, питьевое молоко) и устанавливает ферментативный метод определения массовой концентрации аммиака.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие 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 12.1.019—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 ISO 5725-6—2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике**

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 24363—80 Реактивы. Калия гидроокись. Технические условия

---

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

** На территории 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 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 27752—88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настенные и часы-будильники. Общие технические условия

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 ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. 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 применен следующий термин с соответствующим определением:

3.1 **ферментативный метод анализа:** Метод количественного определения химических веществ в растворе, основанный на использовании ферментов.

4 Сущность метода

Аммиак, содержащийся в освобожденном от жира и белка водном экстракте пробы продукта, вступает в катализируемую ферментом глютаматдегидрогеназой (ГДГГ) реакцию с α-оксоглутаратом в присутствии восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН), в ходе которой образуется L-глютамат, никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и вода. Превращение НАДН в $НАД^+$ сопровождается изменением в спектре поглощения при длине волны 340 нм (334—365 нм), при этом уменьшение оптической плотности прямо пропорционально концентрации аммиака в исследуемой пробе.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда и реактивы

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 или весы по нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт, с пределами допускаемой абсолютной погрешности ±0,001 г.

Спектрофотометр (фотоэлектроколориметр), позволяющий проводить измерения при длине волны 340 нм (334—365 нм), допускаемой абсолютной погрешностью измерений коэффициента пропускания ±1 %, оснащенный кюветой длиной оптического пути 10 мм.

Центрифуга со скоростью вращения не менее 4000 об/мин.

Термометр лабораторный жидкостной, диапазоном измерения от 0 °С до 100 °С и ценой деления шкалы 1,0 °С по ГОСТ 28498.

Часы электронно-механические по ГОСТ 27752.

Дозаторы механические переменного объема 0,02—2,00 $см^3$ с наконечниками.

Колбы 1-100-2, 2-100-2, 1-500-2, 2-500-2 по ГОСТ 1770.

Пипетки 1-2-2-5 по ГОСТ 29227.

Цилиндры 1-100-2 по ГОСТ 1770.

Воронки В-36-80 ХС по ГОСТ 25336.

Пробирка П1 (2)-16-150 ХС по ГОСТ 25336.

Пробирка П-1-10-0,1 ХС по ГОСТ 1770.

Стаканы В-1-100 ТС, В-2-100 ТС по ГОСТ 25336.

Стакан 4 по ГОСТ 9147.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Палочки стеклянные оплавленные.

Калия гидроокись по ГОСТ 24363, х. ч., раствор молярной концентрации c (КОН) = 10,0 моль/дм^3.

Кислота трихлоруксусная, ч, раствор молярной концентрации c = 0,3 моль/дм^3.

Набор реагентов для определения аммиака в молоке и молочных продуктах, включающий:

- реагент № 1 — буфер: имидазол молярной концентрации 0,1 моль/дм^3, α-оксоглутарат (0,1 моль/дм^3), pH 7,9;
- реагент № 2 — никотинамидадениндинуклеотид (НАДН);
- реагент № 3 — суспензия фермента глютаматдегидрогеназы (ГДГГ) (А ~ 1000 ед/см^3).

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

6 Отбор проб

Отбор проб и подготовка их к анализу — по ГОСТ 26809 или нормативным документам, действующим на территории государств, принявших стандарт.

В случае, если определение не может быть проведено сразу после отбора проб, их хранят в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С не более суток.

7 Подготовка к проведению измерений

7.1 Приготовление раствора трихлоруксусной кислоты молярной концентрации c = 0,3 моль/дм^3

В мерную колбу вместимостью 500 см^3 помещают (25,000 ± 0,001) г трихлоруксусной кислоты, добавляют небольшое количество дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят дистиллированной водой до метки.

Срок хранения раствора в темной посуде — не более 1 мес.

7.2 Приготовление раствора гидроокиси калия молярной концентрации c (КОН) = = 10,0 моль/дм^3

В фарфоровый стакан вместимостью 250 см^3 помещают (56,110 ± 0,001) г гидроокиси калия и растворяют в 70 см^3 дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения гидроокиси калия, охлаждают до температуры (20 ± 5) °С и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, объем раствора доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

Срок хранения раствора — не более 14 сут.

7.3 Подготовка спектрофотометра (фотоэлектроколориметра)

Подготовку спектрофотометра (фотоэлектроколориметра) к работе проводят в соответствии с прилагаемой к прибору инструкцией.

8 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.

9 Проведение измерений

9.1 Приготовление фильтрата из молока и молочных продуктов

В центрифужную пробирку вместимостью 10 см^3 пипеткой вносят 1,0 см^3 продукта, подготовленного в соответствии с разделом 6. Добавляют 4,0 см^3 раствора трихлоруксусной кислоты молярной концентрации 0,3 моль/дм^3 (7.1) и выдерживают при температуре (20 ± 2) °С в течение 5 мин. Затем пробирки помещают в центрифугу и центрифугируют в течение 3 мин при 4000 об/мин. По окончании центрифугирования надосадочную жидкость переносят в чистую пробирку вместимостью 10 см^3 и нейтрализуют несколькими каплями раствора гидроокиси калия молярной концентрации

10,0 моль/дм^3 (7.2), при этом фактор разведения раствором гидроокиси калия можно не учитывать. Раствор фильтруют через бумажный фильтр в чистую пробирку.

9.2 В пробирку вместимостью 10 см^3 вносят фильтрат, подготовленный по 9.1, дистиллированную воду и реагенты в количествах, указанных в таблице 1. При этом при проведении серии испытаний для всей серии продуктов используют только одну контрольную (холостую) пробу.

Таблица 1

Наименование добавляемого компонента	Исследуемая проба	Контрольная проба
Раствор буфера (реагент № 1 набора), см^3	1,0	1,0
НАДН (реагент № 2 набора), см^3	0,05	0,05
Количество приготовленного фильтрата исследуемого продукта (9.1), см^3	0,1	—
Вода дистиллированная, см^3	1,9	2,0

Содержимое пробирки аккуратно перемешивают, выдерживают при температуре (20 ± 2) °С в течение 5 мин и измеряют оптическую плотность раствора фильтрата исследуемого продукта ($A_{1пр}$) и контрольной (холостой) пробы ($A_{1к}$). Раствором сравнения служит дистиллированная вода. Затем во все пробирки (и в пробирки с фильтратом исследуемых продуктов, и в пробирку с контрольной пробой) дозатором вносят по 0,03 см^3 суспензии фермента ГДГГ (реагент № 3 набора). Содержимое пробирок аккуратно перемешивают, выдерживают при температуре (20 ± 2) °С в течение 15 мин и измеряют оптическую плотность исследуемой пробы ($A_{2пр}$) и контрольной (холостой) пробы ($A_{2к}$). Раствором сравнения служит дистиллированная вода.

10 Обработка результатов измерений

10.1 Проводят два параллельных измерения. Разность оптических плотностей растворов фильтрата исследуемого продукта и контрольной (холостой) пробы (ΔA) вычисляют по формуле

$$\Delta A = (A_{2пр} - A_{1пр}) - (A_{2к} - A_{1к}), \quad (1)$$

где $A_{2пр}$ — значение оптической плотности раствора фильтрата исследуемого продукта после добавления фермента ГДГГ, отн. ед.;

$A_{1пр}$ — значение оптической плотности раствора фильтрата исследуемого продукта до добавления фермента ГДГГ, отн. ед.;

$A_{2к}$ — значение оптической плотности контрольной пробы после добавления фермента ГДГГ, отн. ед.;

$A_{1к}$ — значение оптической плотности контрольной пробы до добавления фермента ГДГГ, отн. ед.

При этом разность оптических плотностей растворов фильтрата исследуемого продукта ($A_{2пр} - A_{1пр}$) должна находиться в интервале от 0,1 до 0,5 (измерения при длине волны 365 нм) или в интервале от 0,1 до 1,0 (измерения при длинах волн 334 и 340 нм). При большей разности оптических плотностей раствор пробы необходимо разбавить дистиллированной водой. При меньшей разности оптических плотностей (менее 0,1) объем фильтрата анализируемой пробы, помещаемый в кювету, необходимо увеличить. При этом общее количество смеси не должно превышать 2,0 см^3. Для сохранения постоянным общего количества смеси в кювете при увеличении объема фильтрата необходимо уменьшить объем дистиллированной воды.

Таблица 2

Предполагаемая массовая концентрация аммиака, г/дм^3	Разведение	Фактор разведения F
Менее 0,08	—	1
От 0,08 до 0,8 включ.	1 + 9	10
От 0,9 до 8,0 включ.	1 + 99	100

10.2 Массовую концентрацию аммиака в анализируемых пробах C, г/дм^3, вычисляют по формуле

$$C = \frac{V_1 \cdot 17{,}03 \cdot F}{V_2 \cdot 1{,}0 \cdot \varepsilon \cdot 1000} \cdot \Delta A, \quad (2)$$

где V_1 — общий объем раствора в кювете, равный 3,08 см^3;

17,03 — значение молярной массы аммиака, г/моль;

F — фактор разведения пробы (при проведении определения без разбавления F = 1) (таблица 2);

V_2 — объем раствора пробы, взятой для анализа (9.1), см^3;

1,0 — длина оптического пути кюветы, см;

ε — значение молярного коэффициента поглощения НАДН,

при 340 нм ε = 6,30 [л · ммоль$^{-1}$ · см$^{-1}$];

при 334 нм ε = 6,18 [л · ммоль$^{-1}$ · см$^{-1}$];

при 365 нм ε = 3,40 [л · ммоль$^{-1}$ · см$^{-1}$];

1000 — коэффициент пересчета молей в миллимоли.

За окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, округленное до второго десятичного знака.

10.3 Контроль точности результатов измерений

Приписанные характеристики погрешности и ее составляющих метода определения массовой концентрации аммиака в молоке и молочных продуктах при P = 0,95 приведены в таблице 3.

Таблица 3

Диапазон измерений массовой концентрации аммиака, г/дм^3	Предел повторяемости $r_{отн}$, %	Предел воспроизводимости $R_{отн}$, %	Границы, относительной погрешности ± δ, %
От 0,01 до 0,08 включ.	10	14	10
От 0,08 до 0,8 включ.	7	11	8
От 0,9 до 8,0 включ.	5	7	5

11 Проверка приемлемости результатов измерений

11.1 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов определения содержания аммиака в исследуемых продуктах, полученных в условиях повторяемости (два параллельных определения, n = 2), проводят с учетом требований ГОСТ ISO 5725-6.

Результаты измерений считаются приемлемыми при условии

$$|X_1 - X_2| \le r_{отн} \cdot 0{,}01 \cdot X_{ср},$$

где X_1, X_2 — значения двух параллельных определений содержания аммиака в исследуемых продуктах, полученные в условиях повторяемости, г/дм^3;

$X_{ср}$ — среднеарифметическое значение двух параллельных измерений содержания аммиака, г/дм^3;

$r_{отн}$ — предел повторяемости (сходимости), значение которого приведено в таблице 3, %.

Если данное условие не выполняется, то проводят повторные измерения и проверку приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 5725-6 (пункт 5.2.2).

11.2 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений содержания аммиака, полученных в условиях воспроизводимости (в двух лабораториях, m = 2), проводят с учетом требований ГОСТ ISO 5725-6 (подпункт 5.3.2.1).

Результаты измерений, выполненные в условиях воспроизводимости, считаются приемлемыми при условии:

$$|X_1' - X_2'| \le R_{отн} \cdot 0{,}01 \cdot X_{ср},$$

где X_1', X_2' — результаты измерений массовой концентрации аммиака, полученные в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, г/дм^3;

$R_{отн}$ — пределы воспроизводимости, значения которых приведены в таблице 3, %;

$X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов измерений массовой концентрации аммиака, выполненных в условиях воспроизводимости, г/дм^3.

Если данное условие не выполняется, то процедуры повторяют в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 5725-6 (пункт 5.3.3).

12 Оформление результатов

Результат измерения массовой концентрации аммиака в исследуемых продуктах представляют в документах, предусматривающих его использование, в виде

$$A = X_{ср} \pm \delta \cdot 0{,}01 \cdot X_{ср}, \ \%, \text{ при } P = 0{,}95,$$

где $X_{ср}$ — среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений; г/дм^3;

δ — границы относительной погрешности измерений, % (таблица 3).

13 Требования, обеспечивающие безопасность

При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования:

- помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать норм, установленных ГОСТ 12.1.005;

- требования техники безопасности при работе с химическими реактивами — в соответствии с ГОСТ 12.1.007;

- требования техники безопасности при работе с электроустановками — в соответствии с ГОСТ 12.1.019.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

14 Требования к оператору

Выполнение измерений может проводить специалист, имеющий специальное образование, освоивший метод и уложившийся в норматив контроля точности при выполнении процедур контроля точности.

УДК 637.147.2:543.06:006.354 МКС 67.100.10

Ключевые слова: молоко, молочные продукты, массовая концентрация аммиака, ферментативный метод, оптическая плотность, условия проведения измерений, отбор проб, обработка результатов измерений, оформление результатов

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Ю.М. Прокофьева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 17.03.2015. Подписано в печать 31.03.2015. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90. Тираж 44 экз. Зак. 1494.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru