ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 51470— 99

КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

Метод определения массовой доли белка

(ISO 5549:1978, NEQ)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

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

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

4 Настоящий стандарт разработан с учетом основных нормативных положений международного стандарта ИСО 5549—78 «Казеины и казеинаты. Определение содержания белка (арбитражный метод)» [ISO 5549:1978 Caseins and caseinates — Determination of protein content (Reference method), NEQ]

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Август 2018 г.

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© ISO, 1978 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2018

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

Метод определения массовой доли белка

Caseins and caseinates. Method for determination of protein content

Дата введения — 2001—01—01

1 Область применения

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

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

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 844 Магнезия жженая техническая. Технические условия

ГОСТ 1770 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2062 Реактивы. Кислота бромистоводородная. Технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4145 Реактивы. Калий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4165 Реактивы. Медь (II) сернокислая 5-водная. Технические условия

ГОСТ 4204 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 4228 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5833 Реактивы. Сахароза. Технические условия

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26809* Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу

ГОСТ 28498 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические требования. Методы испытаний

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

ГОСТ Р ИСО 707** Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб

---

* Заменен на ГОСТ 26809.1—2014 в части молока, молочного напитка, молочных и молокосодержащих продуктов, кисломолочных продуктов, мороженого и смеси для мороженого; ГОСТ 26809.2—2014 в части сыра и сырных продуктов, масла из коровьего молока и масляной пасты, сливочно-растительного спреда и сливочно-растительной топленой смеси.

** С 11 августа 2008 г. действует ИСО 707:2008.

Издание официальное

ГОСТ Р 51464 Казеины и казеинаты. Метод определения массовой доли влаги

ГОСТ Р 53228 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин в соответствующим определением:

3.1 **массовая доля белка в казеинах и казеинатах:** Величина, пропорциональная массовой доле азота в образце и выраженная в процентах: коэффициент пропорциональности — 6,38.

4 Аппаратура, материалы и реактивы

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

Весы лабораторные по ГОСТ Р 53228, 2-го класса точности, наибольшим пределом взвешивания 200 г.

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

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

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

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

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

Бумага лакмусовая.

Колбы конические по ГОСТ 25336, вместимостью 100, 250 и 500 $см^3$ с притертыми стеклянными пробками.

Колбы Кьельдаля по ГОСТ 25336, вместимостью 500 $см^3$.

Колбы мерные по ГОСТ 1770, вместимостью 500 и 1000 $см^3$.

Стаканы по ГОСТ 25336, типов В и Н, исполнения 1 и 2, вместимостью 50 $см^3$.

Цилиндры градуированные по ГОСТ 1770, вместимостью 50 и 100 $см^3$.

Бюретки по ГОСТ 29251, вместимостью 50 $см^3$ и ценой деления 0,1 $см^3$.

Кусочки твердого фарфора или шарики стеклянные (для минерализации).

Куски пемзы свежепрокаленные (для дистилляции).

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962.

Кислота серная концентрированная по ГОСТ 4204, плотностью 1,84 $г/см^3$ при температуре 20 °С.

Калий сернокислый (K_2SO_4) по ГОСТ 4145.

Медь (II) сернокислая 5-водная ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) по ГОСТ 4165.

Сахароза ($C_{12}H_{22}O_{11}$) по ГОСТ 5833.

Кислота борная по ГОСТ 2062, раствор концентрации 40 $г/дм^3$.

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

Кислота соляная по ГОСТ 3118, раствор концентрации c (HCl) = 0,1 $моль/дм^3$.

Метиловый красный.

Метиловый голубой.

Магнезия жженая по ГОСТ 844.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

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

5 Отбор проб

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

6 Подготовка к определению

6.1 Подготовка пробы

6.1.1 В колбу вместимость ю 250 см^3 помещают (50 ± 1) г казеина или казеината, закрывают колбу пробкой и перемешивают образец десятикратным переворачиванием и встряхиванием колбы.

6.1.2 Тщательно перемешанную пробу переносят на лабораторное сито.

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

6.1.4 Если проба полностью или частично не проходит через сито, повторно измельчают (50 ± 5) г образца. Пробу просеивают, переносят в колбу вместимостью 250 см^3, закрывают пробкой и тщательно перемешивают десятикратным переворачиванием колбы. Во время проведения этих работ необходимо исключить попадание влаги в пробу.

6.2 Приготовление индикатора

Взвешивают 2 г метилового красного и 1 г метилового голубого, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 и наливают этиловый спирт до метки.

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

В коническую колбу вместимостью 100 см^3 помещают (1,00 ± 0,01) г пробы, приливают 10 см^3 дистиллированной воды и 100 мг магнезии. Тщательно смывают водой магнезию, приставшую к стенкам, закрывают колбу корковой пробкой, вставляют при этом кусок красной лакмусовой бумаги между пробкой и горлышком колбы. Перемешивают содержимое и нагревают колбу на водяной бане температурой (62 ± 2) °С. Если лакмусовая бумага окрашивается в голубой цвет в течение 15 мин, это свидетельствует о присутствии аммиака, и, следовательно, данный метод не может применяться для определения белка.

6.4 Проверка качества реактивов (контрольный анализ)

Проверку качества реактивов проводят с использованием 0,5 г сахарозы вместо навески казеина или казеината. Используют аппаратуру и реактивы по разделу 4, методику по разделу 7. Если объем раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование, превышает 0,5 см^3, реактивы проверяют и реактив (реактивы) с примесями очищают или заменяют. Результат измерения объема раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование в контрольном анализе, используют при расчете массовой доли белка по формуле (1).

7 Проведение определения

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

7.2 Помещают в колбу Кьельдаля несколько кусочков фарфора или стеклянных шариков и 15 г безводного сернокислого калия. Добавляют 0,2 г сернокислой меди и промывают горлышко колбы небольшим количеством воды. Добавляют 20 см^3 концентрированной серной кислоты. Содержимое колбы перемешивают.

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

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

Колбу охлаждают до комнатной температуры. Осторожно добавляют 200 см^3 дистиллированной воды и несколько кусочков пемзы. Перемешивают и снова охлаждают.

7.3 Помещают в коническую колбу 50 см^3 раствора борной кислоты и четыре капли индикатора по 6.2. Перемешивают. Устанавливают коническую колбу под холодильником так, чтобы кончик выходной трубки холодильника был погружен в раствор борной кислоты.

Градуированным цилиндром добавляют в колбу Кьельдаля 80 см^3 раствора гидроокиси натрия. Во время этой операции колбу поддерживают в наклонном положении, чтобы раствор стекал по стенке колбы и на дне образовывался слой гидроокиси.

Соединяют колбу Кьельдаля с холодильником через каплеуловитель.

Для перемешивания содержимого колбу Кьельдаля осторожно вращают. Колбу нагревают, избегая любого вспенивания. Дистилляцию регулируют так, чтобы собрать 150 см^3 дистиллята за 30 мин. Дистиллят должен иметь температуру ниже 25 °С. За 2 мин до окончания дистилляции опускают коническую колбу так, чтобы кончик выходной трубки холодильника не был погружен в раствор кислоты, промывают кончик небольшим количеством воды. Прекращают нагревание, вынимают выходную трубку и промывают ее наружные и внутренние стенки небольшим количеством воды, собирая смывы в коническую колбу.

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

8 Обработка результатов

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

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

где 1,4 — масса азота, эквивалентная 1 см^3 соляной кислоты, концентрацией c(HCl) = 0,1 моль/дм^3, мг/см^3;

V_1 — объем раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование в основном анализе, см^3;

V_2 — объем раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование в контрольном анализе по 7.4,см^3;

T — титр соляной кислоты;

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

m — масса пробы, г.

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

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

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

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

9 Метрологические характеристики

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

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

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

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

Редактор *Л.С. Зимилова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 16.08.2018. Подписано в печать 30.08.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,74.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru