ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Сүт және сүт өнімдері
Азоттың мөлшерін анықтау
1 бөлім
КЬЕЛДЕЛЬ ӘДІСІ ЖӘНЕ ШИКІ АҚУЫЗ ДЕҢГЕЙІН ЕСЕПТЕУ

Молоко и молочные продукты
Определение содержания азота
Часть 1
МЕТОД КЬЕЛЬДАЛЯ И РАСЧЕТ СЫРОГО БЕЛКА

ҚР СТ ISO 8968-1-2014

(ISO 8968-1:2014 Milk and milk products - Determination of nitrogen content - Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation, IDT)

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Инвестиция және даму министрлігі
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Сүт және сүт өнімдері
Азоттың мөлшерін анықтау

1 бөлім

КЬЕЛДЕЛЬ ӘДІСІ ЖӘНЕ ШИКІ АҚУЫЗ ДЕҢГЕЙІН ЕСЕПТЕУ

ҚР СТ ISO 8968-1-2014

(ISO 8968-1:2014 Milk and milk products - Determination of nitrogen content - Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation, IDT)

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Инвестиция және даму министрлігі
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

Алғысөз

1 Техникалық реттеу және метрология комитеті «Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты» Республикалық мемлекеттік кәсіпорнымен **ДАЙЫНДАП ЕНГІЗІЛДІ**

2 Қазақстан Республикасы Инвестиция және даму министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті төрағасының 2014 жылғы 10 қазандағы №207-од бұйрығымен **БЕКІТІЛІП ҚОЛДАНЫСҚА ЕНГІЗІЛДІ**

3 Осы стандарт халықаралық ISO 8968-1:2014 Milk and milk products -- Determination of nitrogen content -- Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation (Сүт және сүт өнімдері. Азоттың мөлшерін анықтау. 1-бөлім. Кьелдель әдісі және шикі ақуыз деңгейін анықтау) стандартына сәйкестігі бойынша бірдей.

ISO 8968-1:2014 халықаралық стандарты SC 5 «Сүт және сүт өнімдері» комитеті жанындығы ISO/TC 34 «Тағам өнімдері» Техникалық комитетімен және Сүт өнімдерінің Халықаралық Федерациясымен әзірленген (IDF).

Аударма ағылшын тілінен (en).

Осы ISO 8968-1:2014 халықаралық стандарттың ресми данасы соның негізінде дайындалған осы ұлттық стандарт және мәтінінде сілтемелер берілген мемлекетаралық стандарттар, Қазақстан Республикасының индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті «ҚазСтИн» РМК Бірыңғай мемлекеттік нормативтік құжаттар қорында бар.

4 БІРІНШІ ТЕКСЕРУ МЕРЗІМІ 2021 жыл
ТЕКСЕРУ КЕЗЕҢДІЛІГІ 5 жыл

5 АЛҒАШ РЕТ ЕНГІЗІЛДІ

Осы стандартқа енгізілген өзгерістер туралы ақпарат «Қазақстан Республикасының стандарттау бойынша нормативтік құжаттары» жыл сайын шығарылатын ақпараттық сілтемесінде, ал өзгеріс мәтіні «Ұлттық стандарттар» ай сайынғы ақпараттық сілтемесінде жарияланады. Осы стандарт қайта қаралған (жойылған) немесе ауыстырылған жағдайда тиісті ақпарат «Ұлттық стандарттар» ақпараттық сілтемесінде жарияланады.

Осы стандарт Қазақстан Республикасы Инвестиция және даму министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитетінің рұқсатынсыз ресми басылым ретінде Қазақстан Республикасы аумағында толықтай немесе бөлшектеліп басылып шығарыла, көбейтіле және таратыла алмайды.

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ҰЛТТЫҚ СТАНДАРТЫ

Сүт және сүт өнімдері
Азоттың мөлшерін анықтау
1 Бөлім
Кьелдаль әдісі және шикі ақуыз деңгейін анықтау

Енгізілген күні 2016-01-01

Ескерту – осы стандартты қолдану барысына қауіпті материалдарды, іс-шаралар мен құралдарды пайдалану кіреді. Осы стандарт қолданумен байланысты қауіпсіздіктің барлық мәселелерін талқылауды қарастырмайды. Осы стандартты қолданушы қауіпсіздік техникасын, денсаулықты сақтауға сонымен қатар ұлттық заңнамалардың талаптарын сақтауға жауапты болып табылады.

1 Қолданылу саласы

Осы стандарт ұлттық әдістер мен блокты миниралдауды қолдану арқылы сүт және сүт өнімдерінде азоттың мөлшерін анықтауда және Кьелдаль әдісі бойынша сүт және сүт өнімдерінде шикі ақуыз деңгейін анықтау әдістерін белгілейді.

Әдістер мынадай болып таралады:

- табиғи сиыр (тұтас, ішінара майсыздандырылған немесе майсыздандырылған сүт), ешкі және қойдың тұтас сүті;
- қатты, жартылай қатты және балқытылған ірімшіктер;
- құрғақ сүт және құрғақ сүттен жасалған өнімдер (соның ішінде сүт негізінде жасалған балалар тағамы, сүтті ақуыз концентраты, сарысулы ақуыз концентраты, казеин және казеинат).

Берілген әдістер құрамында казеинат аммоний бар өнімдерге таралмайды.

Ескертпе – Егер де өнімдердерде осы стандартта көрсетілген азоттың сүт емес құрамдары болатын болса ғана шикі ақуыздан тұратын нақты емес нәтижелер алынуы мүмкін.

2 Нормативтік сілтемелер

Осы стандартты қолдану үшін келесі сілтеме құжаттар пайдаланылады. Күні белгіленбеген сілтемелер үшін сілтеме құжаттың соңғы басылымын қолданады (барлық өзгерістерін қоса алғанда)

ISO 385 Laboratory glassware - Burettes (Зертханалық шыны ыдыс. Бюреткалар).

ISO 8655-3 Piston-operated volumetric apparatus - Part 3: Piston burettes (Поршеньмен әрекетке келтірілетін өлшеу құралдары. 3-Бөлім).

3 Терминдер мен анықтамалар

Осы стандартта сәйкес анықтамаларымен келесі терминдер қолданылады:

3.1 **Азот деңгейі** (nitrogen content): Осы стандартпен белгілі әдіспен бекітілген азоттың массалық үлесі.

Ескертпе – Азоттың деңгейі пайыз түрінде өрнектеледі.

3.2 **Шикі ақуыз деңгейі** (crude protein content): Осы стандартта көрсетілгендей есептелген шикі ақуыздың массалық үлесі.

Ескертпе – Шикі ақуыздың деңгейі пайыз түрінде өрнектеледі.

4 Сынақ әдісінің мәні

Сыналатын сына күкірт қышқылы мен калий сульфатының концентратталған қоспасымен минералданады, катализатор ретінде мыс сульфаты (II) қолданылады сонымен қатар органикалық азот сульфат аммониға айналады. Калий сульфаты күкірт қышқылының нүктесінің жоғарылауы үшін қолданылады және минералдану кезінде қоспаларды күшті тотығуларын қамтамасыз етеді. Натрий гидрототығының артығы салқындатылған өнімге аммоний бөлінуі үшін қосылады. Бөлінген аммоний бор қышқылының ерітіндісімен сіңіріледі, одан кейін тұз қышқылымен титрленеді. Азоттың деңгейі алынған аммонидің мөлшеріне байланысты болады.

5 Реактивтер

Тек қана химиялық таза реактиверді, тазартылған суды немесе баламалы түрде таза суды қолдану қажет болып табылады.

Ескертпе – Берілген іс-шарада көрсетілген ерітінділер автоматты титрлеуішларда жұмыс істеуге арналғандардан айырмашылығы болуы мүмкін. Лаборант жұмыс атқарған кезде әзірлеуші нұсқаулығы ндағы шарттар орындалуы тиіс.

5.1 Құрамында азот жоқ (K_2SO_4) калий сульфаты.

5.2 (II) мыс сульфатының ерітіндісі, $c(CuSO_4 \cdot 5H_2O)$ = 5,0 г/100 $см^3$.

Ерітінділер үшін 5,0 г мыс сульфатын (II) сыйымдылығы 100 $см^3$ болатын колбаға орналастырылады. Белгіге дейін су құяды және араластырады.

5.3 Массалық үлесі 95 % бастап 98% дейін болатын, құрамында азот жоқ (шамамен ρ_{20} = 1,84 г/$см^3$) (H_2SO_4) күкірт қышқылы.

5.4 Құрамында азот жоқ (NaOH) гидроксид натрий ерітіндісі, 50 г натрий гидрототығын 100 г суда ерітеді.

Автоматтандырылған айдау жүйелерінде артылған гидроксид натрий айдау қоспасына бөлінентін жағдайлар болған кезде гидроксид натридің басқа да массалық үлестері болуы мүмкін; мысалы натрий гидроксидінің 40 % массалық үлесі автоматтандырылған жүйелердің тығындалу мәселесі бар жерлерде 50 % массалық үлесінің орнына қолданылуы мүмкін. Натрий гидроксид ерітіндісінің жалпы көлемін айдаудың сәйкес көлемін демеу мақсатында қарастыру қажет болып табылады.

5.5 Индикатор ерітіндісі

0,1 г метил қызылын еріту үшін 50 $см^3$(6.16) белгісі бар колбаға орналастырады. Белгісіне дейін 95 %-ды этанол құяды және араластырады. 0,5 г жасыл бромкрезолды еріту үшін колбаға белгіге дейін 250 $см^3$(6.16) араластырады. Белгісіне дейін 95 %-ды этанол құяды және араластырады. Метил қызылының 1 бөлігін және жасыл бромкрезолдың 5 бөлігін араластырады.

5.6 Бор қышқылының ерітіндісі $c(H_3BO_3)$ = 40,0 г/$дм^3$

40,0 г бор қышқылын еріту үшін 1000 $см^3$(6.16) белгісі бар колбаға салады және 1 литр ыстық су құяды. Ерітіндіні 20 °С температурасына дейін салқындатады. (5.5) индикатор ерітіндісінің 3 мл қосады, ерітіндінің көлемін белгісіне дейін сумен толтырады және араластырады. Ерітінді ашық-сарғыш түстес болуы тиіс. Ерітіндіні қараңғы жерде және тығыз жабылған шыны ыдыста сақтайды.

Тексеруден кейінгі автоматтандырылған айдау жүйелерінде бор қышқылының басқа да концентрациялары пайдаланылуы мүмкін.

Электронды pH фиксациясымен титрлеуді қолданған кезде соңғы нүктесінде индикаторға бор қышқылын қоспай ақ қойса да болады. Титрлеу іс-шарасының дұрыстығын тексеруге түстің өзгеруін қолдануға болады.

5.7 Стандартты тұз қышқылы ерітіндісі $c(HCl)$ = (0,1 ұ 0,0005) моль/дм^3.

Әзірлеушімен әзірленген дайын стандартталған ерітіндіні алуға немесе спецификацияны қолдануға кеңес беріледі. Жиі систематикалық қателіктер (олардан құтылуға болады) зертханашымен концентратталған қышқылды қосқан кезде және ерітіндінің концентрациясын анықтаған кезде әдістің ұдайы қайталанулығының төмендеуіне әкеліп соғады. Зертханашы ерітіндіні титрлеу үшін концентрациясы 0,1 моль/дм^3 артық болатындай ерітіндіні пайдаланбауы тиіс, өйткені мұндай кезде жалпы көлем азаяды және бюретка көрсеткішінің белгісіздігі көлемнен алған кезде үлкен пайызға ие болады. Жоғарыда көрсетілгендер қайталанушылық пен ұдайы қайталанулықтың орындалуына кері әсерін тигізеді.

Егер де күкірт қышқылын тұз қышқылымен алмастыратын болсақ онда ерітінді (0,05 ұ 0,0003) моль/ дм^3 концентрациясына ие болуы тиіс.

5.8 Құрғақ заттағы массалық үлесі 99,9 % кем емес аммоний сульфаты $(NH_4)_2SO_4$.

Қолданар алдында аммоний сульфатын (102 ұ 2) °С температурасында 2 сағаттан кем емес уақыт аралығында кептіру керек және эксикаторда бөлме температурасына дейін салқындату қажет.

5.9 Ең кіші мөлшері 99 % (массалық үлесі) болатын триптофан ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) немесе гидрохлорид лизин ($C_6H_{15}ClN_2O_2$).

Қолданар алдында бұл реактивтерді кептіру шкафында кептіруге болмайды.

5.10 Құрамында 0,002 % артық емес (массалық үлесі) азот бар сазароза.

Қолданар алдында сахарозаны кептіру шкафында кептіруге болмайды.

6 Құрал-жабдық

Сынақ үшін келесі зертханалық құралдарды пайдаланады:

6.1 38 °С бастап 40 °С дейінгі температураны ұстап тұратын су моншасы.

6.2 Өлшеу дәлдігі 0,0001 г болатын аналитикалық таразылар.

6.3 Бюретка немесе мыс (5.2) сульфаты ерітіндісін 1,0 см^3 көлемінде бере алатын қабілеті бар автоматты тамызғыш.

6.4 Сыйымдылығы 25 см^3, 50 см^3, 100 см^3 және 500 см^3 болатын градуирленген өлшеу цилиндрлері.

6.5 Сыйымдылығы 500 см^3 болатын конус колбалар.

6.6 Сыйымдылығы 20 см^3 болатын, бөлу бағасы 0,004 см^3 кем емес ISO 8655-3 стандарттарының талаптарына жауап беретін автоматты бюреткалар. Ұқсастық ретінде сыйымдылығы 50 см^3 болатын, бөлу бағасы 0,1 см^3 болатын ISO 385 стандарттарының талаптарына жауап беретін, сүттің А класына талдау үшін бюретка пайдаланылуы мүмкін.

Ескертпе – Қолмен басқарылатын бюреткаларда басқа да өнімдерге арналған қажетті цифр мәндеріне қол жеткізу үшін қажетті дәлдікке ие емес.

6.7 Ұнтақтайтын құрылғы

6.8 Сыйымдылығы 500 см^3 немесе 800 см^3 болатын Кьельдаль колбалары. Өндіруші спецификациялары арқылы минералдау үшін және айдау үшін пайдалануға арналған (6.10 немесе 6.11).

6.9 Қайнауды жеңілдететін материал мысалы борпылдақ материал, фарфордың

қатты тілімдері немесе амфотерлі алюминий оксиді (мысалы карбонил) түйіршіктелген аса жоғары тазартылған, тегіс, ұяшық мөлшері 10. Материалдарды қайта қолдануға болмайды.

Ескертпе – Диаметрі 5 мм болатын шыны шарлар қолданылуы мүмкін, бірақ олар алюминий оксиді сияқты осындай тиімді қайнауды қамтамасыз етпеуі мүмкін және көбіктенумен бірге минералдау процесі кезінде мәселелер туындауы мүмкін.

6.10 Газды айдау жүйелерімен минералдауға арналған, Кьелдаль колбасы бар (6.8) ауытқуымен бірге (шамамен 45 °), колбаның ішіндегісінің қыздырылуын қамтамасыз ететін электрлік қыздырғыштармен немесе газ горелкалары.

Жылу көзі минералдау кезінде қыздырғыштың ең үлкен көлемдегі режимін бақылау үшін реттелген болуы тиіс. Қызу режимін анықтау үшін жылу көзін қыздыру қажет болады. Газ қыздырғыштарын қолданған кезде алдын ала қыздыру кезеңі 10 минут болуы тиіс, электрлі қыздырғыштар үшін 30 минут болуы тиіс. Қыздырғыштың әрбіреуіне қыздыру режимін анықтап қою керек. Қыздырғыштың әрқайсысына қайнауды жеңілдететін құрамында материл бар бастапқы температурасы 25 °С болатын 5 бастап 6 мин дейінгі мөлшердегі 250 сл суды құю үшін қыздыру режимін анықтау керек. Бұл максималды қыздыру режимін минералдау кезінде қолдану қажетті болып табылады.

6.11 Боро силикатты шыныдан жасалған айдауға арналған құрылғы (ұлттық әдіс) немесе соған ұқсас басқа материалдан жасалған, Кьельдаль колбасымен (6.8) өзара байланыстырылған тамшы ұстағыштар мен ішкі және сыртқы түтіктері бар тоңазытқыштан тұрады. Байланыстыратын түтіктер және тығындар тығыздалған болуы тиіс және мүмкіндігінше полихлоропреннен жасалған болуы тиіс.

Ескертпе – Жоғарыда келтірілген айдауға арналған құрылғылар Парнас-Вагнер[1)] су буы айдауға арналған аппараты және басқа осыған ұқсас құрылғылармен жабдықталған болуы тиіс.

6.12 Қалайы қорытпасынан әзірленген блокты минералдандыру (блокты минералдау әдісі) немесе температураны реттегіші бар және блоктың температурасын өлшейтін құрылғысы бар баламалы блок.

6.13 сыйымдылығы 250 мл болатын, минералдау блогымен бірге қолдануға арналған минералдауға арналған түтіктер (блокты минералдау әдісі) (6.12).

6.14 Минерализациялауға арналған түтіктерді қолдануға арналған шығарушы коллектор (блокты минералдау әдісі) (6.13).

6.15 Сумен жабдықтау желілеріне қолдануға арналған қышқылға төзімді материалдан жасалған скруббер немесе су сорғысы немесе аспиратор (блокты минералдау әдісі).

6.16 Сыйымдылығы 50 $см^3$, 250 $см^3$ және 1000 $см^3$ болатын бір белгісі бар өлшеу колбалары.

6.17 Булы дистиляция қабілеттілігі бар айдау құрылғылары (блокты минералдау әдісі), қолмен немесе жартылай автоматты, сыйымдылығы 250 $см^3$ (6.13) болатын және сыйымдылығы 500 $см^3$ (6.5) болатын конус колбалар.

6.18 pH-метрмен жабдықталған автоматты титрлеуіш.

Калибрлеу әдісі бойынша pH-метр 4 pH бастап 7 pH дейін болатын диапазонда калибрленген болуы тиіс. Автоматты титрлеуішті бюретка 6.6. талаптарына сай болуы тиіс.

6.19 Шпатель немесе соған ұқсас аспап.

---

1) Парнас-Вагнер сатылымда бар Кьельдаль әдісі бойынша айдау үшін қолданылатын шыны ыдыс конфигурациясының мысалы болып табылады. Берілген ақпарат осы өнімнің ISO немесе IDF мақұлдауы болып табылмайды.

6.20 Құрамында азот жоқ фильтрленген, мөлшерлері бар және борпылдақ, сырдың сынамасына сәйкес келетін қағаз.

6.21 Қаракөленкелі магнитті бұлауыш.

7 Сынаманы іріктеу

Сынаманы іріктеу осы стандартта сипатталмаған. Сынаманы іріктеу нұсқаулықтары [1] берілген.

Зертханаға өз құрамын жоғалтпаған және тасымалдау және сақтау кезінде зақымдалмаған ұсынылатын сынаны жібереді.

8 Талданатын өнімнің сынамасын дайындау

8.1 Тұтас, ішінара майсыздандырылған немесе майсыздандырылған табиғи сүт.

Ұқсас сынаманы 38°С бастап 40 °С дейін температурада қалыптастырылған су моншасында қыздырады (6.1). Сынама салынған ыдысты айналдыра отырып көбіктендірмей және араластырмай сынаны мұқият араластырады. Сынаны бөлме температурасына дейін салқындатады.

9.1 немесе 9.2 көрсетілгендей жалғастырады.

8.2 Қатты, жартылай қатты балқытылған ірімшік.

Оның әдетте қолданатындай ірімшік үлгісінің репрезентативтілігін қамтамасыз ету үшін талданатын ірімшік тілімінің тұтқыр немесе көгерген бетін алып тастайды.

Ұсақтайтын құрылғы арқылы (6.7) көмегі арқылы талданатын сынаманы ұсақтайды. Барлық массаны дереу араластырады және мүмкіндігінше массаны қайтадан ұсақтайды. Талданатын үлгіні ұсақтағаннан кейін дереу зерттеуге алады.

Шпательді қолдана отырып дайындалған ұсақталған ірімшіктің (6.19) талап етілетін көлемін (А.1 кесте) сүзгі қағазында өлшенген (6.20) жүзеге асырады. Ірімшікті сүзгіш қағазға салады және ірімшік бар сүзетін қағазды Кьелбдаль колбасы негізінде (6.8) немесе минералдауға арналған пробиркаға 9.1.1 немесе 9.2.1 көрсетілгендей етіп салады.

Ескертпе – Сүзгі қағазын пайдалану блокты минералдау кезінде көбіктенудің пайда болуына әсер етуі мүмкін. Осыдан құтылу үшін блокты минералдау пайдаланған кезде (9.2) сүзгі қағазы үлгіні өлшеу әдісі арқылы алынып тасталуы тиіс, ірімшік сынасы мен түтікті өлшей отырып, бос түтікті өлшеп және ірімшік массасы мен түтікті бос сыйымдылықтан шығарып есептеу жолымен өнімнің массасын анықтайды .

8.3 Құрғақ сүт немесе құрғақ сүттен алынған өнімдер

Үлгінің ішкі көлемінен шамамен екі есе үлкен болатын контейнерге орналастырар алдында талданатын сынаманы 20 °С және 25 °С арасындағы температураға жеткізу керек. Үлгідегі ылғалдылық мөлшерінің өзгеруін болдырмас үшін контейнерді дереу жабу керек. Контейнерді бірнеше мәрте айналдыра отырып және аудара отырып сынаманы мұқият араластырады.

9.1 немесе 9.2 көрсетілгендей жалғастырады.

9 Өлшеу жүргізу

9.1 Ұлттық әдіс

9.1.1 Алдын ала дайындық

Таза және құрғақ Кьельдаль колбасына (6.8) қайнатуды жеңілдететін (6.9), 5 бастап 10 дейін болатын көмекші материалды қосады, 5,0 г сульфат калий қосады (5.1), 1,0 мл мыс сульфат ерітіндісін (II) (5.2), мөлшері А.1 кестесінде көрсетілгендей дайындалған

талданған сына (8.1, 8.2 немесе 8.3), дәлдігі 0,1 мг бастап және 25 мл болатын күкірт қышқылы (5.3). Күкірт қышқылын колбаның аузында қалған сульфат калий немесе сыналатын сынаманы, мыс сульфат ерітіндісін (II) жуу үшін пайдаланады. Кьельдаль колбасы ішіндегісін мұқият араластырады. Балама ретінде мынадай шарттар негізінде 5.1 және 5.2 сатылымда бар 15 г калий сульфаты және 0,05 г мыс (II) пентагидрат сульфаты бар таблеткалар қолданылуы мүмкін

a) таблеткалардағы калий сульфатының мөлшері бүтін таблетканың бүтін санын қолдану арқылы пайдаланып таратылған және құрамында қышқылдың қатынасына алғанда тұз болатындай (5.3) жүзеге асады. Мысалы әрқайсысында 5 г калий сульфаты бар үш таблетка 20 мл күкірт қышқылымен бірге пайдаланылған болуы мүмкін (5.3);

b) құрамында уытты метал жоқ таблеткалар сынап және селен.

9.1.2 Белгілеу

9.1.2.1 Минералдау

Минералдауды бастау алдында газды айдау аппаратын қосады (6.10). Минералдауға арналған аппаратта көмірленген минерализат Кьельдаль колбасының аузына дейін көбік шығармау үшін ең кіші мөлшерде қойылған Кьельдаль колбасын және оның ішіндегісін қыздырады (9.1.1). Қыздыру процесі кезінде минералдауды колбада ақ булар пайда болғанша 20 мин бойы минералдайды. Қыздыру көлемін 6.10 анықталған ең үлкен мөлшерге дейін термореттегішпен көбейтеді және қыздыруды 15 минут бойы жалғастырады. Қыздыру көлемін 6.10 анықталған ең үлкен мөлшерге дейін термореттегішпен көбейтеді. Осыдан кейін минерализат таза болған кезде (ашық-көк-жасыл түс) қыздыруды бекітілген режимге байланысты 1 сағаттан 2,5 сағатқа дейін жалғастырады. Минералдаудың жалпы уақыты 1,8 с және 3,25 с аралығында болуы тиіс.

Қайнаудың қажетті уақытын анықтау үшін талдауға қойылатын қажеттіліктер белгілі зертханаларда құрылғылардың қажетті қондырғыларын пайдалана отырып сараптама үшін құрамында ақуыз және майдың үлкен мөлшері бар сүт үлгілерін таңдап алуы керек және тазалаудан кейін қайнаудың әртүрлі уақытын пайдалана отырып (1 с бастап 2,5 с дейін) ақуыздың деңгейін анықтау керек. Ақуыздың орташа мәнін анықтағаннан алынған нәтиже қайнау уақыты жоғарылаған сайын ол да үлкейе береді, егер қайнау уақыты өте ұзақ болатын болса тұрақты болып тұрады одан кейін азаяды. Ақуыздың қажетті деңгейін алу үшін қайнаудың осындай уақытын таңдау қажет болып табылады.

Минералдаудан кейін алынған минерализат таза болуы тиіс. Минерализатты жеке сорғыш шкафта шамамен 25 мин бөлме температурасына дейін салқындатады. Егер колба ыстық қыздырғыштарда салқындайтын болса бөлме температурасына дейін салқындау уақыты тым ұзақ болып кетеді. Салқындатылған минерализатта салқындатудан кейін колба түбінде үлкен емес кристалдар болуы тиіс және ол сұйық болуы тиіс. Сұйытылмаған минерализатты колба түбінде түнімен қалдыруға болмайды. Сұйытылмаған минерализат осы уақыт ішінде кристалдануы мүмкін және кристандалған минерализатты ерітіндіге қайта салу мүмкін емес болады.

Ескертпе – 25 минуттан кейін жоғары мөлшерде минерализациялану минералдау кезінде қышқылды өте көп мөлшерде жоғалту болып табылады және сараптаманың төмендетілген мәндерінде көрініс табуы мүмкін. Қышқылдың өте көп мөлшерде жоғалуына газдарды көп мөлшерде сорып алу немесе минерализациялау уақытының тым ұзақтығы болып табылады..

Сыйымдылығы 500 $см^3$ болатын Кьелдаль колбасына немесе 300 мл суды құяды немесе сыйымдылығы 800 $см^3$ болатын Кьелдаль колбасына 300 мл су құяды. Қосар алдында колба ауызын сумен жуады. Кристалдардың еріп кетуі үшін ішіндегісін мұқият араластырады. Айдау алдында қоспаны бөлме температурасына дейін салқындатады.

Ерітілген минерализатты жауып айдауға дейін қалдырып қоюға болады.

9.1.2.2 Айдау

Салқындатқыш суды айдауға арналған құрылғыда қосады (6.11). Кьелдаль колбасының аузының беткі қабатына ерітіндіні колба түбінде қабат түзілу үшін мұқият құя отырып сұйытылған минерализатқа (9.1.2.1) 75 мл натрий гидро тотығын қосады (5.4). Ерітінділер арасында айқын шекара болуы тиіс. Натрий гидро тотық ерітіндісін құйғаннан кейін аммоний жоғалуын азайту үшін Кьелдаль колбасын айдау құрылғысына дереу жалғайды (6.11). Колбада ерітіндіге айырық жіктерге жоғалуға Кьельдалға дейін колбада ішіндегісі айналма қозғалыстармен мұқият араластырады. Жылтқышқа колбаны орналастырады. Колба ішіндегісі қайнау үшін оны жылытқышқа жалғастырады. Бір қалыпты қайнау басталғанша (бұрқылдау), айдауды жалғастырады, және колба содан соң Кьельдал колбасын ажыратады және жылтқышты сөндіреді. Салқындатқыш суды сөндіреді. Түтік ұшының ішінен және сыртынан жуады және сумен конденсаттың шығуын сырттан, конустық колбаға суды қотарып, және конденсатпен араластырады.

Бір қалыпты қайнаудың (бұрқылдаудың) бастауының алдында 150 мл дистилляттың жанында жинау керек үшін, айдаулар дәреже сондай болуға тиісті. Конустық колба ішіндегісінің ортақ көлемі 200 мл болуы керек. Егер алынған дистилляттың көлемі 150 мл аз боатын болса еруге арналған минерализат үшін 300 мл кем емес су қосады. Конустық колбалар ішіндегісінің температурасы титрлеуде колометрикалы соңғы нүктеде қолдануда айдаулар уақытты 35 °С аспау үшін, конденсатордың тиімділігі сондай болуға тиісті.

9.1.2.3 Титрлеу

Конустық колбалар ішіндегісін бюретканы (6.6). қолданып тұз қышқылы ерітіндімен (9.1.2.2) титрлейді (5.7) Соңғы нүкте ішіндегісі қызғылт түс пайда болғанда белгіленеді. Ең жақын бөлуге бюреттер көрсетулері ескеру өту керек 05 $см^3$. Қаракөлеңкелі магнитті бұлауыш көмегімен соңғы нүктені белгілеп алу керек.

Титрлеудің басқа әдістері: тұз қышқылдары (9.1.2.2) ерітіндісімен конустық колбалар ішіндегісін титрлейді (5.7), (6.18) pH-метрмен жабдықталған калибрленген титрлеуді қолдана отырып титрлейді. pH мәні титрлеу нүктесінің соңында 4,6 жетеді (майыстыру нүктесі). Автоматты титрлеуіште титрлеуге өткен ерітіндінің сандары көрсетулері белгіленеді.

Ескертпе

1 Қызғылт түстің алғашқы пайда болуы осы әдісте белгіленген 4%-ды индикация жүйесі үшін pH 4,6 және 4,3 арасында бақыланады. Практикада pH шамасы қосылған 0,1 N HCl өте тез өзгереді. pH 4,6 бастап 4,3 дейінгі шамаға өзгерту үшін 0,05 мл 0,1 N HCl үшін қажет болады.

2 Осы әдісті орындау үшін зертханалық ішкі және зертхана арлаық статистика үшін соңғы нүктенің түстік фиксациясының осындай титрлеуішінде анықталды. Сараптаманың нақты нәтижелерін салыстыра отырып, pH 4,6 соңғы нүктесінен алынған бос талдамаларды да қоса отырып олардың арасында айтарлықтай айырмашылықтың жоқ екендігін көрсетеді.

9.2 Блокты минералдау әдісі

9.2.1 Алдын ала дайындау

Минерализацияға арналған таза және құрғақ түтікке (6.13) 12,0 калий сульфатын (5.1), 1,0 мл мыс сульфатының ерңтңндңсңн (II) (5.2) талданатын сыналар саны (8.1, 8.2 немесе 8.3) А.1 кестесінде көрсетілгендей 0, 1 мг дәлдікке дейін және 20 мл күкірт қышқылын қосады (5.3). Күкірт қышқылын колбаның аузында қалған сульфат калий немесе сыналатын сынаманы, мыс сульфат ерітіндісін (II) жуу үшін пайдаланады. Түтік ішіндегісін ішіндегісін мұқият араластырады.

Ескертпе – Блокты минералдау жүйелерінде қышқылдың көлемі 20 мл көбірек болады және минералдау кезінде қатты көбіктену бөлінеді және әртүрлі нәтижелер береді. Блокты минералдауды

қолданушыларға қалған күкірт қышқылын ың қажетті деңгейін ұстап тұру үшін минералдау соңында блокты минералдау зертханашы үшін көп көңіл бөлуді қажет етеді. Бу аспирацияның шектен шығып кетуінен қышқыл көлемінің көп жоғалуы блокты минералдау кезінде ұлттық жүйелерге қарағанда көп көңіл бөлуді қажет етеді.

Балама ретінде мынадай шарттар негізінде 5.1 және 5.2 сатылымда бар 15 г калий сульфаты және 0,05 г мыс (II) пентагидрат сульфаты бар таблеткалар қолданылуы мүмкін

a) таблеткалардағы калий сульфатының мөлшері бүтін таблетканың бүтін санын қолдану арқылы пайдаланып таратылған және құрамында қышқылдың қатынасына алғанда тұз болатындай (5.3) жүзеге асады. Мысалы әрқайсысында 5 г калий сульфаты бар үш таблетка 20 мл күкірт қышқылымен бірге пайдаланылған болуы мүмкін (5.3);

b) құрамында уытты метал жоқ таблеткалар сынап және селен.

9.2.2 Белгілеу

9.2.2.1 Минералдау

Көбіктенуді бақылау үшін төменгі бастапқы температурады блокты минерализатор орнатады (6.12) (шамамен 180 °С бастап 230 °С дейін). Пробирканы блокты минерализаторға ауыстырады және пробирканың жоғары жағында орналасқан скруббермен (6.15) бірге шығарушы коллекторға орналастырады (6.14). Скрубберді сору жылдамдығы немесе ұқсас құрылым буларды жою үшін жеткілікті болуы тиіс.Минералдауға арналған құрылғы мүмкіндігінше сору шкафының ішінде орналасқан болуы тиіс.

Көбіктену мәселе туындатпайтын жағдайларда өлшендісі (9.2.1) бар минералдауға арналған пробирка (6.13) блокты минерализаторға ауыстырылуы мүмкін (6.12), бастапқыда 410 °С бастап 430 °С дейінгі температураға бағытталған ары қарай температуранры реттеусіз.

Сынаманы 30 мин ішінде минералдау керек немесе ақ булар пайда болғанша. Одан кейін блокты минерализатор температурасын 410 °С және 430 °С температура арасында жоғарылатады. Минералдауды минерализат таза болғанша жалғастыра береді.

Көбіктенуді бақылау үшін температураны жайлап шамамен 20 мин ішінде көтеруге болады. Қандай жағдай болмасын минералдауға арналған пробирканың жоғары бөлігінде орналасқан көбікті шығару коллекторының беткі қабатына 4-5 см артық шығуына жол бермеу керек.

Минерализат (шамамен көк-жасыл түсті) тазаланып болғаннан кейін минералдауды 1 сағат бойы 410 °С және 430 °С температурасында жалғастырады. Осы уақыт аралығында күкірт қышқылы қайнауы тиіс. Егер мөлдір сұйықтықта қайнау байқалмаса және беткі қабатында көпіршіктер ғана пайда болатын болса, онда блок температурасының өте төмен болғаны болып есептеледі.

Минералдаудың жалпы уақыты 1,75 сағаттан бастап 3 сағатқа дейін болуы мүмкін. Минералдау уақытының ұзақтығы көбіктенудің 410 °С төменгі температурасында минерализация бастапқы температура төмендеу жолымен тексеріледі.

Қайнаудың нақты уақытын анықтау үшін сараптама шарттары үшін қажетті талап етілетін нақты зертханада аппаратураның нақты жиынтығын қолдану арқылы талдама үшін сүттің үлгісін құрамында ақуыздың, майдың көп мөлшерде болатындай және тазалаудан кейін қайнаудың әртүрлі уақытын пайдалана отырып жүзеге асырады (қайнау уақыты 1 бастап 2,5 с дейін). Ақуыздың орташа мәнін анықтағаннан алынған нәтиже қайнау уақыты жоғарылаған сайын ол да үлкейе береді, егер қайнау уақыты өте ұзақ болатын болса тұрақты болып тұрады одан кейін азаяды. Ақуыздың қажетті деңгейін алу үшін қайнаудың осындай уақытын таңдау қажет болып табылады.

Минералдаудан кейін алынған минерализат таза болуы тиіс. Минерализатты жеке сорғыш шкафта шамамен 25 мин бөлме температурасына дейін салқындатады. Егер колба

ыстық қыздырғыштарда салқындайтын болса бөлме температурасына дейін салқындау уақыты тым ұзақ болып кетеді. Салқындатылған минерализатта салқындатудан кейін колба түбінде үлкен емес кристалдар болуы тиіс және ол сұйық болуы тиіс. Сұйытылмаған минерализатты колба түбінде түнімен қалдыруға болмайды. Сұйытылмаған минерализат осы уақыт ішінде кристалдануы мүмкін және кристандалған минерализатты ерітіндіге қайта салу мүмкін емес болады.

Ескертпе – 25 минуттан кейін жоғары мөлшерде минерализациялану минералдау кезінде қышқылды өте көп мөлшерде жоғалту болып табылады және сараптаманың төмендетілген мәндерінде көрініс табуы мүмкін. Қышқылдың өте көп мөлшерде жоғалуына газдарды көп мөлшерде сорып алу немесе минерализациялау уақытының тым ұзақтығы болып табылады..

Минерализат бөлме температурасына дейін салқындағаннан кейін, шамамен 25 мин ішінде шығарушы коллекторды шешіп алады және абайлап әрбір пробиркаға 85 мл су құяды. Одан кейін бәрін кристалдар түзілгенше араластырады. Пробирканың ішіндегісін бөлме температурасына дейін салқындағанша қояды.

9.2.2.2 Айдау

Салқындатқыш суды айдауға арналған құрылғыда қосады (6.11). Кьелдаль колбасының аузының беткі қабатына ерітіндіні колба түбінде қабат түзілу үшін мұқият құя отырып сұйытылған минерализатқа (9.1.2.1) 75 мл натрий гидро тотығын қосады (5.4). Ерітінділер арасында айқын шекара болуы тиіс. Натрий гидро тотық ерітіндісін құйғаннан кейін аммоний жоғалуын азайту үшін Кьелдаль колбасын айдау құрылғысына дереу жалғайды (6.11). Колбада ерітіндіге айырық жіктерге жоғалуға Кьельдаля дейін колбада ішіндегісі айналма қозғалыстармен мұқият араластырады. Жылтқышқа колбаны орналастырады. Колба ішіндегісі қайнау үшін оны жылытқышқа жалғастырады. Бір қалыпты қайнау басталғанша (бұрқылдау), айдауды жалғастырады, және колба содан соң Кьельдал колбасын ажыратады және жылтқышты сөндіреді. Салқындатқыш суды сөндіреді. Түтік ұшының ішінен және сыртынан жуады және сумен конденсаттың шығуын сырттан, конустық колбаға суды қотарып, және конденсатпен араластырады.

Бір қалыпты қайнаудың (бұрқылдаудың) бастауының алдында 150 мл дистилляттың жанында жинау керек үшін, айдаулар дәреже сондай болуға тиісті. Конустық колба ішіндегісінің ортақ көлемі 200 мл болуы керек. Егер алынған дистилляттың көлемі 150 мл аз боатын болса еруге арналған минерализат үшін 300 мл кем емес су қосады. Конустық колбалар ішіндегісінің температурасы титрлеуде колометрикалы соңғы нүктеде қолдануда айдаулар уақытты 35 °С аспау үшін, конденсатордың тиімділігі сондай болуға тиісті.

9.2.2.3 Титрлеу

Конустық колбалар ішіндегісін бюретканы (6.6). қолданып тұз қышқылы ерітіндімен (9.1.2.2) титрлейді (5.7) Соңғы нүкте ішіндегісі қызғылт түс пайда болғанда белгіленеді. Ең жақын бөлуге бюреттер көрсетулері ескеру өту керек 05 $см^3$. Қаракөлеңкелі магнитті бұлауыш көмегімен соңғы нүктені белгілеп алу керек.

Титрлеудің басқа әдістері: тұз қышқылдары (9.1.2.2) ерітіндісімен конустық колбалар ішіндегісін титрлейді (5.7), (6.18) pH-метрмен жабдықталған калибрленген титрлеуді қолдана отырып титрлейді. pH мәні титрлеу нүктесінің соңында 4,6 жетеді (майыстыру нүктесі). Автоматты титрлеуіште титрлеуге өткен ерітіндінің сандары көрсетулері белгіленеді.

Ескертпе

1 Қызғылт түстің алғашқы пайда болуы осы әдісте белгіленген 4%-ды индикация жүйесі үшін pH 4,6 және 4,3 арасында бақыланады. Тәжірибеде pH шамасы қосылған 0,1 N HCl өте тез өзгереді. pH 4,6 бастап 4,3 дейінгі шамаға өзгерту үшін 0,05 мл 0,1 N HCl үшін қажет болады.

2 Осы әдісті орындау үшін зертханалық ішкі және зертхана арлаық статистика үшін соңғы нүктенің

түстік фиксациясының осындай титрлеуішінде анықталды. Сараптаманың нақты нәтижелерін салыстыра отырып, pH 4,6 соңғы нүктесінен алынған бос талдамаларды да қоса отырып олардың арасында айтарлықтай айырмашылықтың жоқ екендігін көрсетеді.

9.3 Бақылау белгілері

Бақылау белгілерін тұз қышқылының стандартты ерітіндісін қолдана отырып жүзеге асырады (5.7) және бюреткалар (6.6) немесе pH-метлі (6.18) сынама талдауы үшін қолданылған автоматты титрлеуіш қолдана отырып жүзеге асырады. 9.1 немесе 9.2 сипатталған іс-шараларға сәйкес бақылау анықтамаларын жүргізеді. 9.2. Сыналатын сынаманы 5 мл суға және шамамен 0,85 г сахарозаға алмастырады (5.10).

Бақылау анықтамаларында жазбалар жүргізу шарт. Егер бақылау белгілерінде мәндер өзгертілген болса оның себептерін анықтау керек болады.

Берілген мақсаттарға сахароза су қосылмаған күйде 0,85 г мөлшеріндегі (5.10) сахароза қолданылады.

Ескертпе – сахарозаларға қажеті бар органикалық заттарға сапада сыналатын сынақтың орнына минерализациялау уақыты күкірт қышқыл жұту үшін анықтау бақылауын өткізеді. Егер аяғында минерализациялар қалдық босатылған күкіртті қышқылдар саны өте аз болса, әдістер қалдық бостылған қалпына келтірген азот сан бойынша 9.4.2 және 9.4.3 төмен болады. Барлық азотты қайтару үшін, соңында минерализациялар босаған қышқылдар сандар жеткілікті, бірақ сынақтан барлық азот босатын алу үшін, минерализациялау процесінде температура және уақыт жеткіліксіз болады, 9.4.2 бойынша босаған азоттың саны қолайлы болады, ал 9.4.3бойынша босатған азоттың саны жеткіліксіз болады.

Бақылау анықтауда қолданылатын титрант мөлшері, әрдайым нөлден көбірек болуға тиісті. Бір зертхананың ішінде бақылау анықтаулар уақыт бойынша сәйкес болуға тиісті. Кейде бос сынақ титрлеудің бастауының алдында қызғылт түсті болады. Мұндай жағдайларда конустық колбалар әдеттегідей таза болмайды немесе төменде жиналу үшін ағатындықтан оның ластануына әкеліп соғады. Бақылау анықтаулары кезінде алынған мәндер әдетте мәнді, тең немесе 0,2 мл төмен.

9.4 Қалпына келтіру процесінің талдауы

9.4.1 Әдістің дәлдігі қайта қалпына келтіру талдауының келесі әдістері арқылы жиі тексеріліп тұруы тиіс, олар 9.1 немесе 9.2 сәйкес жүзеге асырылады.

9.4.2 Сыналатын сынаманы қолдана отырып азоттың жоғалып кетпеуін тексереді ол 0,12 г аммоний сульфатынан (5.8) және 0,85 г сахарозадан тұрады (5.10).

Ескертпе –Аммоний сульфатының қайта қалпына кел процесін тексеру ақуыздың құрылымына кіретін азоттың босатылуына әсерін тиге ме жоқ па ол туралы ақпарат бермейді.

Қайта қалпына келтірілген азоттың пайызы барлық әдістер үшін 99 % артық емес болуы тиіс. Егер азотты қайта қалпына келтіру 99 % аз болатын болса, онда титрант концентрациясы белгіленген мәннен жоғары болады немесе минералдау немесе айдау кезінде азоттың жоғалуы болады.

Кьельдаль колбасында аммоний сульфат қоспасы мен күкірт қышқылының азғантай мөлшерін пайдалануға болады (қалдық өнімнің саны ол минералдаудан кейінгі қалдық болып саналады). Оны судың стандартты мөлерімен ерітеді, натрий гидро тотығы мен дистиллят стандартты мөлшерімен толықтырады. Егер қалпына келтірілген азоттың мөлшері аз ғана болатын болса, азоттың жоғалуы минералдау процесімен емес айдау аппаратына байланысты болып табылады. Мұның себебі ұлттық жүйеде герметикалық емес түтікшеге байланысты немесе конденсаторлардың ұштары бор қышқылына батырылмағандықтан болуы мүмкін. Аппарат 9.4.3 әдістемесі бойынша қайта қалпына келу процесі бойынша талданғанша тексеруден өткен болуы тиіс.

Егер азотты қайта қалпына келтіру 100 % асатын болса азот шығынын көру мүмкін

емес. Мұндай жағдайда себеп салдар мынадай болуы мүмкін:

a) аммоний сульфатының ластануы;

b) титранның оның бекітілген мәнінен төмен нақты концентрациясы;

c) бюретка мен титранның дұрыс калибрленбеуі;

d) титранның температурасы бюретка калибріне анағұрлым жоғары;

e) бюреттен шығатын титранның шығыны ең жоғары жылдамдықтан асып кетеді.

Қайта қалпына келтірудің теориялық ең үлкен мөлшері 100 % аспауы тиіс, максимумнан жоғары қайта қалпына келтіруді тәжірибеде өлшеудің дәл еместігінен алын,ған болуы мүмкін, яғни 99 % бастап 101 % дейін алынуы мүмкін. Егер қайтадан қалпына келтірудің орта мәні бірнеше сынақтардан алынған бойынша 100 % артық болатын болса оның себептері анықталған болуы тиіс.

Гидрохлорид лизиннің 0,16 г немесе триптофана (5.9) 0,18 г 9.4.3 0,67 г сахарозамен (5.10) бірге минералдау іс-шарасының тиімділігін анықтайды.

Ескертпе –Триптофан (5.9) табиғи сүтке арналған минералдаудың тиімділігінің қажетті көрсеткіші болып табылады, сонымен бірге ол құрғақ сүтке немесе құрғақ сүттен алынған өнімдердің қажетті көрсеткіші болып табылмайды; гидрохлорид лизин (5.9) құрғақ сүттен алынатын өнімдердің минералдау тиімділігінің басшы көрсеткіштерін алу үшін қолданылатын болып табылады.

Қалпына келтірілген азоттың массалық үлесі 98 % кем болмауы тиіс. Егер қалпына келтірілген азоттың массалық үлесі 98 % аз болатын болса және азотты аммоний сульфатын қолдана отырып қалпына келтіргеннен кейін оның массалық үлесі 99 % бастап 100 % дейін болатын болса бұл минералдау температурасының Кьелдаль колбасында толық емес немесе сынаманың толық минералданбағандығын білдіреді.

9.4.4 Қалпына келтіру процесінің кез-келген талдауындағы ең төмен деп саналатын нәтижелер (немесе 100,0 % қарағанда артық болатын 9.4.2) әдісте және/немесе тұз қышқылы ерітіндісінің дәл емес концентрациясын береді (5.7).

10 Есептеу және нәтижелерді ұсыну

10.1 Есеп

10.1.1 Азот деңгейін есептеу

Талданатын сынадағы азот деңгейі, w_n, мына өрнек бойынша есептеледі

$$w_n = \frac{1{,}4007 \times (V_s - V_b) \times M_t}{m} \qquad (1)$$

мұнда

w_n – сынадағы азоттың массалық үлесі, %;

V_s – тұз қышқылы ерітіндісінің көлемі (5.7), (9.1.2.3 немесе 9.2.2.3) анықтамасында шығындалған, см^3, 0,05 см^3 дәлдікте;

V_b – тұз қышқылы ерітіндісінің көлемі (5.7), бақылау анықтамасында шығындалған (9.3), см^3, 0,05 см^3 дәлдікте;

M_t – төртінші белгіге дейін айқындалған тұз қышқылының молярлығы (5.7). Егер күкірт қышқылын тұз қышқылына алмастыратын болса, M_t күкірт қышқылының дәл молярлығы болып табылады, 2 коэффицентке көбейтілген, төртінші белгіге дейін айқындалған;

m – талданатын сына массасы (9.1.1 немесе 9.2.1), г, дәлдігі 0,1 мг дейін болатын.

10.1.2 Шикі ақуыз деңгейін анықтау

Талданатын сынамадағы шикі ақуыз деңгейін мына өрнек арқылы есептейді $w_р$:

$$w_р = w_п \text{ Ч } 6{,}38 \qquad (2)$$

мұнда

$w_р$ – сынамадағы шикі ақуыздың массалық үлесі, %;

$w_п$ – сынамадағы азоттың массалық үлесі, %, үтірден кейін төрт белгі (10.1.1);

6,38 – азоттың массалық үлесінің ақуыздың массалық үлесіне қайта есептелген коэффициенті.

10.1.3 Қалпына келтіру процесінің есебі

Өрнекті қолдана отырып азоттың $R_п$ қалпына келуін есептеңіз:

$$R_n = \frac{w_n \times 100}{T_n} \qquad (3)$$

мұнда

R_n – азоттың қалпына келуі, %;

w_n – сынамадағы азоттың массалық үлесі, %;

T_n – азоттың теоретикалық массалық үлесі, %.

Аммоний сульфаты үшін азоттың теоретикалық массалық үлесі 21,20 %, триптофан - 13,72 % және гидрохлорид лизин - 15,34 % құрайды.

9.4 бөлімінде қалпына келтірудің төменгі шектері 5.7 және 5.8 көрсетілгендей ең кіші талдауға негізделген. Ешқандай да қосымша реактивтің тазалығына арналған шақтамалар қалпына келтіру есебі кезінде орындалмауы тиіс.

10.2 Нәтижелерді ұсыну

10.2.1 Жалпы ережелер

Алынған нәтижелер олардың қолданулары соңғы мәні алынғанға дейін дөңгелектенбеуі тиіс.

Кей жағдайларда мәндер ары қарай есептеулер үшін қолданылуы тиіс. Мысалдың бір түрі ішкі және зертханааралық сынақтардың статистика үшін талдаудан алынған есептеуге арналған сынақ жеке сынақтың мәнін қолдану болып табылады. Басқа мысал – егер де мәндер құралдарды калибреу кезінде стандартты болып қолданылатын болса (мысалы сүттің инфра қызыл талдауыштары), көп сынамалардың мәндері есептеу кезінде қолданылатын болса немесе күрделі регрессия кезінде.

Мұндай жағдайларда алынған нәтижелер ары қарай есептеулерге қолданбайынша дөңгелектенбеуі тиіс.

10.2.2 Азот деңгейі

Егер ары қарай есептеулер қажет болатын болса алынған нәтижелерді үтірден кейін төрт мәнді белгіге дейін өрнектейді. Соңғы әрі нақты нәтижелер алынған жағдайда үтірден кейін үш мәнге дейін өрнектейді.

10.2.3 Шикі ақуыз деңгейі

Егер ары қарай есептеулер қажет болатын болса алынған нәтижелерді үтірден кейін үш мәнді белгіге дейін өрнектейді. Соңғы әрі нақты нәтижелер алынған жағдайда үтірден кейін екі мәнге дейін өрнектейді.

11 Дәлме дәлдік

11.1 Зертхана аралық сынақтар

Қайталанушылық және ұдайы қайталанушылық шектерінің мәні [2] және [3]

құжаттарында келтірілген мәндерге сәйкес зертхана аралық сынақтар нәтижелеріне байланысты бекітілген [5], [6], [7], [8], [9], [10] құжаттарында келтірілген. Осы сынақ нәтижелері арқылы алынған мәндер концентрация диапазонына сәйкес келмеуі мүмкін және кестеде келтірілген мәндерден өзгеше болуы мүмкін.

11.2 Тұтас, ішінара майлы немесе майсыздандырылған табиғи сүт

11.2.1 Қайталанушылық

11.2.1.1 Сиыр сүті

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот құрамы бойынша 0,006 % (0,038 % шикі ақуыз), аспауы тиіс басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.2.1.2 Ешкі сүті

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот құрамы бойынша 0,0084 % (0,052 % шикі ақуыз), аспауы тиіс басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.2.1.3 Қой сүті

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот құрамы бойынша 0,0078 % (0,050 % шикі ақуыз), аспауы тиіс басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.2.2 Ұдайы қайталанулық

11.2.2.1 Сиыр сүті

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот құрамы бойынша 0,0077 % (0,049 % шикі ақуыз), аспауы тиіс басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.2.2.2 Ешкі сүті

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот құрамы бойынша 0,0131 % (0,084 % шикі ақуыз), аспауы тиіс басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.2.2.3 Қой сүті

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот құрамы бойынша 0,0114 % (0,073 % шикі ақуыз), аспауы тиіс басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.3 Қатты, жартылай қатты және балқытылған ірімшік

11.3.1 Қайталанушылық

Бір зертханаларда бір құрылғылар арқылы бір зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот 0,0489 % аспауы тиіс, мұнда M – екі нәтиженің ортақ мәні болып табылады, ол басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.3.2 Ұдайы қайталанушылық

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол азот құрамы бойынша 0,0670 % (0,428 % шикі ақуыз), аспауы тиіс басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.4 Құрғақ сүт және олардан алынатын өнімдер

11.4.1 Қайталанушылық

Бір зертханаларда бір құрылғылар арқылы бір зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол 0,013 *M* аспауы тиіс, мұнда *M* – екі нәтиженің ортақ мәні болып табылады, ол басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

11.4.2 Ұдайы қайталанулық

Әртүрлі зертханаларда әртүрлі құрылғылар арқылы әртүрлі зертханашылармен бірегей үлгіде бір әдісті қолдану арқылы алынған сынақ нәтижелерінің екі тәуелсіз нәтижелері арасындағы абсолютті айырмашылық, ол 0,013 *M* аспауы тиіс, мұнда *M* – екі нәтиженің ортақ мәні болып табылады, ол басқа жағдайлардан 5 % артық болып табылады.

12 Сынақ хаттамасы

Хаттамада мыналар болуы тиіс:

a) үлгіні толық идентификациялауға арналған барлық қажетті ақпараттар;

b) егер белгілі болса қолданылатын сынаманы іріктеу әдісі;

c) осы стандартқа сілтемелі қолданылатын сынақ әдісі;

d) Осы стандартта көрсетілмеген нәтижелерге әсер ететін немесе іріктеліп алынған кез-келген тұрлаусыз бөлшектері;

e) сынақтың алынған нәтижелері, егер де қайталанушылық пен ұдайы қайталанулық тексерілген болса соңғы алынған нәтиже.

А қосымшасы
(ақпараттық)

Талданатын сынама

А.1 кестесі – Кьельдаль әдісі бойынша сүт және сүт өнімдерінде азот деңгейін анықтау үшін талданатын өнімнің сынама мөлшері

Өнімнің атауы	Талданатын сынама мөлшері
Табиғи сиыр сүті, тұтас және майсыздандырылған	5 г ± 0,10 г
Табиғи ешкі сүті, тұтас	5 г ± 0,10 г
Табиғи қой сүті, тұтас	2,5 г ± 0,10 г
Қатты, жартылай қатты және балқытылған ірімшік	1 г ± 0,05 г
Құрғақ сүт және сүтті балалар тағамы	0,5 г ± 0,05 г
Сүтті ақуыз концентраты	0,25 г ± 0,05 г

В қосымшасы
(*ақпараттық*)

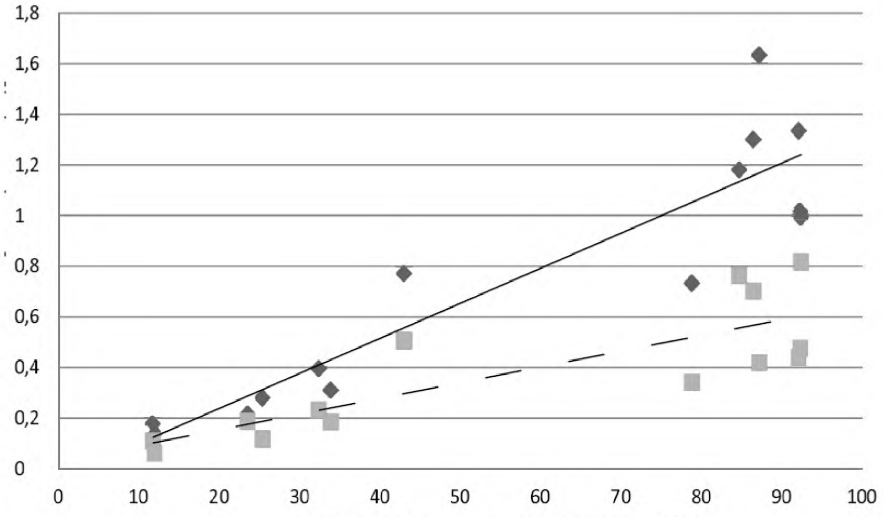
Бірлескен сынақтар

В.1 кесте – Кьельдаль әдісі бойынша сүт және сүт өнімдерінде (N x 6,38) пайыздық шикі ақуыздың статистикалық параметрлерінің бірлескен сынақтары, [5], [6], [7], [8], [9] **шығындыларымен бірге**

Материал	Статистикалық деректер						
	Ортақ мән, %	s_r	s_R	CV,r (%)	CV,R(%)	r	R
Табиғи сиыр сүті, тұтас және майсыздандырылған	3,395	0,014	0,017	0,39	0,50	0,038	0,049
Табиғи ешкі сүті, тұтас	4,807	0,018	0,030	0,37	0,62	0,052	0,084
Табиғи қой сүті, тұтас	5,398	0,018	0,026	0,35	0,49	0,050	0,073
Ірімшіктер	26,461	0,111	0,153	0,42	0,58	0,312	0,428

В.2 кесте - Кьельдаль әдісі бойынша сүт және сүт өнімдерінде (N x 6,38) пайыздық шикі ақуыздың статистикалық параметрлерінің бірлескен сынақтары, [10] **шығындыларымен бірге**

Материал	Статистикалық деректер						
	Ортақ мән, %	s_r	s_R	CV,r (%)	CV,R(%)	r	R
Тұтас құрғақ сүт (2000)	23,47	0,07	0,077	0,28	0,33	0,19	0,22
Тұтас құрғақ сүт (1995)	25,37	0,042	0,100	0,16	0,39	0,12	0,28
Майсыздандырылған құрғақ сүт (2004)	33,85	0,066	0,111	0,20	0,33	0,18	0,31
Майсыздандырылған құрғақ сүт (2009)	32,32	0,083	0,142	0,26	0,44	0,23	0,40
Балалар қоспасы (2011)	11,71	0,039	0,064	0,34	0,54	0,11	0,18
Балалар қоспасы (2010)	11,90	0,022	0,049	0,19	0,41	0,006	0,14
Сүтті ақуыз концентраты (1971)	42,98	0,181	0,275	0,42	0,64	0,51	0,77
Сүтті ақуыз концентраты (1992)	84,67	0,273	0,422	0,32	0,50	0,76	1,18
Сарысу ақуызының концентраты (2005)	78,8	0,122	0,262	0,15	0,33	0,34	0,73
Сарысу ақуызының концентраты (2002)	92,36	0,292	0,355	0,32	0,38	0,82	0,99
Казеин (2006)	86,45	0,251	0,464	0,29	0,54	0,70	1,30
Казеин (2001)	87,20	0,150	0,583	0,17	0,67	0,42	1,63
Казеинат (1988)	92,08	0,157	0,477	0,17	0,52	0,44	1,34
Казеинат (1984)	92,27	0,170	0,363	0,18	0,39	0,48	1,02



В.1 суреті- (%) [10] шикі ақуыз концентрациясының r және R қатынасы

Дәлме дәлдік мәні ақуыз концентрациясымен қатал шоғырландырылғандықтан салыстырмалы қайталанғыштықтар және ұдайы қайталанулықтар лайықты болып табылады.

Орташа салыстырмалы қайталанғыштық, r 0, 69 құрайды ал орташа салыстырмалы қайта өндірінгіштік, R 1, 28 құрайды.

Библиография

[1] ISO 707|IDF 50 Milk and milk products — Guidance on sampling (Сүт және сүт өнімдері – Сынаманы іріктеу бойынша нұсқаулық)

[2] ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions (Өлшеу әдістері мен нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстығы және дәлме дәлдігі) – 1бөлім: Жалпы принциптер мен анықтамалар)

[3] ISO 5725-2, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (Өлшеу әдістері мен нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстығы және дәлме дәлдігі) – 2-бөлім: Стандартты өлшеу әдістеріндегі қайталанғыштық пен қайталанудың негізгі әдістері)

[4] Parnas J.K., & Wagner R. U ber d ie Ausfuhrung von Bestimmungen k leiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl, Biochem. Z., 125, 1921, pp. 253–256 (Парнас Дж. К., и Вагнер Р. Кьельдаль әдісі бойынша азот деңгейін анықтау талдамасының орындалуы. Биохим. З., 125, 1921, 253-256 беттер)

[5] Barbano D.M., Clark J.L., Dunham C.E., Fleming J.R. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: Collaborative study. Journal of AOAC., 73, 1990 pp. 849–859 (Барбано Д.М., Кларк J.L, Данхэм С. Е, Флеминг Дж. Р., Сүт құрамында азоттың жалпы деңгейін анықтауға арналған Кьельдаль әдісі: бірлескен зерттеу. Журнал AOAC., 73, 1990 849-859 беттер)

[6] Lynch J.M., Barbano D.M., Fleming J.R. Performance evaluation of direct forced-air total solids and Kjeldahl total nitrogen methods: 1990 through 1995. Journal of AOAC., 80, 1997, pp. 1038–1043 (Линч Дж. М, Барбано Д.М., Флеминг Дж. Р., Кьельдаль бойынша жалпы азоттың және тікелей әуе кептірумен болған құрғақ қалдықты анықтауға арналған әдістерді бағалау, 1990-1995. Журнал AOAC., 80, 1997, 1038-1043 беттер)

[7] Lynch J.M., & Barbano D.M. Determination of the Total Nitrogen Content of Hard, Semihard and Processed Cheese by the Kjeldahl Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC.*, (85) 2, 2002, p. 445 (Линч Дж. М, Барбано Д.М., Кьельдаль әдісі ақылы қатты, жартылай қатты және балқытылған ірімшіктердегі азоттың жалпы деңгейін анықтау: бірлескен зерттеу. Журнал AOAC., (85) 2, 2002, 445 бет)

[8] Orlandini S ., Lattanzi L ., Paggi U ., Psathas G ., Leray O. Interlaboratory Collaborative Study on the Kjeldahl Reference Method for Nitrogen Determination in Goat Milk according to ISO 8968-1/2|IDF 20-1/2. Bull. Int. Dairy Fed., 440, 2009, pp. 15–24 (Орландини С., Латтанци Л., Пагги У., Псатас Г., Лере О. Кьельдаль әдісі бойынша ISO 8968-1/2 | IDF 20-1 / 2сәйкес ешкі сүтіндегі азоттың деңгейін анықтауға арналған зертханааралық бірлескен зерттеу. Сүт Федерациясы, 440, 2009, 15-24 беттер)

[9] Orlandini S., Psathas G., Leray O. Interlaboratory Collaborative Study on the Kjeldahl Reference Method for Nitrogen Determination in Sheep Milk according to ISO 8968-1/2|IDF 20-1/2. Bull.Int. Dairy Fed., 440, 2009, pp. 2–14 (Орландини С., Псатас Г., Лере О. Кьельдаль әдісі бойынша ISO 8968-1/2 | IDF 20-1 / 2 сәйкес қой сүтіндегі азоттың деңгейін анықтауға арналған зертханааралық бірлескен зерттеулер. Сүт Федерациясы, 440, 2009, 2-14 беттер)

[10] Johnson R., & Crawford R. Interlaboratory Collaborative Study on the Kjeldahl Reference Method for Nitrogen Determination of Dried Milk Products according to ISO 8968-1/2|IDF 20-1/2. Bull. Int. Dairy Fed., 459, 2012, pp. 2–14 (Джонсон Р., және Кроуфорд Р. Кьельдаль әдісі бойынша ISO 8968-1/2 | IDF 20-1 / 2 сәйкес құрғақ сүттегі азоттың деңгейін анықтауға арналған зертханааралық бірлескен зерттеулер. Сүт Федерациясы 459, 2012, стр. 2-14)

ӘОЖ 637.3.07.(08):006.354 **МСЖ 67.100.10**

Түйін сөздер: сүт және сүт өнімдері, азот деңгейін анықтау, Кьельдель әдісі, шикі ақуызды есептеу, сынаманы дайындау, әдістеме, сынақ нәтижелері, сынақ хаттамасы

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Молоко и молочные продукты
Определение содержания азота

Часть 1

МЕТОД КЬЕЛЬДАЛЯ И РАСЧЕТ СЫРОГО БЕЛКА

СТ РК ISO 8968-1-2014

(ISO 8968-1:2014 Milk and milk products - Determination of nitrogen content - Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation, IDT)

Издание официальное

Комитет технического регулирования и метрологии
Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан
(Госстандарт)

Астана

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН И ВНЕСЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» Комитета технического регулирования и метрологии

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан от 10.10.2014 года № 207-од

3 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 8968-1:2014 Milk and milk products -- Determination of nitrogen content -- Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation (Молоко и молочные продукты. Определение содержания азота. Часть 1. Метод Кьельдаля и расчет сырого белка)

Международный стандарт ISO 8968-1:2014 разработан подкомитетом SC 5 «Молоко и молочные продукты» Технического комитета ISO/TC 34 «Пищевые продукты» и Международной федерацией молочной продукции (IDF).

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного стандарта ISO 8968-1:2014, на основе которого подготовлен настоящий национальный стандарт и международные стандарты, на которые даны ссылки в тексте, имеются в Едином государственном фонде нормативных технических документов РГП «КазИнСт» Комитета технического регулирования и метрологии.

4 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ 2021 год
ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ 5 лет

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе «Нормативные документы по стандартизации Республики Казахстан», а текст изменений - в ежемесячных информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (отмены) или замены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Национальные стандарты».

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Молоко и молочные продукты Определение содержания азота Часть 1 МЕТОД КЬЕЛЬДАЛЯ И РАСЧЕТ СЫРОГО БЕЛКА

Дата введения 2016-01-01

Предупреждение - применение настоящего стандарта может включать в себя использование опасных материалов, процедур и оборудования. Настоящий стандарт не предусматривает рассмотрение всех проблем безопасности, связанных с его применением. Пользователь данного стандарта несет ответственность за соблюдением техники безопасности, охрану здоровья, а также за соблюдение требований национального законодательства.

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания азота и расчет сырого белка в молоке и молочных продуктах по методу Кьельдаля, используя традиционные методы и метод с использованием блочного минерализатора.

Методы распрастраняются на:

- натуральное коровье (цельное, частично обезжиренное или обезжиренное молоку), козье и цельное овечье молоко;
- твердые, полутвердый и плавленый сыры;
- сухое молоко и продукты из сухого молока (в том числе детского питания на основе молока, концентрата молочного белка, концентрата сывороточного белка, казеин и казеинат).

Данные методы не распространяются на продукты, содержащие казеинат аммония.

Примечание – Неточные результаты содержания сырого белка могут быть получены, если немолочные источники азота присутствуют в продуктах, указанных в настоящем стандарте.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы, следующие ссылочные документы. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения)

ISO 385 Laboratory glassware - Burettes (Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки).

ISO 8655-3 Piston-operated volumetric apparatus - Part 3: Piston burettes (Устройства мерные, приводимые в действие поршнем. Часть 3. Бюретки, приводимые в действие поршнем).

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Издание официальное

3.1 **Содержание азота** (nitrogen content): Массовая доля азота, определенная методом, установленным в настоящем стандарте.

Примечание - Содержание азота выражается в процентах.

3.2 **Содержание сырого белка** (crude protein content): Массовая доля сырого белка, рассчитанная, как указано в настоящем стандарте.

Примечание - Содержания сырого белка выражается в процентах.

4 Сущность метода испытания

Испытуемая проба минерализируется смесью концентрированной серной кислоты и сульфата калия, в качестве катализатора используется сульфат меди (II), при этом органический азот превращается в сульфат аммония. Сульфат калия применяется для повышения точки кипения серной кислоты и обеспечения более сильного окисления смеси при минерализации. Избыток гидроокиси натрия добавляется к охлажденному продукту для выделения аммония. Выделенный аммоний поглощается раствором борной кислоты, а затем титрируется соляной кислотой. Содержание азота рассчитывается по количеству полученного аммония.

5 Реактивы

Следует применять только химически чистые реактивы, дистиллированную и деминерализованную воду или воду эквивалентной чистоты.

Примечание - Растворы, указанные в данной процедуре, могут отличаться от тех, которые требуются для работы на автоматических титраторах. Работа, выполняемая лаборантом на них, должна выполняться по инструкции производителя.

5.1 Сульфат калия (K_2SO_4), не содержащий азота.

5.2 Раствор сульфата меди (II), $c(CuSO_4 \cdot 5H_2O)$ = 5,0 г/100 см^3.

Для растворения помещают 5,0 г сульфата меди (II) в колбу вместимостью 100 см^3. Приливают воду до метки и перемешивают.

5.3 Серная кислота (H_2SO_4) с массовой долей от 95 % до 98%, не содержащая азот (ρ_{20} = 1,84 г/см^3 приблизительно).

5.4 Раствор гидроксида натрия (NaOH), не содержащий азота, растворяют 50 г гидроокиси натрия в 100 г воды.

В автоматизированных системах перегонки, могут быть использованы другие массовые доли гидроксида натрия, при условии, что избыток гидроксида натрия распределяется в перегонную смесь; например, массовая доля 40 % раствора гидроксида натрия может использоваться вместо массовой доли 50 %, где имеется проблема закупоривания в автоматизированных системах. Общий объем раствора гидроксида натрия следует рассматривать в целях поддерживания соответствующих объемов перегонки.

5.5 Раствор индикатора

Для растворения 0,1 г метилового красного помещают в колбу с меткой 50 см^3(6.16). Приливают до метки 95 %-ный этанол и перемешивают. Для растворения 0,5 г бромкрезолового зеленого момещают в колбу с меткой 250 см^3(6.16). Приливают до метки 95%-ный этанол и перемешивают. Смешивают 1 часть метилового красного и 5 частей бромкрезолового зеленого.

5.6 Раствор борной кислоты $c(H_3BO_3)$ = 40,0 г/дм^3

Для растворения 40,0 г борной кислоты помещают в колбу с меткой 1000 см^3(6.16) и приливают около 1 л горячей водой. Охлаждают раствор до температуры 20 °С. Добавляют 3 мл раствора индикатора (5.5), объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Раствор должен быть светло-оранжевого цвета. Раствор хранят в затемненном месте и в плотно закрытой стеклянной посуде.

В автоматизированных системах перегонки после проверки могут быть использованы другие концентрации борной кислоты.

При использовании титрования с электронной фиксацией pH в конечной точке индикатор к борной кислоте можно не добавлять. Изменение цвета можно использовать для проверки правильности процедуры титрования.

5.7 Стандартный раствор соляной кислоты $c(HCl)$ = (0,1 ± 0,0005) моль/дм^3.

Рекомендуется приобрести готовый раствор, стандартизованный изготовителем, или использовать спецификацию. Часто, систематические ошибки (которые можно избежать), возникают при разбавлении лаборантом концентрированной кислоты и определении концентрации раствора, могут привести к снижению воспроизводимости метода. Лаборант не должен применять для титрования раствор с концентрацией более 0,1 моль/дм^3, так как при этом уменьшается общий объем, использованный на титрование пробы, и неопределенность показаний бюретки составит большой процент от объема. Вышеизложенное имеет негативное влияние на выполнение повторяемости и воспроизводимости.

Если серную кислоту заменить соляной кислоты, раствор должен иметь концентрацию (0,05 ұ 0,0003) моль/ дм^3.

5.8 Сульфат аммония $(NH_4)_2SO_4$, с массовой долей не менее 99,9 % в сухом веществе.

Непосредственно перед применением следует сульфат аммония высушить при температуре (102 ұ 2) °С не менее 2 ч и охладить до комнатной температуры в эксикаторе.

5.9 Триптофан ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) или гидрохлорид лизина ($C_6H_{15}ClN_2O_2$), минимальное содержание 99 % (массовая доля).

Перед применением не следует сушить эти реактивы в сушильном шкафу.

5.10 Сахароза с содержанием азота не более 0,002 % (массовая доля).

Перед применением не следует сушить сахарозу в сушильном шкафу.

6 Оборудование

Для испытаний используют следующее лабораторное оборудование:

6.1 Баня водяная, поддерживающая температуру от 38 °С до 40 °С.

6.2 Весы аналитические, с точностью взвешивания до 0,0001 г.

6.3 Бюретка или автоматическая пипетка с возможностью подачи объема 1,0 см^3 раствора сульфата меди (5.2).

6.4 Цилиндры мерные градуированные вместимостью 25 см^3, 50 см^3, 100 см^3 и 500 см^3.

6.5 Колбы конические вместимостью 500 см^3.

6.6 Бюретка автоматическая, вместимостью 20 см^3, с ценой деления не менее 0,004 см^3, отвечающая требованиям стандарта ISO 8655-3. В качестве альтернативы может быть использована бюретка вместимостью 50 см^3, с ценой деления 0,1 см^3, и соответствующая требованиям стандарта ISO 385, класса А для анализа молока.

Примечание - Бюретки с ручным управлением не имеют достаточной точности для достижения необходимого количества значащих цифр для всех других продуктов.

6.7 Устройство измельчающее

6.8 Колбы Кьельдаля, вместимостью 500 $см^3$ или 800 $см^3$. Применимые по спецификациям производителя к аппарату для минерализации и установки для отгонки (6.10 или 6.11).

6.9 Материал, облегчающий кипение, например, пористый материал, твердые кусочки фарфора или амфотерный оксид алюминия (например, карбонил) высокой очистки в гранулах, гладкий, размер ячейки 10. Не использовать материалы повторно.

Примечание – Могут быть использованы стеклянные шарики диаметром 5 мм, но они не могут обеспечить такое эффективное кипение, как гранулы оксида алюминия, и могут возникнуть проблемы во время процесса минерализации со вспениванием.

6.10 Аппарат для минерализации с системой отвода газов, удерживающий колбу Кьельдаля (6.8) с наклоном (около 45 °), снабженный электрическим нагревателем или газовыми горелками, которые обеспечивают нагрев содержимого колб.

Источник тепла должен быть отрегулирован, чтобы контроливать максимальный режим нагревателя во время минерализации. Для определения режима нагрева следует нагреть источник тепла. При использовании газового нагревателя период предварительного нагрева должен быть 10 мин, для электрического нагревателя – 30 мин. Для каждого из нагревателей следует определить режим нагрева, чтобы привести 250 мл воды, содержащей материл, облегчающих кипение, в количестве от 5 до 10, с начальной температурой 25 °С до точки кипения за время от 5 мин до 6 мин. Этот максимальный режим нагревателя необходимо использовать во время минерализации.

6.11 Установка для отгонки (традиционный метод), изготовленная из боросиликатного стекла или другого аналогичного материала, состоящая из соединными между собой колбы Кьельдаля (6.8), каплеуловителя и холодильника с прямой внутренней и выходной трубкой. Соединительные трубки и пробки должны быть плотно подогнаны и предпочтительно изготовлены из полихлоропрена.

Примечание – Установка для отгонки, упомянутая выше, может быть заменена аппаратом для перегонки с водяным паром Парнас-Вагнер[1)] или другим аналогичным оборудованием.

6.12 Минерализатор блочный из алюминиевого сплава (метод блочный минерализации) или эквивалентный блок, с регулятором температуры и устройством для измерения температуры блока.

6.13 Пробирки для минерализации (метод блочной минерализации), вместимостью 250 мл, пригодные для использования с минерализатором блочным (6.12).

6.14 Выпускной коллектор (метод блочной минерализации), для использования с пробирками для минерализации (6.13).

6.15 Скруббер или водяной насос или аспиратор (метод блочной минерализации), изготовленный из кислотостойкого материала, для использования в сети водоснабжения.

6.16 Мерные колбы, с одной меткой, вместимостью 50 $см^3$, 250 $см^3$ и 1000 $см^3$.

6.17 Установка перегонки (метод блочной минерализации), со способностью паровой дистилляции, ручной или полуавтоматической, для установки пробирок вместимостью 250 $см^3$ (6.13) и конических колб вместимостью 500 $см^3$ (6.5).

1) Парнас-Вагнер является примером конфигурации стеклянной посуды, используемой для отгонки по Кьельдалю, которая имеется в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей и не является одобрением ISO или IDF этого продукта.

6.18 Автоматический титратор, оснащенный pH-метром

pH-метр должен быть тщательно откалиброван в диапазоне от 4 pH до 7 pH по методике калибровки. Бюретка автоматического титратора должны соответствовать требованиям 6.6.

6.19 Шпатель или аналагичный инструмент.

6.20 Бумага фильтровальная, не содержащая азот, с размерами и пористостью, соответствующей пробе сыра.

6.21 Магнитная мешалка с подсветкой.

7 Отбор проб

Отбор проб не описан в настоящем стандарте. Рекомендации по методу отбора даны в [1].

В лабораторию направляют представительную пробу, не изменившую своих свойств и не поврежденную при транспортировании или хранении.

8 Подготовка пробы анализируемого продукта

8.1 Цельное, частично обезжиренное или обезжиренное натуральное молоко

Нагревают анализируемую пробу на водяной бане (6.1) установленную на температуру от 38°С до 40 °С. Осторожно перемешивают пробу, тщательно переворачивая емкость с пробой, не вызывая вспенивания или взбивания. Охлаждают пробу до комнатной температуры.

Продолжайте, как указано в 9.1 или 9.2.

8.2 Твердый, полутвердый и плавленый сыр

Снимают корку, вязкий или заплесневелый поверхностный слой сыра, так чтобы обеспечить репрезентативный анализируемый образец сыра, как он обычно потребляется.

Измельчают анализируемую пробу с помощью измельчающего устройства (6.7). Быстро перемешать всю массу и, предпочтительно, быстро измельчить массу повторно. Исследовать анализируемый образец сразу после измельчения.

Используя шпатель (6.19), взвесить требуемый объем (Таблица А.1) подготовленного измельченного сыра на предварительно сложенной, взвешенной фильтровальной бумаге (6.20). Положить сыр на фильтровальную бумагу и поместить фильтровальную бумагу, содержащую сыр, на основание колбы Кьельдаля (6.8) или пробирки для минерализации (6.13), как указано в 9.1.1 или 9.2.1.

Примечание - Использование фильтровальной бумаги может способствовать образованию пены в системах блочной минерализации. Чтобы избежать этого, при использовании метода с блочной минерализацией (9.2), фильтровальная бумага может быть отклонена путем взвешивания образца в подходящем сосуде, взвешивая пробу сыра и сосуд, повторно взвешивая пустой сосуд и определяя массу образца путем вычитания массы пустой емкости от массы сыра и сосуда.

8.3 Сухое молоко и продукты из сухого молока

Дать анализируемой пробе достигнуть температуры между 20 °С и 25 °С перед перенесением в контейнер с внутренним объемом примерно в два раза больше объема образца. Немедленно закрыть контейнер, чтобы избежать изменения содержания влаги в образце. Тщательно перемешайте пробу, многократно вращения и переворачивая контейнер.

Продолжайте, как указано в 9.1 или 9.2.

9 Проведение измерений

9.1 Традиционный метод

9.1.1 Предварительная подготовка

В чистую и сухую колбу Кьельдаля (6.8) помещают от 5 до 10 штук вспомогательного материала, облегчающего кипение (6.9), добавляют 15,0 г сульфата калия (5.1), 1,0 мл раствора сульфата меди (II) (5.2), подготовленную анализируемую пробу (8.1, 8.2 или 8.3), в количестве как указано в таблице А.1, взвешенную с точностью до 0,1 мг, и 25 мл серной кислоты (5.3). Серную кислоту используют для того, чтобы смыть раствор сульфата меди (II), сульфата калия или испытуемую пробу, оставшуюся на горловине колбы. Осторожно перемешивают содержимое колбы Кьельдаля.

В качестве альтернативы 5.1 и 5.2, могут быть использованы таблетки, имеющиеся в продаже, содержащих, например, 15 г сульфата калия и 0,05 г меди (II) пентагидрата сульфата, при условии

a) таблетки содержат такое количество сульфата калия, чтобы требуемое количество могло быть распределено с использованием целого числа целых таблеток, содержащих подобную соль (5.3) в отношении кислоты. Например, три таблетки, каждая содержащая 5 г сульфата калия, могут быть использованы с 20 мл серной кислоты (5.3);

b) таблетки, не содержащие соли токсичных металлов, таких как селен и ртуть.

9.1.2 Определение

9.1.2.1 Минерализация

Подключают систему отвода газов аппарата для минерализации (6.10) перед началом минерализации. Нагревают колбу Кьельдаля и ее содержимое (9.1.1) на аппарате для минерализации, используя нагреватель, установленный на минимуме, так, чтобы обугливший минерализат не поднимал пену до горловины колбы Кьельдаля. Продолжают минерализацию при нагревании в течение 20 мин до появления белых паров в колбе. Увеличивают нагрев терморегулятором на половину, максимального значения, определенного в 6.10, и продолжают нагревание в течение 15 мин. Увеличивают нагревание до максимального значения, определенного в 6.10. После того как минерализат станет чистым (светло-голубовато-зеленого цвета), продолжают нагревание в течение от 1 до 2,5 ч при максимально установленном режиме нагрева. Общее время минерализации должно быть между 1,8 ч и 3,25 ч.

Чтобы определить необходимое время кипение, необходимое для условий анализа в определенной лаборатории, используя индивидуальную установку приборов, необходимо выбрать для анализа образцы молока с высоким содержанием белка, жира и определить содержание белка, используя различное время кипения (от 1 до 2,5 ч) после очистки. Результат при определении среднего значения белка увеличивается с увеличением времени кипения, становится постоянным и затем уменьшается, если время кипения слишком длительное. Необходимо выбрать такое время кипения, чтобы получить максимальное значение содержание белка.

Минерализат в конце минерализации должен быть чистым. Охлаждают минерализат до комнатной температуры в открытой колбе в отдельном вытяжном шкафу около 25 мин. Если колба остается остывать на горячих нагревателях, понадобится больше времени, чтобы достичь комнатной температуры. Охлажденный минерализат должен быть жидким с небольшими кристаллами на дне колбы в конце охлаждения в течение 25 мин. Не следует оставлять неразбавленный минерализат в колбах на ночь. Неразбавленный минерализат может кристаллизоваться за это время, и будет очень трудно перевести закристаллизованный минерализат обратно в раствор.

Примечание – Повышенная кристаллизация после 25 мин является результатом чрезмерной потери

кислоты во время минерализации и может выразиться в заниженных значениях результатов анализа. Чрезмерная потеря кислоты вызвана повышенным отсасыванием газов или слишком длительным временем минерализации, вызванным неточным установлением режима максимального нагрева.

Добавляют 300 мл воды в колбу Кьельдаля вместимостью 500 $см^3$ или 400 мл воды в коблу Кьельдаля вместимостью 800 $см^3$. При добавлении промывают горловину колбы водой. Содержимое тщательно перемешивают, чтобы кристаллы растворились. Охлаждают смесь до комнатной температуры перед отгонкой. Растворенный минерализат можно закрыть и оставить для отгонки.

9.1.2.2 Отгонка

Включают охлаждающую воду в установке для отгонки (6.11). Добавляют 75 мл гидроокиси натрия (5.4) к разбавленному минерализату (9.1.2.1), осторожно приливая раствор на наклонную поверхность горловины колбы Кьельдаля для формирования слоя на дне баллона колбы. Должна быть четкая граница между растворами. Для уменьшения потери аммония после приливания раствора гидроокиси натрия, колбу Кьельдаля быстро присоединяют к установке для отгонки (6.11). Наконечник трубки выхода конденсата погружают в 50 мл раствора борной кислоты (5.6), содержащего в конической колбе (6.5). Тщательно перемешайте круговыми движениями содержимое в колбе Кьельдаля до исчезновения разделенных слоев раствора в колбе. Устанавливают колбу на нагреватель. Включают нагреватель так, чтобы содержимое колбы закипело. Продолжают отгонку до тех пор, пока не начнется неравномерное кипение (бурление), и затем немедленно отсоединяют колбу Кьельдаля и выключают нагреватель. Выключают охлаждающую воду. Промывают внутри и снаружи наконечник трубки выхода конденсата водой, сливая воду в коническую колбу, и смешивают с конденсатом.

Степень отгонки должна быть такова, чтобы собрать около 150 мл дистиллята перед началом неравномерного кипения (бурления). Общий объем содержимого конической колбы должен составлять около 200 мл. Если объем полученого дистиллята меньше 150 мл, вполне вероятно, что к минерализату для растворения было добавлено менее 300 мл воды. Эффективность конденсатора должна быть такой, чтобы температура содержимого конической колбы не превышала 35 °С во время отгонки при применении колометрической конечной точки титрования.

9.1.2.3 Титрование

Содержимое конической колбы (9.1.2.2) титруют раствором соляной кислоты (5.7), используя бюретку (6.6). Конечная точка фиксируется при первом появлении розового цвета содержимого. Отметить показания бюретки к ближайшему делению 0,05 $см^3$. С помощью магнитной мешалки с подсветкой (6.21) зафиксировать конечную точку.

Другой метод титрования: содержимое конической колбы (9.1.2.2) титрируют раствором соляной кислоты (5.7), используя откалиброванный титратор, оснащенный pH-метром (6.18). Значение pH достигает 4,6 в конечной точке титрования, что соответствует начало крутого излома титрования (точка перегиба). На автоматическом титраторе отмечают показания количества раствора, прошедшего на титрование.

Примечания

1 Первое появление розового цвета наблюдается между pH 4,6 и 4,3 для системы индикации и 4%-ного раствора борной кислоты, установленного в этом методе. На практике величина pH в зависимости от добавленного 0,1 N HCl меняется очень быстро. Требуется около 0,05 мл для 0,1 N HCl, чтобы изменить pH на 0,3 единицы в области от 4,6 до 4,3.

2 Статистика внутрилабораторного и межлабораторного выполнения данного метода была определена с использованием титратора цветовой фиксации конечной точки. Сравнивая окончательные результаты анализа, включая холостые анализы, полученные с конечной точкой pH 4,6 на таком же титраторе цветовой фиксации конечной точки, показали, что статистически нет значительной разницы между ними.

9.2 Метод блочной минерализации

9.2.1 Предварительная подготовка

В чистую и сухую пробирку для минерализации (6.13) помещают 12,0 г сульфата калия (5.1), 1,0 мл раствор сульфата меди (II) (5.2), количество анализируемой пробы (8.1, 8.2 или 8.3), как указано в таблице А.1, взвешенной точностью до 0,1 мг и 20 мл серной кислоты (5.3). Серную кислоту используются для того, чтобы смыть раствор сульфата меди (II), сульфата калия или испытуемую пробу, оставшуюся на верхних стенках пробирки. Осторожно перемешивают содержимое пробирки.

Примечание - Объемы кислоты больше, чем 20 мл в системах блочной минерализации дают обильное вспенивание во время минерализации и разные результаты. Пользователям блочными минерализаторами необходимо обратить внимание на то, что поддержание достаточного уровня остаточной серной кислоты в конце минерализации требует большего внимания лаборанта в блочной минерализации, чем в традиционных системах. Потеря большого объема кислоты из-за чрезмерной аспирации паров вызывает большое беспокойство в блочных минерализаторах, чем в традиционных системах.

В качестве альтернативы 5.1 и 5.2, могут быть использованы таблетки, имеющиеся в продаже, содержащих, например, 3,5 г сульфата калия и 0,105 г меди (II) пентагидрата сульфата и 0,105 диоксид титана, при условии:

a) таблетки содержат такое количество сульфата калия, чтобы требуемое количество могло быть распределено с использованием целого числа целых таблеток, содержащих подобную соль (5.3) в отношении кислоты. Например, три таблетки, каждая содержащая 3,5 г сульфата калия, могут быть использованы с 20 мл серной кислоты (5.3);

b) таблетки не содеражат соли токсичных металлов, таких как селен и ртуть.

9.2.2 Определение

9.2.2.1 Минерализация

Установить блочный минерализатор (6.12) при низкой начальной температуре для контроля вспенивания (примерно между от 180 °С до 230 °С). Перенести пробирку в минерализатор блочный и разместить в выпускном коллекторе (6.14), который соединен со скруббером (6.15), в верхней части пробирки. Скорость всасывания скруббера или аналогичного устройства должна быть достаточной, чтобы удалить пары. Устройство для минерализации по возможности должно находиться внутри вытяжного шкафа.

В случаях, когда вспенивание не вызывает проблем, пробирка для минерализации (6.13) с навеской (9.2.1) может быть перенесена в минерализатор блочный (6.12), изначально настроенный на температуру от 410 °С до 430 °С без дальнейшего регулирования температуры.

Минерализовать пробу в течение 30 мин или до образования белых паров. Затем повышают температуру минерализатора блочного между 410 °С и 430 °С. Продолжить минерализацию пробы до тех пор, пока минерализат не станет очищенным.

Для контроля вспенивания необходимо можно постепенно повышать температуру в течение около 20 мин. В любом случае, не позволяйте пене подняться выше 4 - 5 см поверхности выпускного коллектора, установленной в верхней части пробирки для минерализации.

После того, как очиститься минарализат (немного светло синевато-зеленого цвета), продолжают минерализацию при температуре между 410 °С и 430 °С в течение 1 часа. В течение этого периода времени, серная кислота должна кипеть. Если кипение прозрачной жидкости не является очевидной, в виде образование пузырьков на поверхности горячей жидкости по периметру пробирки, то температура блока может слишком низкая.

Общее время минерализации может быть от 1,75 ч до 3 ч. Более длительное время минерализации будет необходимо для тех продуктов, где вспенивание контролировалось

путем понижения начальной температуры минерализации ниже 410 °С.

Чтобы определить конкретное время кипения, требуемое для условий анализа в конкрентной ларатории с использованием конкретного набора аппратуры, необходимо выбрать для анализа образец молока с высоким содержанием белка, жира и определить содержание белка, используя различное время кипения (от 1 до 2,5 ч) после очистки. Результат при определении среднего значения белка увеличивается с увеличением времени кипения, становится постоянным и затем уменьшается, если время кипения слишком длинное. Необходимо выбрать такое время кипения, которое чтобы дает максимальное значение содержание белка.

Минерализат в конце минерализации должен быть чистым. Извлечь пробирку из блока вместе с выпускным коллектором.

Охлаждают минерализат до комнатной температуры около 25 мин. Охлажденный минерализат должен быть жидким с небольшими кристаллами на дне колбы в конце охлаждения. Не следует оставлять неразбавленный минерализат в колбах на ночь. Неразбавленный минерализат может кристаллизоваться за это время, и будет очень трудно перевести закристаллизованный минерализат обратно в раствор.

Примечание – Повышенная кристаллизация после 25 мин является результатом чрезмерной потери кислоты во время минерализации и может выразиться в заниженных значениях результатов анализа. Чрезмерная потеря кислоты вызвана повышенным отсасыванием газов или слишком длительным временем минерализации, вызванным минерализацией в течение слишком длительного периода при температуре ниже максимальной температуры анализа. Для уменьшения потери кислоты, снизить скорость аспирации дыма.

После того, как минерализат остынет до комнатной температуры примерно за 25 мин, снять выпускной коллектор и аккуратно добавить 85 мл воды в каждую пробирку. Тщательно смешивать содержимое, до растворения кристаллов. Дать содержимому пробирки охладиться до комнатной температуры.

9.2.2.2 Отгонка

Включите конденсатор воды в установке для отгонки. Присоединить пробирку для минерализации, содержащей разбавленный минерализат, с автоматическим титратором (6.18). Поместить коническую колбу (6.5), содержащую 50 мл раствора борной кислоты (5.6) при выходе из конденсатора, таким образом, чтобы выпускное отверстие находилось ниже поверхности раствора борной кислоты. Отрегулировать устройство перегонки (6.17) для подачи раствора гидроксида натрия (5.4) объемом 55 мл.

В случаях, когда используется 40% раствор гидроксида натрия, подаваемый объем должен быть отрегулирован до 65 мл. При автоматической доставке раствора гидроксида натрия, если частично закупорена нагнетательная трубка для подачи гидроксида натрия, может быть большая разница в паралельных результатах изменения.

С учетом инструкций изготовителя, работать с установкой таким образом, чтобы выделить аммиак, освобожденный при добавлении раствора гидрооксида натрия, собирая дистиллят в раствор борной кислоты. Продолжить процесс перегонки, по крайней мере, пока не соберется около 150 мл. Снять коническую колбу с перегонной установки и полностью иссушают наконечник дистиллята. Промойте внутри и снаружи наконечник водой, собирая ее в коническую колбу. Всегда промывайте наконечник водой между образцами. Эффективность конденсатора должна быть такой, чтобы температура содержимого в конической колбе не превышала 35 °С во время отгонки при применении колометрической конечной точки титрования.

9.2.2.3 Титрование

Содержимое конической колбы (9.2.2.2) титруют раствором соляной кислоты (5.7), используя бюретку (6.6). Конечная точка фиксируется при первом появлении розового цвета содержимого. Отметить показания бюретки к ближайшему делению 0,05 $см^3$. С

помощью магнитной мешалки с подсветкой (6.21) зафиксировать конечную точку.

Другой метод титрования: содержимое конической колбы (9.2.2.2) титрируют раствором соляной кислоты (5.7), используя откалиброванный титратор, оснащенный pH-метром (6.18). Значение pH достигает 4,6 в конечной точке титрования, что соответствует началу крутого излома на титрования (точка перегиба). На автоматическом титраторе отмечают показания количества раствора, прошедшего на титрование.

Примечания

1 Первое появление розового цвета наблюдается между pH 4,6 и 4,3 для системы индикации и 4%-ного раствора борной кислоты, установленного в этом методе. На практике величина pH в зависимости от добавленного 0,1 N HCl меняется очень быстро. Требуется около 0,05 мл 0,1 N HCl, чтобы изменить pH на 0,3 единицы в области от 4,6 до 4,3.

2 Статистика внутрилабораторного и межлабораторного выполнения данного метода была определена с использованием титратора цветовой фиксации конечной точки. Сравнивая окончательные результаты анализа, включая холостые анализа, полученные с конечной точкой pH 4,6 на таком же титраторе цветовой фиксации конечной точки, показали, что статистически нет значительной разницы между ними.

9.3 Контрольное определение

Контрольное определение проводят с применением стандартного раствора соляной кислоты (5.7) и бюретки (6.6) или автоматического титратора с pH-метром (6.18), которые использовались для анализа проб. Выполняют контрольное определение в соответствии с процедурами, описанными в 9.1 или 9.2. Испытуемую пробу заменяют на 5 мл воды и около 0,85 г сахарозы (5.10).

Необходимо вести запись контрольных определений. Если изменились значения, полученные при контрольных определениях, необходимо установить причину.

Для данной цели может быть использована сахароза (5.10) в количестве 0,85 г без добавления воды.

Примечание – При проведении контрольного определения для поглощения серной кислоты во время минерализации вместо испытуемой пробы в качестве органического вещества необходимо наличие сахарозы. Если количество остаточной освобожденной серной кислоты в конце минерализации слишком мало, количество остаточного освобожденноого восстановленного азота методами по 9.4.2 и 9.4.3 будет низким. Если количества освобожденной кислоты в конце минерализации достаточно, чтобы вернуть весь азот, но температура и время в процессе минерализации были недостаточными, чтобы освободить весь азот из пробы, количество азота, освобожденного по 9.4.2, будет приемлемым, а количество азота, освобожденного по 9.4.3, будет недостаточным.

Количество титранта, используемое в контрольном определении, должно быть всегда больше нуля. Контрольные определения внутри одной лаборатории должны быть совмещены по времени. Иногда холостая проба уже имеет розовый цвет перед началом титрования. Обычно в таких случаях конические колбы не достаточно чистые или вода из влажного воздуха, конденсируется на внешней стороне конденсатора, стекая вниз в колбу для сбора, что и приводит к загрязнению. Обычно значения, полученные при выполнении контрольных определений, равны или ниже 0,2 мл.

9.4 Анализ процесса восстановления

9.4.1 Точность метода должна регулярно проверяться следующим методами анализа процесса восстановления, которые выполняются в соответствии с 9.1 или 9.2.

9.4.2 Проверяют, что азот не потерян, используя испытательную пробу, состоящую из 0,12 г сульфата аммония (5.8) и 0,85 г сахарозы (5.10).

Примечание – Проверка процесса восстановления сульфата аммония не дает информацию о том, способствуют ли условия минерализации освобождению азота, который входит в структуру белка.

Процент восстановленного азота должен быть более 99 % для всех методов. Если восстановление менее 99 % азота, то либо концентрация титранта выше, чем установленное значение, либо произошли потери азота при минерализации или отгонке.

Можно использовать смесь сульфата аммония и небольшого количества серной кислоты (количество остаточного продукта, остающегося в конце минерализации) в колбе Кьельдаля. Разбавляют ее стандартным объемом воды, добавляют стандартное количество гидроокиси натрия и дистиллята. Если количество восстановленного азота остается небольшим, потеря азота обусловлена аппаратом перегонки, а не процессом минерализации. Возможно, причина заключается в негермитичности трубок в традиционной системе или в том, что наконечники конденсаторов не были погружены в борную кислоту в начале процесса перегонки. Аппаратура должна пройти проверку перед тем, как анализируется процесс восстановления по методике 9.4.3.

Если восстановление азота превышает 100 %, потери азота невозможно увидеть. В таком случае возможными причинами являются:

a) загрязнен сульфат аммония;

b) фактическая концентрация титрана ниже его установленного значения;

c) неверная калибровка бюретки для титрана;

d) температура титрана значительно выше калибровки бюретки;

e) расход титрана из бюретки превышает максимальную скорость, при которой калибровка бюретки достоверна.

Хотя максимальное теоретическое восстановление не должно превышать 100 %, восстановление выше максимума можно получить на практике из-за неточности измерений, т.е. могут быть получены от 99 % до 101 %. Если среднее значение восстановления из нескольких испытаний больше, чем 100 %; причиной должны быть изучены.

9.4.3 Проверяют эффективность процедуры минерализации, используя 0,16 г гидрохлорида лизина или 0,18 г триптофана (5.9) вместе с 0,67 г сахарозы (5.10)

Примечание –Триптофан (5.9) является достоверным показателем эффективности минерализации для натурального молока, при этом не является достоверным показателем для сухого молока и продуктов из сухого молока; гидрохлорид лизина (5.9) предназначен для использования для получения более представительных показаний эффективности минерализации для продуктов из сухого молока.

Массовая доля восстановленного азота должна быть не менее 98 %. Если массовая доля восстановленного азота менее 98 %, и после восстановления азота с применением сульфата аммония массовая доля составила от 99 % до 100 %, это означает, что температура минерализации была низкая или время минерализации недостаточное или проба не полностью минерализовалась в колбе Кьельдаля.

9.4.4 Более низкие результаты в любом из анализов процесса восстановления (или выше чем 100,0 % в 9.4.2) показывают недостатки в методе и/или неточную концентрацию раствора соляной кислоты (5.7).

10 Расчет и представление результатов

10.1 Расчет

10.1.1 Расчет содержания азота

Содержание азота в анализируемой пробе, w_n, вычисляют по формуле

$$w_n = \frac{1{,}4007 \times (V_s - V_b) \times M_t}{m} \qquad (1)$$

где

w_n - массовая доля азота в пробе, %;

V_s - объем раствора соляной кислоты (5.7), израсходованный в определении (9.1.2.3 или 9.2.2.3), см^3, с точностью до 0,05 см^3;

V_b - объем раствора соляной кислоты (5.7), израсходованный в контрольном определении (9.3), см^3, с точностью до 0,05 см^3;

M_t - молярность соляной кислоты (5.7), выраженная до четвертого знака. Если серную кислоту заменить соляной кислотой, M_t является точной молярностью серной кислоты, умноженное на коэффициент 2, выраженная до четвертого знака;

m - масса анализируемой пробы (9.1.1 или 9.2.1), г, взвешенной с точностью до 0,1 мг.

10.1.2 Расчет содержания сырого белка

Содержание сырого белка в анализируемой пробе, w_p ,вычисляют по формуле:

$$w_p = w_n \text{ Ч } 6{,}38 \qquad (2)$$

где

w_p - массовая доля сырого белка в пробе, %;

w_n - массовая доля азота в пробе, %, четыре знака после запятой (10.1.1);

6,38 – коэффициент пересчета массовой доли общего азота на массовую долю белка.

10.1.3 Расчет процесса восстановления

Рассчитайте восстановление азота, R_n, используя формулу:

$$R_n = \frac{w_n \times 100}{T_n} \qquad (3)$$

где

R_n - восстановление азота, %;

w_n - массовая доля азота в пробе, %;

T_n – теоретическая массовая доля азота, %.

Теоретическая массовая доля азота для сульфата аммония составляет 21,20 %, триптофана - 13,72 % и гидрохлорид лизина - 15,34 %.

В 9.4 нижние пределы восстановления основаны на минимальном анализе, указанном в 5.7 и 5.8. Никакие дополнительные допуски на чистоту реактива не должны выполняться в расчете восстановления.

10.2 Представление результатов

10.2.1 Общие положения

Полученные результаты не должны округляться до тех пор, пока не будет их использование для получения окончательного значения.

Иногда значения должны использоваться для дальнейших расчетов. Одним из примеров является использование значений индивидуального испытания, полученных при анализе многих материалов проб для расчета статистик выполнения метода для внутри- и межлабораторных испытаний. Другой пример – если значения используются как стандартные при калибровке приборов (например, инфракрасный анализатор молока), когда значения многих проб будут использованы при выполнении расчетов простой или сложной регрессии. В таких случаях полученные результаты не должны округляться до того, как они будут использованы в дальнейших расчетах.

10.2.2 Содержание азота

Выражают полученные результаты до четырех знаков после запятой, если требуются дальнейшие расчеты. В случае получения окончательных результатов выражают до трех знаков после запятой.

10.2.3 Содержание сырого белка

Выражают полученные результаты до третьего знака после запятой, если требуются дальнейшие расчеты. В случае получения окончательных результатов выращают до двух знаков после запятой.

11 Прецизионность

11.1 Межлабораторные испытания

Значения пределов повторяемости и воспроизводимости были установлены по результатам межлабораторных испытаний, выполненных в соответствии с [2] и [3]. Подробности методики межлабораторных испытаний приведены в документах [5], [6], [7], [8], [9], [10]. Значения, полученные в результате этих испытаний, могут быть не применимы к диапазонам концентраций и отличаться от приведенных в таблицах.

11.2 Цельное, частично обезжиренное или обезжиренное натуральное молоко

11.2.1 Повторяемость

11.2.1.1 Коровье молоко

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами испытаний, полученные с использованием одного метода на идентичных образцах в одной лаборатории одним лаборантом с использованием одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени, не должна превышать 0,006 % от содержания азота (0,038 % сырого белка) более чем в 5 % случаев.

11.2.1.2 Козье молоко

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в одной лаборатории одним лаборантом с использованием одного и того же оборудования за короткий период времени, не должна превышать 0,0084 % от содержания азота (0,052 % сырого белка), более чем в 5 % случаев.

11.2.1.3 Овечье молоко

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в одной лаборатории одним лаборантом с использованием одного оборудования за короткий промежуток времени, должна быть не более 0,0078 % от содержания азота (0,050 % сырого белка), более чем в 5 % случаев.

11.2.2 Воспроизводимость

11.2.2.1 Коровье молоко

Абсолютная разность между двумя независимыми результатами испытаний, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в различных лабораториях разными лаборантами с использованием различного оборудования, должна быть не более 0,0077 % от содержания азота (0,049 % сырого белка), более чем в 5 % случаев.

11.2.2.2 Козье молоко

Абсолютная разность между двумя независимыми результатами испытаний, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в различных лабораториях разными лаборантами с использованием различного оборудования, должна быть не более 0,0131 % от содержания азота (0,084 % сырого белка), более чем в 5%

случаев.

11.2.2.3 Овечье молоко

Абсолютная разность между двумя независимыми результатами испытаний, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в различных лабораториях разными лаборантами с использованием различного оборудования, должна быть не более 0,0114 % от содержания азота (0,073 % сырого белка), более чем в 5 % случаев.

11.3 Твердый, полутвердый и плавленый сыр

11.3.1 Повторяемость

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в одной лаборатории одним лаборантом с использованием одного оборудования за короткий промежуток времени, не должна превышать 0,0489 % от содержания азота (0,312 % сырого белка), более чем в 5 % случаев.

11.3.2 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в различных лабораториях разными лаборантами с использованием различного оборудования, должна быть не более 0,0670 % от содержания азота (0,428 % сырого белка), более чем в 5 % случаев.

11.4 Сухое молоко и продукты из сухого молока

11.4.1 Повторяемость

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами испытаний, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в одной лаборатории одним лаборантом с использованием одного оборудования за короткий промежуток времени, не должна превышать 0,007 M, где M – среднее значение двух результатов, более чем в 5 % случаев.

11.4.2 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя независимыми отдельными результатами испытаний, полученными с использованием одного метода на идентичных образцах в различных лабораториях разными лаборантами с использованием различного оборудования, не болжна превышать 0,013 M, где M – среднее значение двух результатов, более чем в 5 % случаев.

12 Протокол испытаний

Протокол должен содержать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;

b) применяемый метод отбора проб, если он известен;

c) используемый метод испытания, со ссылкой на настоящий стандарт;

d) все подробности выполнения, не описанные в настоящем стандарте, или выборочные, вместе с любыми второстепенными деталями, которые могут влиять на результаты;

e) полученные результаты испытаний, если повторяемость и воспроизводимость были проверены, окончательно полученные результаты.

Приложение А
(*информационное*)

Анализируемая проба

Таблица А.1 – Размер пробы анализируемого продукта для определения содержания азота и расчета сырого белка в молоке и молочных продуктах по методу Кьельдаля

Наименование продукта	Размер анализируемой пробы
Натуральное коровье молоко, цельное и обезжиренное	5 г ± 0,10 г
Натуральное козье молоко, цельное	5 г ± 0,10 г
Натуральное овечье молоко, цельное	2,5 г ± 0,10 г
Твердый, полутвердый и плавленый сыр	1 г ± 0,05 г
Сухое молоко и молочно-детские смеси	0,5 г ± 0,05 г
Концентрат молочного белка	0,25 г ± 0,05 г

Приложение В
(*информационное*)

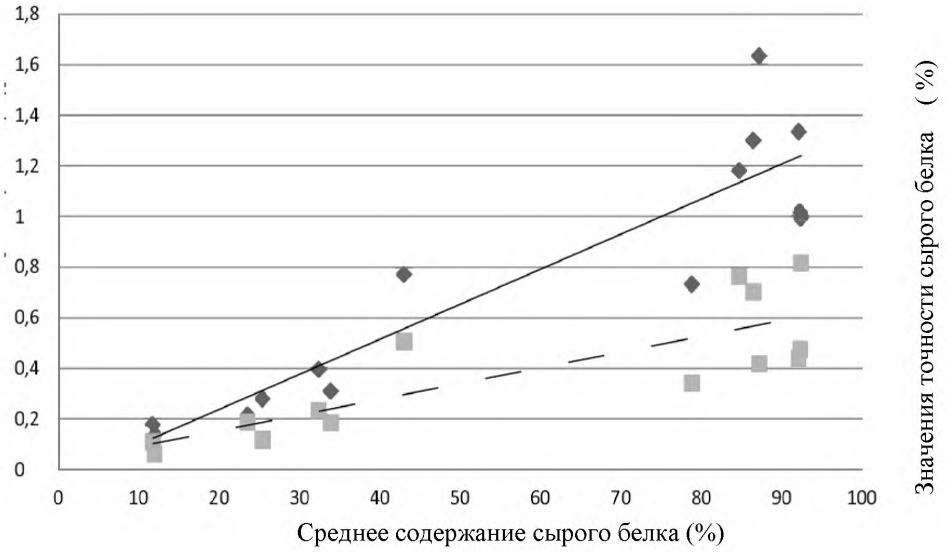
Совместные испытания

Таблица В.1 – Краткое изложение совместного испытания статистических параметров для процентного сырого белка (N x 6,38) в молоке и молочных продуктах по методу Кьельдаля, с исключенными выбросами [5], [6], [7], [8], [9]

Материал	Статистические данные						
	Среднее значение, %	s_r	s_R	CV_r (%)	CV_R(%)	r	R
Натуральное коровье молоко, цельное и обезжиренное	3,395	0,014	0,017	0,39	0,50	0,038	0,049
Натуральное козье молоко, цельное	4,807	0,018	0,030	0,37	0,62	0,052	0,084
Натуральное овечье молоко, цельное	5,398	0,018	0,026	0,35	0,49	0,050	0,073
Сыры	26,461	0,111	0,153	0,42	0,58	0,312	0,428

Таблица В.2 - Краткое изложение совместного испытания статистических параметров для процентного сырого белка (N x 6,38) в молоке и молочных продуктах по методу Кьельдаля, с исключенными выбросами [10]

Материал	Статистические данные						
	Среднее значение, %	s_r	s_R	CV_r (%)	CV_R(%)	r	R
Сухое цельное молоко (2000)	23,47	0,07	0,077	0,28	0,33	0,19	0,22
Сухое цельное молоко (1995)	25,37	0,042	0,100	0,16	0,39	0,12	0,28
Молоко сухое обезжиренное (2004)	33,85	0,066	0,111	0,20	0,33	0,18	0,31
Молоко сухое обезжиренное (2009)	32,32	0,083	0,142	0,26	0,44	0,23	0,40
Детская смесь (2011)	11,71	0,039	0,064	0,34	0,54	0,11	0,18
Детская смесь (2010)	11,90	0,022	0,049	0,19	0,41	0,006	0,14
Концентрат молочного белка (1971)	42,98	0,181	0,275	0,42	0,64	0,51	0,77
Концентрат молочного белка (1992)	84,67	0,273	0,422	0,32	0,50	0,76	1,18
Концентрат сывороточного белка (2005)	78,8	0,122	0,262	0,15	0,33	0,34	0,73
Концентрат сывороточного белка (2002)	92,36	0,292	0,355	0,32	0,38	0,82	0,99
Казеин (2006)	86,45	0,251	0,464	0,29	0,54	0,70	1,30
Казеин (2001)	87,20	0,150	0,583	0,17	0,67	0,42	1,63
Казеинат (1988)	92,08	0,157	0,477	0,17	0,52	0,44	1,34
Казеинат (1984)	92,27	0,170	0,363	0,18	0,39	0,48	1,02



Обозначение

воспроизводимость

повторимость

линия воспроизводимости

линия повторяемости

Рисунок В.1 - Отношение r и R с концентрацией сырого белка (%) [10]

Так как значения прецизионности строго корреляционны с концентрацией белка, использование значений относительной повторяемости и воспроизводимости является целесообразным.

Средняя относительная повторяемость, *r*, составляет 0,69 %, а средняя относительная воспроизводимость, *R*, составляет 1,28 %.

Библиография

[1] ISO 707|IDF 50 Milk and milk products — Guidance on sampling (Молоко и молочные продукты - Руководство по отбору проб)

[2] ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений - Часть 1: Общие принципы и определения)

[3] ISO 5725-2, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений - Часть 2: Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения)

[4] Parnas J.K., & Wagner R. U ber d ie Ausfuhrung von Bestimmungen k leiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl, Biochem. Z., 125, 1921, pp. 253–256 (Парнас Дж. К., и Вагнер Р. О выполнении анализа содержания азота по методу Кьельдаля, Биохим. З., 125, 1921, стр. 253-256)

[5] Barbano D.M., Clark J.L., Dunham C.E., Fleming J.R. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: Collaborative study. Journal of AOAC., 73, 1990 pp. 849–859 (Барбано Д.М., Кларк J.L, Данхэм С. Е, Флеминг Дж. Р., Метод Кьельдаля для определения общего содержания азота в молоке: совместное исследование. Журнал AOAC., 73, 1990 стр. 849-859)

[6] Lynch J.M., Barbano D.M., Fleming J.R. Performance evaluation of direct forced-air total solids and Kjeldahl total nitrogen methods: 1990 through 1995. Journal of AOAC., 80, 1997, pp. 1038–1043 (Линч Дж. М, Барбано Д.М., Флеминг Дж. Р., Оценивание методов определения сухого остатка прямой воздушной сушкой и общего азота по Кьельдалю, 1990-1995. Журнал AOAC., 80, 1997, стр. 1038-1043)

[7] Lynch J.M., & Barbano D.M. Determination of the Total Nitrogen Content of Hard, Semihard and Processed Cheese by the Kjeldahl Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC.*, (85) 2, 2002, p. 445 (Линч Дж. М, Барбано Д.М., Определение общего содержания азота в твердых, полутвердых и плавленых сырах методом Кьельдаля: совместное исследование. Журнал AOAC., (85) 2, 2002, с. 445)

[8] Orlandini S ., Lattanzi L ., Paggi U ., Psathas G ., Leray O. Interlaboratory Collaborative Study on the Kjeldahl Reference Method for Nitrogen Determination in Goat Milk according to ISO 8968-1/2|IDF 20-1/2. Bull. Int. Dairy Fed., 440, 2009, pp. 15–24 (Орландини С., Латтанци Л., Пагги У., Псатас Г., Лере О. Межлабораторное совместное изучение контрольного метода по Кьельдалью для определения содержания азота в козьем молоке в соответствии с ISO 8968-1/2 | IDF 20-1 / 2. Молочная Федерация, 440, 2009, стр. 15-24)

[9] Orlandini S., Psathas G., Leray O. Interlaboratory Collaborative Study on the Kjeldahl Reference Method for Nitrogen Determination in Sheep Milk according to ISO 8968-1/2|IDF 20-1/2. Bull.Int. Dairy Fed., 440, 2009, pp. 2–14 (Орландини С., Псатас Г., Лере О. Межлабораторное совместное изучение контрольного метода по Кьельдалью для определения содержания азота в овечьем молоке в соответствии с ISO 8968-1/2 | IDF 20-1/2. Молочная Федерация, 440, 2009, стр. 2-14)

[10] Johnson R., & Crawford R. Interlaboratory Collaborative Study on the Kjeldahl Reference Method for Nitrogen Determination of Dried Milk Products according to ISO 8968-1/2|IDF 20-1/2. Bull. Int. Dairy Fed., 459, 2012, pp. 2–14 (Джонсон Р., и Кроуфорд Р. Межлабораторное совместное изучение контрольного метода по Кьельдалью для определения содержания азота в продуктах из сухого молока в соответствии с ISO 8968-1/2 | IDF 20-1/2. Молочная Федерация, 459, 2012, стр. 2-14)

УДК 637.3.07.(08):006.354 **МКС 67.100.10**

Ключевые слова: молоко и молочные продукты, определение содержания азота, метод Кьельдаля, расчет сырого белка, подготовка проб, методика, результаты испытания, протокол испытания

Басуға _____ ж. қол қойылды Пішімі 60х84 1/16
Қағазы офсеттік. Қаріп түрі «KZ Times New Roman»,
«Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана. Тапсырыс ____

«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты»
республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы, Орынбор көшесі, 11 үй,
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8 (7172) 79 33 24

gost.e-ecolog.ru