

КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

Метод определения массовой доли белка

Издание официальное

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Государственным учреждением Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности (ГУ ВНИМИ)

ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 186 «Молоко и молочные продукты»

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 625-ст

3 Настоящий стандарт гармонизирован с международным стандартом ИСО 5549—78 «Казеины и казеинаты. Определение содержания белка (арбитражный метод)»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

Метод определения массовой доли белка

Caseins and caseinates.
Method for determination of protein content

Дата введения 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на казеины и казеинаты и устанавливает метод определения массовой доли белка.

Метод основан на минерализации пробы под действием сернокислого калия и серной кислоты в присутствии сернокислой меди в качестве катализатора, дистилляции раствора, абсорбции аммиака раствором борной кислоты, титровании аммиака раствором соляной кислоты и расчете массовой доли азота с последующим пересчетом на массовую долю белка умножением на коэффициент 6,38.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

- ГОСТ 844—79 Магнезия жженая. Технические условия
 ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
 ГОСТ 2062—77 Кислота бромисто-водородная. Технические условия
 ГОСТ 3118—77 Кислота соляная. Технические условия
 ГОСТ 4145—74 Калий сернокислый. Технические условия
 ГОСТ 4165—78 Медь (II) сернокислая 5-водная. Технические условия
 ГОСТ 4204—77 Кислота серная. Технические условия
 ГОСТ 4328—77 Натрия гидроокись. Технические условия
 ГОСТ 5833—75 Сахароза. Технические условия
 ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
 ГОСТ 24104—88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия
 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 29251—91 (ИСО 385-1—84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть I. Общие требования
 ГОСТ Р 51464—99 Казеины и казеинаты. Определение массовой доли влаги
 ГОСТ Р 51651—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия
 ИСО 707—97* Молоко и молочные продукты. Методы отбора проб

* Действует до введения в действие ГОСТ Р, разработанного на основе соответствующего ИСО.

3 Определение

В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением:
массовая доля белка в казеинах и казеинатах: Величина, пропорциональная массовой доле азота в образце и выраженная в процентах. Коэффициент пропорциональности — 6,38.

4 Аппаратура, материалы и реактивы

Прибор нагревательный (аппарат для минерализации) с приспособлением для поддержания колбы Кьельдаля в наклонном положении под углом 45°.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104, 2-го класса точности, наибольшим пределом взвешивания 200 г.

Холодильник по ГОСТ 25336, типа ХПТ исполнения 1, длиной кожуха 400 или 600 мм (для анализа по Кьельдалю).

Каплеуловитель по ГОСТ 25336, исполнения КО-60 (для анализа по Кьельдалю).

Устройство измельчающее, позволяющее измельчать пробу без ее нагрева, потери или поглощения влаги.

Сито из проволочной сетки диаметром 200 мкм размером стороны ячейки 500 мкм.

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

Бумага лакмусовая.

Колбы конические по ГОСТ 25336, вместимостью 100, 250 и 500 см³ с притертыми стеклянными пробками.

Колба Кьельдаля по ГОСТ 25336, вместимостью 500 см³.

Колбы мерные по ГОСТ 1770, вместимостью 500 и 1000 см³.

Стаканы по ГОСТ 25336, типов В и Н, исполнения 1 и 2, вместимостью 50 см³.

Цилиндры градуированные по ГОСТ 1770, вместимостью 50 и 100 см³.

Бюретки по ГОСТ 29251, вместимостью 50 см³ и ценой деления 0,1 см³.

Кусочки твердого фарфора или шарики стеклянные (для минерализации).

Куски пемзы свежeproкаленные (для дистилляции).

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652.

Кислота серная концентрированная по ГОСТ 4204, плотностью 1,84 г/см³ при температуре 20 °С.

Калий сернокислый (K₂SO₄) по ГОСТ 4145.

Медь (II) сернокислая 5-водная (CuSO₄·5H₂O) по ГОСТ 4165.

Сахароза (C₁₂H₂₂O₁₁) по ГОСТ 5833.

Кислота борная по ГОСТ 2062, раствор концентрации 40 г/дм³.

Натрия гидроксид по ГОСТ 4328, раствор массовой доли 30 %.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, раствор концентрации c(HCl) = 0,1 моль/дм³.

Метиловый красный.

Метиловый голубой.

Магnezия жженая по ГОСТ 844.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Допускается применять другие средства измерений с метрологическими характеристиками и оборудование с техническими характеристиками не хуже, а также реактивы по качеству не ниже указанных.

5 Отбор проб

Отбор проб и подготовка их к анализу — по ГОСТ 26809, для экспортно-импортных операций — по ИСО 707.

6 Подготовка к определению

6.1 Подготовка пробы

6.1.1 В колбу вместимостью 250 см³ помещают (50±1) г казеина или казеината, закрывают колбу пробкой и перемешивают образец десятикратным переворачиванием и встряхиванием колбы.

6.1.2 Тщательно перемешанную пробу переносят на лабораторное сито.

6.1.3 Если 50 г пробы полностью просеивается через сито, то проба пригодна для дальнейшей работы.

6.1.4 Если проба полностью или частично не проходит через сито, повторно измельчают (50±5) г образца. Пробу просеивают, переносят в колбу вместимостью 250 см³, закрывают пробкой и тщательно перемешивают десятикратным переворачиванием колбы. Во время проведения этих работ необходимо исключить попадание влаги в пробу.

6.2 Приготовление индикатора

Взвешивают 2 г метилового красного и 1 г метилового голубого, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и наливают этиловый спирт до метки.

6.3 Проверка образца на присутствие небелкового азота (присутствие аммонийного казеината или других аммонийных соединений)

В коническую колбу вместимостью 100 см³ помещают (1,00±0,01) г пробы, приливают 10 см³ дистиллированной воды и 100 мг магнезии. Тщательно смывают водой магнезию, приставшую к стенкам, закрывают колбу корковой пробкой, вставляют при этом кусок красной лакмусовой бумаги между пробкой и горлышком колбы. Перемешивают содержимое колбы и нагревают колбу на водяной бане температурой (62±2) °С. Если лакмусовая бумага окрашивается в голубой цвет в течение 15 мин, это свидетельствует о присутствии аммиака, и, следовательно, данный метод не может применяться для определения белка.

6.4 Проверка качества реактивов (контрольный анализ)

Проверку качества реактивов проводят с использованием 0,5 г сахарозы вместо навески казеина или казеината. Используют аппаратуру и реактивы по разделу 4, методику по разделу 7. Если объем раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование, превышает 0,5 см³, реактивы проверяют и реактив (реактивы) с примесями очищают или заменяют. Результат измерения объема раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование в контрольном анализе, используют при расчете массовой доли белка по формуле (1).

7 Проведение определения

7.1 Помещают в колбу Кьельдаля навеску казеина или казеината массой (0,3 ± 0,1) г, подготовленных по 6.1.

7.2 Помещают в колбу Кьельдаля несколько кусочков фарфора или стеклянных шариков и 15 г безводного сернистого калия. Добавляют 0,2 г сернистой меди и промывают горлышко колбы небольшим количеством воды. Добавляют 20 см³ концентрированной серной кислоты. Содержимое колбы перемешивают.

Колбу осторожно нагревают на аппарате для минерализации до перехода суспензии в состояние истинного раствора и появления бледной зелено-голубой окраски. При нагревании время от времени колбу встряхивают.

Процесс нагревания регулируют так, чтобы образующийся пар конденсировался в середине горлышка колбы. Колбу нагревают в течение 90 мин, избегая при этом локального перегрева.

Колбу охлаждают до комнатной температуры. Осторожно добавляют 200 см³ дистиллированной воды и несколько кусочков пемзы. Перемешивают и снова охлаждают.

7.3 Помещают в коническую колбу 50 см³ раствора борной кислоты и четыре капли индикатора по 6.2. Перемешивают. Устанавливают коническую колбу под холодильником так, чтобы кончик выходной трубки холодильника был погружен в раствор борной кислоты.

Градуированным цилиндром добавляют в колбу Кьельдаля 80 см³ раствора гидроксида натрия. Во время этой операции колбу поддерживают в наклонном положении, чтобы раствор стекал по стенке колбы и на дне образовывался слой гидроксида.

Соединяют колбу Кьельдаля с холодильником через каплеуловитель.

Для перемешивания содержимого колбу Кьельдаля осторожно вращают. Колбу нагревают, избегая любого вспенивания. Дистилляцию регулируют так, чтобы собрать 150 см³ дистиллята за 30 мин. Дистиллят должен иметь температуру ниже 25 °С. За 2 мин до окончания дистилляции опускают коническую колбу так, чтобы кончик выходной трубки холодильника не был погружен в раствор кислоты, промывают кончик небольшим количеством воды. Прекращают нагревание, вынимают выходную трубку и промывают ее наружные и внутренние стенки небольшим количеством воды, собирая смывы в коническую колбу.

7.4 Дистиллят титруют в конической колбе раствором соляной кислоты до перехода зеленого цвета в серый и измеряют объем раствора соляной кислоты, израсходованный на титрование.

8 Обработка результатов

8.1 Массовую долю белка в пробе M_1 , %, вычисляют по формуле

$$M_1 = \frac{1,4(V_1 - V_2)T}{m} \cdot 6,38 = \frac{8,932(V_1 - V_2)T}{m}, \quad (1)$$

где 1,4 — масса азота, эквивалентная 1 см³ соляной кислоты, концентрацией $c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм³, мг/см³;

V_1 — объем раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование в основном анализе, см³;

V_2 — объем раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование в контрольном анализе по 7.4, см³;

T — титр соляной кислоты;

6,38 — коэффициент пересчета массовой доли азота на массовую долю белка;

m — масса пробы, г.

Рассчитывают массовую долю белка с округлением результата до первого десятичного знака.

8.2 Массовую долю белка в пробе в пересчете на сухое вещество M_2 , %, вычисляют по формуле

$$M_2 = M_1 \cdot \frac{100}{100 - M}, \quad (2)$$

где M — массовая доля влаги в пробе, %, определенная по ГОСТ Р 51464.

9 Метрологические характеристики

9.1 Пределы допускаемой погрешности результата определения — $\pm 0,5$ %, сходимость — не более 0,3 % и воспроизводимость — 1,0 % при вероятности $P = 0,95$.

9.2 Если расхождение результатов двух параллельных определений (сходимость) превышает 0,3 %, повторно проводят два новых определения.

ОКС 67.120.10

Н19

ОКСТУ 9209

Ключевые слова: казеин, массовая доля белка, обработка результатов, сходимость, воспроизводимость, протеин, объемный анализ