ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

СТБ ISO 17997-1-2012

МОЛОКО

Определение содержания казеинового азота
Часть 1
Косвенный метод (арбитражный метод)

МАЛАКО

Вызначэнне змяшчэння казеінавага азоту
Частка 1
Ускосны метад (арбітражны метад)

(ISO 17997-1:2004, IDT)

Издание официальное

БЗ 9-2011



Госстандарт
Минск

gost.e-ecolog.ru

УДК 637.12.074(083.74)(476) МКС 67.100.10 КП 06 IDT

Ключевые слова: молоко, общее содержание азота, содержание казеинового азота, содержание неказеинового азота, косвенный метод, арбитражный метод, межлабораторные сличения

Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

1 ПОДГОТОВЛЕН научно-производственным республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)

ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 28 мая 2012 г. № 26

3 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 17997-1:2004 Milk – Determination of casein-nitrogen content – Part 1: Indirect method (Reference method) (Молоко. Определение содержания казеинового азота. Часть 1. Косвенный метод (арбитражный метод).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 5 «Молоко и молочные продукты» технического комитета по стандартизации ISO/TC 34 «Пищевые продукты» Международной организации по стандартизации (ISO) и Международной Федерацией молочных продуктов (IDF) совместно с Научной ассоциацией AOAC International.

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий государственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Национальном фонде ТНПА.

Сведения о соответствии государственного стандарта ссылочному международному стандарту приведены в дополнительном приложении Д.А.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© Госстандарт, 2012

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта Республики Беларусь

Издан на русском языке

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

МОЛОКО
Определение содержания казеинового азота
Часть 1
Косвенный метод (арбитражный метод)

МАЛАКО
Вызначэнне змяшчэння казеінавага азоту
Частка 1
Ускосны метад (арбітражны метад)

Milk
Determination of casein-nitrogen content
Part 1
Indirect method (Reference method)

Дата введения 2013-01-01

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – Применение метода и оборудования, описанных в настоящем стандарте, может включать опасные для здоровья человека материалы, операции и аппаратуру. Целью настоящего стандарта не является установление всех видов риска, связанных с его применением. Ответственность за соблюдение техники безопасности и охрану здоровья, а также установление соответствующих ограничений по применению настоящего стандарта несет пользователь.

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает арбитражный метод для косвенного определения содержания казеинового азота в коровьем молоке.

Метод может быть модифицирован для молока, полученного от других видов животных, или для жидких молочных продуктов.

Примечание – Содержание казеинового азота будет снижаться в зависимости от времени хранения молока вследствие распада казеина даже при 4 °С. Казеиновый азот в молоке, подвергнутом тепловой обработке, будет неестественно высоким из-за денатурации белка молочной сыворотки.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы приведенные ниже ссылочные стандарты. Для недатированных ссылок используют последнее издание ссылочного стандарта (включая все изменения).

ISO 648:1977 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной меткой

ISO 1042:1998 Посуда лабораторная стеклянная. Колбы мерные с одной меткой

ISO 8968-1|IDF 20-1:2001 Молоко. Определение содержания азота. Часть 1. Метод Кьельдаля

ISO 8968-2|IDF 20-2:2001 Молоко. Определение содержания азота. Часть 2. Блочно-септический метод (макрометод)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применяют следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 содержание неказеинового азота: Массовая доля веществ, определенная согласно процедуре, установленной в настоящем стандарте.

Издание официальное

3.2 содержание казеинового азота: Массовая доля веществ, определенная согласно процедуре, установленной в настоящем стандарте.

Примечание – Содержание неказеинового азота и содержание казеинового азота выражаются как массовая доля в процентах.

4 Сущность метода

Общее содержание азота в исследуемой пробе определяют с помощью методов, приводимых либо в ISO 8968-1|IDF 20-1, либо в ISO 8968-2|IDF 20-2. Казеин, содержащийся в отдельной навеске того же молока, осаждают посредством добавления растворов уксусной кислоты и ацетата натрия таким образом, чтобы конечный показатель pH смеси составлял приблизительно 4,6. Осажденный казеин молока удаляется посредством фильтрации, таким образом оставшийся фильтрат содержит компоненты неказеинового азота. Содержание азота в фильтрате определяют, используя процедуру, описанную в ISO 8968-1|IDF 20-1 или ISO 8968-2|IDF 20-2. Содержание казеинового азота рассчитывают как разность между общим содержанием азота и содержанием неказеинового азота в молоке.

5 Реактивы

Используют реактивы только признанной аналитической чистоты и дистиллированную воду или, по крайней мере, воду, равноценную ей по чистоте.

5.1 Реактивы для определения общего содержания азота

Используют реактивы, указанные в ISO 8968-1|IDF 20-1 или ISO 8968-2|IDF 20-2.

5.2 Раствор уксусной кислоты $c(CH_3CO_2H)$ = 1,75 моль/л.

Используя градуированную пипетку (6.6), добавляют 10,0 мл ледяной уксусной кислоты в мерную колбу вместимостью 100 мл (6.3). Доводят до метки водой.

5.3 Раствор ацетата натрия $c(CH_3CO_2Na)$ = 1 моль/л.

Растворяют 8,20 г ацетата натрия или 13,60 г тригидрата ацетата натрия в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл (6.3). Доводят до метки водой.

Раствор ацетата натрия может храниться в течение одной недели при комнатной температуре или 6 мес при температуре от 0 °C до 4 °C.

6 Оборудование

Используют стандартное лабораторное оборудование, в том числе следующее.

6.1 Аппаратура для определения общего содержания азота

Используют аппаратуру, указанную в ISO 8968-1|IDF 20-1 или ISO 8968-2|IDF 20-2.

6.2 Водяная баня, в которой можно поддерживать температуру 38 °C – 40 °C.

6.3 Мерные колбы с одной меткой с пробками вместимостью 100 мл, соответствующие ISO 1042:1998, класс A.

6.4 Дозирующая насадка вместимостью 75 мл воды (необязательно).

6.5 Градуированный мерный цилиндр вместимостью до 100 мл.

6.6 Мерные пипетки с одной меткой вместимостью 1, 10 и 50 мл, соответствующие ISO 648:1977, класс A.

6.7 Фильтровальная воронка, изготовленная из стекла или пластика, диаметром 75 мм.

6.8 Фильтры бумажные диаметром 15 см, не содержащие азот (например, из ватмана № 1 [1)] или его аналога).

Перед использованием необходимо сложить в виде складчатого фильтра.

6.9 Конические колбы или их аналоги вместимостью 100 мл.

6.10 Аналитические весы с точностью взвешивания до 0,1 мг.

6.11 Автоматический пипеточный дозатор или микропипетка (регулируемая) вместимостью 1,0 мл (необязательно).

[1)] Ватман № 1 является примером коммерчески доступного продукта. Данная информация приводится для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой этого продукта со стороны ISO или IDF.

7 Отбор проб

Важно, чтобы лаборатория получала действительно репрезентативную пробу, которая не была повреждена или изменена во время транспортирования или хранения. Отбор проб не является частью метода, установленного в настоящей части ISO 17997|IDF 29. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в ISO 707.

8 Подготовка исследуемой пробы

Исследуемую пробу нагревают на водяной бане при температуре 38 °C – 40 °C, чтобы растопить молочный жир и выделить репрезентативную навеску из нее. Непосредственно перед выделением и взвешиванием навески пробу осторожно перемешивают (см. 9.1 и 9.2).

9 Проведение испытания

9.1 Определение общего содержания азота

Определяют общее содержание азота в подготовленной исследуемой пробе (раздел 8) w_N, выраженное как массовая доля в процентах, используя процедуру, описанную в ISO 8968-1|IDF 20-1 или ISO 8968-2|IDF 20-2.

9.2 Определение содержания неказеинового азота

9.2.1 Навеска

9.2.1.1 В мерной колбе с пробкой вместимостью 100 мл (6.3) взвешивают с точностью до 0,1 мг приблизительно 10 г подготовленной для исследования пробы (раздел 8). Сразу же добавляют 75 мл воды, подогретой до 38 °C, используя дозирующую насадку (6.4) или градуированный мерный цилиндр (6.5).

На данном этапе можно взвешивать дополнительные пробы и добавлять воду. Однако обратите внимание на то, что этап, описанный в 9.2.1.2, необходимо завершить в течение 30 мин после добавления навески в мерную колбу.

Примечание – Максимальная продолжительность этапа 30 мин устанавливается для сведения к минимуму протеолитического распада казеина во время подготовки пробы.

9.2.1.2 Используя мерную пипетку (6.6), или автоматический пипеточный дозатор, или микропипетку (регулируемую) (6.11), в колбу добавляют 1 мл раствора уксусной кислоты (5.2). Колбу закрывают пробкой и вращают круговыми движениями для перемешивания. На 10 мин помещают колбу на водяную баню (6.2) при температуре 38 °C – 40 °C.

Используя другую мерную пипетку (6.6), или автоматический пипеточный дозатор, или микропипетку (регулируемую) (6.11), в колбу добавляют 1 мл раствора ацетата натрия (5.3) и вращают круговыми движениями для перемешивания. Колбу и ее содержимое охлаждают до 20 °C. Доводят до метки водой при 20 °C. Колбу закрывают пробкой и переворачивают для перемешивания.

Дают осадку осесть. Содержимое колбы фильтруют через воронку (6.7) с гофрированной фильтровальной бумагой (6.8). Весь фильтрат собирают в коническую колбу вместимостью 100 мл (6.9). Фильтрат должен быть прозрачным и не должен содержать твердые частицы. Если фильтрат не отвечает этим требованиям, повторяют процедуру с новой навеской, начиная с 9.2.1.

Примечание – В данном методе используют добавление постоянного объема растворов уксусной кислоты и ацетата натрия для каждой пробы. Для каждой отдельной пробы молока точное значение pH = 4,6 не будет достигнуто. Однако, как правило, для анализа коровьего молока используется на практике компромиссное решение, особенно если необходимо проанализировать большое количество проб. Изменение pH в диапазоне между 4,5 и 5,0 имеет несущественное влияние на конечный результат (см. ссылку [8]). В качестве альтернативы можно контролировать pH по мере добавления кислоты в пробу, осуществляя соответствующее регулирование температуры для калибровки прибора с целью измерения pH. В этом случае должно измеряться точное разбавление каждой навески и для каждой анализируемой навески необходимо принимать во внимание различные коэффициенты разбавления.

9.2.1.3 Чистый фильтрат вращают круговыми движениями, чтобы обеспечить его тщательное перемешивание. Мерной пипеткой (6.6) добавляют 50 мл фильтрата в колбу Кьельдаля или в трубку для разложения, содержащую добавки для кипения, сульфат калия и раствор сульфата меди, как указано в ISO 8968-1|IDF 20-1 или ISO 8968-2|IDF 20-2.

9.2.1.4 В колбу Кьельдаля или в трубку для разложения добавляют соответствующее количество серной кислоты. Осуществляют кипячение, дистилляцию и титрование, как установлено для молока в ISO 8968-1|IDF 20-1 или ISO 8968-2|IDF 20-2.

Применяя ISO 8968-2|IDF 20-2, необходимо проявлять осторожность и проводить нагревание постепенно, если при кипении образуется чрезмерное количество пены. Общее время кипения может превышать время для определения общего содержания азота в молоке.

Колбу или трубку следует закрывать пробками после добавления серной кислоты. Процедуры кипячения, дистилляции и титрования могут осуществляться позже. Записывают объем титрующего раствора, а также стандартного титруемого раствора соляной кислоты, указанного в ISO 8968-1|IDF 20-1 и используемого для титрования с точностью не менее 0,05 мл.

9.3 Контрольное испытание

Одновременно с определением пробы для исследования осуществляют контрольное испытание, используя процедуру, аналогичную описанной в 9.2.1.2 – 9.2.1.4, но без навески.

10. Расчеты и обработка результатов испытаний

10.1 Расчеты

10.1.1 Содержание неказеинового азота

Содержание неказеинового азота в исследуемой пробе w_{NCN}, выраженное как массовая доля в процентах, рассчитывают, используя следующую формулу:

$$w_{NCN} = \frac{1{,}4007(V_s - V_b) \times M \times 2 \times 0{,}994}{m},$$

где V_s – объем хлористоводородной кислоты, используемой при определении (9.2.1.4), мл;

V_b – объем хлористоводородной кислоты, используемой при определении для контрольного испытания (9.3), мл;

M – численное значение молярной концентрации стандартного титруемого раствора хлористоводородной кислоты согласно ISO 8968-1|IDF 20-1 или ISO 8968-2|IDF 20-2;

m – масса навески (9.2.1.1), г;

0,994 – коэффициент умножения, основанный на допущении, что молоко содержит массовую долю жира около 3,7 % и 2,6 % казеина [таким образом, f = 1 – [(0,11 × 0,037) + (0,07 × × 0,026)] = 0,994 (см. примечание)].

Примечание – Может потребоваться скорректировать коэффициент умножения, если жидкие молочные продукты, имеющие существенно разный состав, или молоко, полученное от других видов животных, анализируется следующим образом (см. [6]):

$$f = 1 - [(0{,}11 \times \%\ \text{жира} / 100) + (0{,}07 \times \%\ \text{казеина} / 100)].$$

10.1.2 Содержание неказеинового протеина

Содержание неказеинового протеина в пробе w_{NCP}, выраженное как массовая доля в процентах, рассчитывают, используя следующую формулу:

$$w_{NCP} = w_{NCN} \times 6{,}38,$$

где 6,38 – общепринятый коэффициент умножения для преобразования содержания азота в молочных продуктах в содержание протеина.

10.1.3 Содержание казеинового азота

Содержание казеинового азота в исследуемой пробе w_{CN}, выраженное как массовая доля в процентах, рассчитывают, используя следующую формулу:

$$w_{CN} = w_N - w_{NCN},$$

где w_N – содержание азота в исследуемой пробе, выраженное как массовая доля в процентах.

10.1.4 Содержание казеина

Содержание казеина в исследуемой пробе w_C, выраженное как массовая доля в процентах, рассчитывают, используя следующую формулу:

$$w_C = w_{CN} \times 6{,}38,$$

где 6,38 – общепринятый коэффициент умножения для преобразования содержания азота в молочных продуктах в содержание протеина.

10.2 Выражение результатов

Результаты испытаний записывают до третьего знака после запятой, если они нужны для дальнейших расчетов. В случае конечных результатов полученное содержание азота записывают до третьего знака после запятой, а содержание казеина записывают до второго знака после запятой. Результаты не округляют вплоть до конечного использования результатов испытаний.

Примечание – Одним из примеров могут служить значения отдельных испытаний при анализе большого количества исследуемых проб, предназначенные для расчета статистики результатов применения метода внутри и между лабораториями. Другим примером являются значения, которые должны использоваться как эталон для калибровки прибора (например, инфракрасного анализатора молока), когда значения, полученные от исследования большого количества проб, будут применяться для расчета множественной регрессии.

11 Контроль прецизионности

11.1 Межлабораторные сличения

Значения пределов повторяемости и воспроизводимости были выведены из результатов межлабораторных сличений, проводившихся в соответствии с ISO 5725 [2)]. Подробная информация о межлабораторных сличениях метода кратко приведена в ссылке [5]. Значения, выведенные по результатам этих сличений, могут быть неприменимы к другим диапазонам концентраций и другим веществам, кроме указанных в настоящем стандарте.

11.2 Повторяемость

11.2.1 Неказеиновый азот

Абсолютная разность между результатами двух независимых отдельных испытаний, полученных при использовании одного и того же метода на идентичном исследуемом материале в одной и той же лаборатории одним и тем же лаборантом с применением одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени, должна не более чем в 5 % случаев превышать:

– 0,004 % для массовой доли азота или

– 0,03 % для массовой доли казеина.

11.2.2 Казеиновый азот

Абсолютная разность между результатами двух независимых отдельных испытаний, полученных при использовании одного и того же метода на идентичном исследуемом материале в одной и той же лаборатории одним и тем же лаборантом с использованием одного и того же оборудования в течение короткого промежутка времени, должна не более чем в 5 % случаев превышать:

– 0,006 % для массовой доли азота или

– 0,04 % для массовой доли казеина.

11.3 Воспроизводимость

11.3.1 Неказеиновый азот

Абсолютная разность между результатами двух независимых испытаний, полученных при использовании одного и того же метода на идентичном исследуемом материале в разных лабораториях разными лаборантами на различном оборудовании, должна не более чем в 5 % случаев превышать:

– 0,007 % для массовой доли азота или

– 0,05 % для массовой доли казеина.

11.3.2 Казеиновый азот

Абсолютная разность между результатами двух независимых испытаний, полученных в результате использования одного и того же метода на идентичном исследуемом материале в разных лабораториях разными лаборантами, использующими различное оборудование, должна не более чем в 5 % случаев превышать:

– 0,010 % для массовой доли азота или

– 0,06 % для массовой доли казеина.

[2)] ISO 5725 «Прецизионность методов испытаний. Определение сходимости и воспроизводимости стандартного метода испытаний путем межлабораторных сличений» (отменен) был использован для получения данных по прецизионности.

12 Протокол испытания

Протокол испытания должен включать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

b) использованный метод отбора проб, если он известен;

c) использованный метод испытания, включая ссылку на настоящий стандарт;

d) все подробности проведения анализа, не указанные в настоящем стандарте, или дополнительные сведения обо всех происшествиях, которые могли повлиять на результат (ы) испытания;

e) полученный (ые) результат (ы) испытания или, если была проверена воспроизводимость, полученный окончательный результат.

Библиография

[1] ISO 707 — 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] ISO 17997-2|IDF 29-2 — Milk – Determination of casein-nitrogen content – Part 2: Direct method
(Молоко. Определение содержания казеинового азота. Часть 2. Прямой метод)

[5] AOAC International Compendium of Methods, 16th ed. (1999 revision), methods 998.05 – 998.07
(AOAC International Сборник методов, 16-е изд. (1999 пересмотр), методы 998.05 – 998.07)

[6] Lynch J.M., Barbano D.M, Fleming J.R. J. Assoc. Off. Anal. Chem. International, 81, 1998, с. 763 – 774

[7] Rowland, S.J. J. Dairy Res., 9, 1938 с. 42 – 46

[8] Rowland, S.J. J.Dairy Res., 9, 1938 с. 30 – 41

Приложение Д.А
(справочное)

Сведения о соответствии государственного стандарта ссылочному международному стандарту

Таблица Д.А.1 – Сведения о соответствии государственного стандарта ссылочному международному стандарту

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование государственного стандарта
ISO 8968-1:2001 Молоко. Определение содержания азота. Часть 1. Метод Кьельдаля	IDT	СТБ ISO 8968-1-2008 Молоко. Определение содержания азота. Часть 1. Метод Кьельдаля

Ответственный за выпуск *В. Л. Гуревич*

Сдано в набор 23.07.2012. Подписано в печать 12.09.2012. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 1,27 Уч.- изд. л. 0,55 Тираж экз. Заказ

Издатель и полиграфическое исполнение:
Научно-производственное республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
ЛИ № 02330/0552843 от 08.04.2009.
ул. Мележа, 3, комн. 406, 220113, Минск.

gost.e-ecolog.ru