ГОСТ Р 51469—99

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

Фотометрический метод определения массовой доли лактозы

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2011

gost.e-ecolog.ru

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. № 624-ст

3 Настоящий стандарт гармонизирован с международным стандартом ИСО 5548—80 «Казеины и казеинаты. Определение содержания лактозы. Фотометрический метод»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2011 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1999
© 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

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

Фотометрический метод определения массовой доли лактозы

Caseins and caseinates.
Photometric method for determination of lactose content

Дата введения 2001—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на казеины и казеинаты массовой долей углеводов не более 2 %. Стандарт устанавливает фотометрический метод определения массовой доли лактозы и других растворимых углеводов.

Метод основан на растворении навески продукта в горячей воде или растворе, осаждении осадка фильтрации, окраске безбелкового осадка углеводов, фотометрического измерения и определения массовой доли лактозы в соответствии с калибровочным графиком.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 61—75 Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 199—78 Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 1770—74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118—77 Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4201—79 Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4204—77 Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 6859—72 Приборы для отмеривания и отбора жидкостей. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 19814—74 Кислота уксусная синтетическая и регенерированная. Технические условия

ГОСТ 23519—93 Фенол синтетический технический. 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 подготовки проб к анализу

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1

ГОСТ 29251—91 (ИСО 385-1—84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования

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

3 Определение

В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением:

массовая доля лактозы в казеинах и казеинатах: Отношение массы растворимых углеводов к массе навески продукта, умноженное на 100.

* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104—2001. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

** Действует до введения в действие ГОСТ Р, разработанного на основе соответствующего ИСО. С 11 августа 2008 г. действует ИСО 707:2008.

Издание официальное

4 Аппаратура, материалы и реактивы

Дозаторы серной кислоты по ГОСТ 6859 вместимостью 10 $см^3$.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104, 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и ценой поверочного деления 0,001 г.

Устройство измельчающее, без нагрева пробы при измельчении и без потери или поглощения влаги.

Колбы конические по ГОСТ 25336 вместимостью 100 и 500 $см^3$.

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

Пробирки с притертыми пробками по ГОСТ 1770 вместимостью 40 $см^3$.

Пипетки по ГОСТ 29227 исполнения 2, 1-го и 2-го класса точности, вместимостью 1, 2 и 10 $см^3$.

Микропипетки вместимостью 0,2 $см^3$ и ценой деления 0,001 $см^3$.

Баня водяная с возможностью установки температур (20 ± 1) °С и от 60 °С до 70 °С.

Цилиндры мерные по ГОСТ 1770 2-го класса точности вместимостью 25 $см^3$.

Фотоэлектроколориметр диапазоном измерения при длине волны 490 нм, с кюветами размером оптического пути от 1 до 2 см.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Натрий углекислый кислый ($NaHCO_3$) по ГОСТ 4201, ч. д. а.

Натрия трифосфат ($Na_5P_3O_{10}$) по технической документации, ч. д. а.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, раствор концентрации 0,1 $моль/дм^3$, х. ч.

Кислота серная концентрированная по ГОСТ 4204, плотностью 1,84 $г/см^3$, раствор концентрации 1 $моль/дм^3$, х. ч.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, раствор 100 г уксусной кислоты в 1 $дм^3$ дистиллированной воды, х. ч.

Натрий уксуснокислый (CH_3COONa) по ГОСТ 199, раствор концентрации 1 $моль/дм^3$, ч. д. а.

Фенол по ГОСТ 23519, раствор с массовой долей фенола 80 %.

Лактоза безводная, ч. д. а.

Кислота уксусная синтетическая и регенерированная по ГОСТ 19814.

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 и подготовка проб — 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 $см^3$ помещают (50 ± 1) г казеина или казеината, закрывают колбу пробкой и перемешивают пробу 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, проба пригодна для дальнейшей работы.

6.1.4 Если проба полностью или частично не проходит, измельчают (50 ± 5) г образца. Пробу просеивают и переносят в колбу вместимостью 250 $см^3$, закрывают пробкой и тщательно перемешивают не менее чем десятикратным переворачиванием колбы. Во время проведения этих работ необходимо исключить попадание влаги в продукт и дальнейшее определение проводить как можно скорее.

6.2 Приготовление растворов для построения калибровочного графика

6.2.1 Раствор лактозы

В мерную колбу вместимостью 100 $см^3$ помещают (2,000 ± 0,001) г безводной лактозы, доливают дистиллированной водой до метки и перемешивают до полного растворения. Раствор хранят при температуре 0 °С.

6.2.2 Приготовление градуированных растворов

6.2.2.1 Раствор А

В мерную колбу вместимостью 100 см³ пипеткой отмеряют 10 см³ раствора лактозы (по 6.2.1) и доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см³ раствора А содержится 2 мг безводной лактозы.

6.2.2.2 Раствор № 1

В мерную колбу вместимостью 100 см³ пипеткой отмеряют 1 см³ раствора А и доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см³ раствора содержится 20 мкг безводной лактозы.

6.2.2.3 Раствор № 2

В мерную колбу вместимостью 100 см³ пипеткой отмеряют 2 см³ раствора А, доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см³ раствора содержится 40 мкг безводной лактозы.

6.2.2.4 Раствор № 3

В мерную колбу вместимостью 100 см³ пипеткой отмеряют 3 см³ раствора А, доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см³ раствора содержится 60 мкг безводной лактозы.

6.2.2.5 Раствор сравнения

В колбу вместимостью 100 см³ вносят (0,100 ± 0,001) г углекислого кислого натрия для кислотного казеина или (0,100 ± 0,001) г трифосфата натрия — для сычужного казеина и доливают 25 см³ дистиллированной воды. Перемешивают встряхиванием и ставят на водяную баню при температуре (65 ± 5) °С до полного растворения. Далее обработка раствора по 6.3.4.

6.3 Подготовка фильтрата в соответствии с требованиями, изложенными в приложении А

6.3.1 Навеску массой (1,00 ± 0,01) г казеина или казеината по 6.1 помещают в коническую колбу вместимостью 100 см³ и добавляют (кроме казеината):

- для кислотного казеина — (0,100 ± 0,001) г углекислого кислого натрия ($NaHCO_3$);
- для сычужного казеина — (0,100 ± 0,001) г трифосфата натрия ($Na_5H_3O_{10}$).

6.3.2 В колбу доливают 25 см³ дистиллированной воды, ставят на водяную баню температурой от 60 до 70 °С. Колбу периодически перемешивают встряхиванием.

6.3.3 Нагревание проводят в течение 10—15 мин до полного растворения навески.

6.3.4 Колбу охлаждают до комнатной температуры и постепенно добавляют:

- 15 см³ дистиллированной воды и перемешивают встряхиванием;
- 8 см³ раствора соляной кислоты или раствора серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм³ и перемешивают встряхиванием;
- 1 см³ раствора уксусной кислоты и перемешивают встряхиванием.

Колбу оставляют на 5 мин.

Затем добавляют 1 см³ раствора ацетата натрия и перемешивают встряхиванием.

Колбу оставляют до полного осаждения казеинового преципитата.

Раствор фильтруют через сухую фильтровальную бумагу.

7 Проведение определения

7.1 В пробирку вместимостью 40 см³ отмеряют пипеткой 2 см³ фильтрата, добавляют микропипеткой 0,2 см³ раствора фенола массовой долей 80 % и перемешивают встряхиванием.

Доливают концентрированную серную кислоту при помощи дозатора со скоростью 5 см³/с. Струю кислоты направляют на поверхность раствора, а не по стенке пробирки, при этом хорошо перемешивают.

Содержимое пробирки вновь тщательно перемешивают встряхиванием и оставляют в покое на 15 мин.

Охлаждают в течение 5 мин на водяной бане при температуре (20 ± 2) °С и приступают к измерению.

Измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 490 нм с использованием раствора сравнения, приготовленного по 6.2.2.5.

Если значение оптической плотности выше верхнего предела, указанного калибровочной кривой, повторяют измерение с использованием 2 $см^3$ разбавленного раствора фильтрата вместо самого фильтрата.

Примечание — Если делается такое разбавление, то в формуле расчета по 8.1 проводят соответствующую корректировку.

7.2 Построение калибровочного графика

В четыре пробирки для анализа помещают 2 $см^3$ каждого из трех градуировочных растворов по 6.2 и приливают к ним 2 $см^3$ дистиллированной воды.

Измеряют оптическую плотность трех градуировочных растворов с использованием раствора сравнения, подготовленного по 6.2.2.5.

Строят калибровочный график нанесением значений массовой концентрации безводной лактозы и результатов измерения оптической плотности.

8 Обработка результатов

8.1 Массовую долю лактозы в навеске M, %, вычисляют по формуле

$$M = \frac{c \cdot 50 \cdot 10^{-6}}{m} \cdot 100,$$

где c — массовая концентрация безводной лактозы, определенная по градуировочному графику, мкг/$см^3$;

m — масса навески продукта, г;

50 — объем раствора казеина или казеината, $см^3$.

9 Метрологические характеристики

9.1 Сходимость

Разность двух результатов определений, полученных при анализе одной и той же пробы одним и тем же лаборантом за короткий промежуток времени, не должна превышать 0,03 % при массовой доле лактозы менее или равной 0,2 % и вероятности $P = 0,95$.

9.2 Воспроизводимость

Разность двух единичных и независимых результатов определений, полученных двумя лаборантами, работающими в разных лабораториях с одной и той же пробой, не должна превышать 0,04 % при массовой доле лактозы менее или равной 0,2 % и вероятности $P = 0,95$.

9.3 Если расхождение результатов двух параллельных определений (сходимость) превышает 0,03 %, то повторно проводят два новых определения.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Подготовка фильтрата

Вид продукта	Масса навески, г	Бикарбонат натрия $NaHCO_3$	Пентанатрийтрифосфат $Na_5H_5O_{10}$	Объем воды, $см^3$	Время выдержки при нагревании, мин	Объем воды, $см^3$	Объем HCl H_2SO_4	Уксусная кислота, $см^3$	Время выдержки, мин	Ацетат натрия CH_3COONa ($см^3$)
Казеинаты	1 ± 0,01			25	10—15	15	8	1	5	1
Кислотные казеины	1 ± 0,01	0,1 ± 0,001		25	10—15	15	8	1	5	1
Сычужные казеины	1 ± 0,01		0,1 ± 0,001	25	10—15	15	8	1	5	1
Раствор сравнения для кислотного казеина		0,1 ± 0,001		25	—	—	—	—	—	—
Раствор сравнения для сычужного казеина			0,1 ± 0,001	25	—	—	—	—	—	—

УДК 637.2/.3/.147.2:006.354 ОКС 67.100.10 Н19 ОКСТУ 9209

Ключевые слова: казеин, казеинаты, метод определения, массовая доля лактозы, растворение навески продукта, обработка результатов