ГОСТ 26889—86

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ И ВКУСОВЫЕ

ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА МЕТОДОМ КЬЕЛЬДАЛЯ

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

УДК 663/.665.3:546.17.06:006.354 Группа Н09

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ И ВКУСОВЫЕ

Общие указания по определению содержания азота методом Кьельдаля

ГОСТ 26889—86

Food-stuffs and food additives.
General directions for determination of nitrogen content by the Kjeldahl method

МКС 67.050
ОКСТУ 9100, 9200

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 7 мая 1986 г. № 1185
дата введения установлена **01.01.87**

Настоящий стандарт распространяется на пищевые продукты, содержащие белки и другие азотосодержащие органические вещества, в которых азот при минерализации в присутствии серной кислоты превращается в ионы аммония, количество которых пропорционально определяемому содержанию азота, и устанавливает общие указания по определению содержания азота в пищевых продуктах методом Кьельдаля, а также требования к аппаратуре, применяемой для проведения анализа.

Настоящий стандарт полностью соответствует СТ СЭВ 5214—85 и является обязательным методическим документом при разработке нормативно-технической документации по определению азота методом Кьельдаля.

1. СУЩНОСТЬ МЕТОДА

Метод заключается в разрушении органического вещества нагреванием с серной кислотой в присутствии катализатора, добавлении избытка гидроокиси натрия, перегонке и титровании освободившегося аммиака.

2. ПРОБА ДЛЯ АНАЛИЗА

Так как пробы многих продуктов животного и растительного происхождения (в особенности пищевых продуктов) не могут быть в условиях лаборатории доведены до абсолютно однородного состояния, рекомендуется использовать макрометоды.

Образцы для анализов, размер которых может изменяться в зависимости от предполагаемого содержания азота, должны быть показательными для пробы и содержать от 0,005 до 0,2 г азота, оптимально более 0,02 г.

Если продукт недостаточно однороден, образец для анализа должен быть большим (свыше 1 г), и при высоком содержании азота определение проводится из аликвотных частей жидкости, получаемой после разрушения органического вещества.

Образцы для анализа отвешивают или отмеривают с погрешностью не более 0,1 %. При анализе вязких или пастообразных продуктов образец можно поместить в небольшую стеклянную пробирку, в колбу или на алюминиевый, бумажный или пластмассовый лист, который не содержит азота или его содержание заранее известно.

Издание официальное **Перепечатка воспрещена**

© Издательство стандартов, 1986
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

3. РАЗРУШЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА

3.1. Серная кислота

Серная кислота, используемая при анализе, практически не должна содержать соединений азота.

Если используют кислоту плотностью $\rho_{20} = 1{,}83 — 1{,}84$ г/см^3 для образца, содержащего до 1 г сухого вещества, берут не менее 12 см^3 кислоты и по 6—12 см^3 на каждый дополнительный грамм сухого вещества.

Количество кислоты следует устанавливать для каждого вида анализируемого продукта отдельно. Следует избегать избыточного количества кислоты.

3.2. Катализаторы

Необходимо делать различие между веществами, используемыми для повышения температуры кипения жидкости при разрушении органических веществ, и истинными катализаторами, которые способствуют этому разрушению. К первой группе веществ относится обычно сернокислый натрий, но предпочтительнее использовать сернокислый калий. Эти вещества вносят в достаточном количестве, чтобы повысить температуру кипения в конце процесса разрушения до 360—380 °С.

Выбор катализатора должен быть указан в стандартах на конкретный вид продукции. Можно применять различные виды катализаторов, имеющих достаточную эффективность и отвечающих требованиям контрольных испытаний (например, Hg, Se, Cu и их соединения).

Если проба имеет вид порошка, рекомендуется смешивать ее с катализатором еще в сухом виде до приливания серной кислоты.

3.3. Нагревание

Начало нагревания является критическим моментом метода Кьельдаля. Во многих случаях появляется пена, которая может подняться в горлышко колбы или даже перелиться через край. На это обстоятельство следует обратить особое внимание и вначале обеспечить умеренное нагревание. Иногда рекомендуется добавлять вещества, предотвращающие появление пены, например, парафин или вещества, изменяющие поверхностное натяжение. В этом случае следует убедиться, что эти вещества не содержат азота.

Если источник тепла интенсивно излучает инфракрасные лучи, то вещества, которые обычно вызывают пенообразование (например, углеводороды), образуют вместо этого обуглившиеся массы, которые дольше растворяются, но зато не создают сильной пены. В некоторых случаях имеет смысл затормозить нагревание, например, оставить на ночь.

Интенсивность нагревания может быть установлена по времени нагревания от 20 °С до температуры кипения известного количества воды в колбе, аналогичной той, которая используется для анализа. Нагревание считается достаточным, если выкипающая кислота конденсируется в средней части горлышка колбы Кьельдаля вместимостью 300 см^3. В любом случае необходимо избегать перегрева стенок колбы, не соприкасающихся с жидкостью. Этого можно достигнуть, поместив колбу на асбестовую пластину с отверстием, диаметр которого несколько меньше, чем диаметр колбы у поверхности жидкости.

Во время нагревания колбу рекомендуется помещать на подставку так, чтобы ее ось была наклонена под углом от 30 до 45° к вертикали.

Многие методики предусматривают периодическое взбалтывание содержимого колбы во время разрушения органического вещества. В большинстве случаев такое взбалтывание можно устранить, положив в колбу стеклянные шарики диаметром 5 — 7 мм. Когда жидкость станет прозрачной, отсутствие дальнейшего изменения цвета не всегда указывает на полное разрушение органических веществ. Азот в некоторых устойчивых соединениях, таких как лизин, триптофан или тирозин, разрушается только при продолжении нагревания еще в течение от 30 до 90 мин после того, как жидкость станет прозрачной. Обычно бывает достаточным дополнительное нагревание в течение от 30 до 40 мин. Для любого продукта с одинаковой массой пробы продолжительность нагревания зависит как от вида нагревателя, так и от используемого катализатора.

Оптимальными являются такие условия нагревания, которые позволяют получить максимальные результаты по содержанию азота при устранении всех источников погрешности.

Во время нагревания горлышко колбы может быть частично перекрыто специальной грушеобразной стеклянной втулкой или подсоединено к паропоглотительному устройству. Такое устройство не должно задерживать кислоту, выплеснувшуюся при нагревании, и не должно быть загрязнено остатками от предыдущих анализов.

Во всех случаях рекомендуется во время охлаждения защищать содержимое колбы от любых аммиачных паров, которые могут присутствовать в этот момент в лаборатории.

Следовательно, для нагревания следует использовать любое газовое или электрическое устройство, которое не вызывает перегрева стенок колбы, не соприкасающихся с жидкостью, и которое способно обеспечить такое кипение, при котором испаряющаяся кислота будет осаждаться в средней части горлышка колбы Кьельдаля обычного типа. После того как жидкость станет прозрачной и не будет больше изменять цвет, нагревание следует продолжить еще не менее 30 мин.

3.4. Осаждение ртути

Если используемый катализатор содержит ртуть, ее следует осадить перед перегонкой аммиака.

Для осаждения ртути лучше всего использовать гипофосфит натрия или калия (NaH_2PO_2; KH_2PO_2), которые добавляют в сухом виде после разбавления среды и перед приведением ее в щелочное состояние.

На практике 1 г гипофосфита натрия или калия хватает для осаждения 1 г ртути.

Примечание. Осаждение ртути щелочными сульфидами или тиосульфатами может привести к выделению сероводорода или двуокиси серы, если при перемешивании эти вещества будут длительно находиться в соприкосновении с кислотой. Если эти газы попадут непосредственно в дистиллят, они нейтрализуют часть аммиака, что приведет к погрешности, снижающей результат.

4. ПЕРЕГОНКА АММИАКА

4.1. Оборудование

4.1.1. Можно использовать любой перегонный аппарат, удовлетворяющий требованиям контрольных испытаний.

Различают два вида перегонных аппаратов:

а) аппараты, позволяющие осуществлять непосредственную перегонку аммиака без переноса раствора серной кислоты, содержащегося в колбе с пробой;

б) аппараты, предусматривающие перенос раствора серной кислоты целиком или частично.

4.1.2. Перегонка аммиака может осуществляться различными методами, а именно:

а) простая перегонка после разбавления водой;

б) перегонка с водяным паром с термоизоляцией или вспомогательным нагревом сосуда с перегоняемым раствором.

в) перегонка с перегретым паром, не требующая вспомогательного нагрева.

4.1.3. Каждый аппарат должен иметь устройство для конденсации пара и сбора аммиачных паров. Допускается использовать любые типы аппаратов при условии прохождения ими проверочных испытаний, указанных в п. 6.3.

Аппарат должен отвечать следующим требованиям:

а) не допускать никаких потерь аммиака, который может испаряться в атмосферу при добавлении щелочи или утекать при перегонке;

б) обеспечивать полную перегонку аммиака;

в) не допускать случайного переброса раствора гидроокиси натрия, капли которого должны задерживаться специальной ловушкой.

4.2. Добавление щелочи

При любом типе аппарата минерализат необходимо разбавить водой и затем добавить достаточное количество раствора гидроокиси натрия.

Если используемая серная кислота имеет плотность ρ_{20} = 1,83 — 1,84 г/см^3 и добавляется раствор гидроокиси натрия (не содержащий карбонатов) с плотностью ρ_{20} = 1,33 г/см^3 (около 30 % по массе), необходимо добавлять не менее 3,5 см^3 раствора гидроокиси натрия на 1 см^3 серной кислоты, оставшейся в колбе после разрушения органических веществ, или на 1 см^3 аликвотной части, взятой для перегонки, или 2 см^3 раствора гидроокиси натрия на 1 г кислоты.

Если трудно определить количество серной кислоты, оставшейся в колбе, следует добавить количество раствора гидроокиси натрия, соответствующее общему количеству серной кислоты.

Например, на 12 см^3 серной кислоты добавляют 45 — 50 см^3 раствора гидроокиси натрия.

Добавлять этот раствор следует осторожно, по стенке, так как смесь сильно разогревается и на некоторых аппаратах возможна потеря аммиака или повреждение аппарата вследствие выплескивания горячей щелочной жидкости.

4.3. Перегонка

Перегонку проводят в соответствии с условиями использования данного аппарата.

Следует удостовериться в том, что перегонка аммиака завершена полностью и дистиллят не содержит избытка щелочи вследствие переброса гидроокиси натрия. Для этого рекомендуется одновременное титрование.

Однако различные методики рекомендуют использовать разные способы определения конечной точки перегонки. Например, по объему собранного дистиллята или объему остатка после перегонки, или продолжительности перегонки. Эти показатели не имеют прямого отношения к количественной перегонке аммиака. Они могут быть приняты только в случае, если испытания показали, что данная перегонка является полной при указанных условиях. Рекомендуется всегда подтверждать конец перегонки при каждом анализе.

5. ТИТРОВАНИЕ

5.1. Способы тирования

5.1.1. *Одновременное титрование*

Рекомендуется проводить одновременное титрование аммиака при перегонке, так как это облегчает определение конечной точки перегонки. Оно может осуществляться путем титрования аммиака в дистилляте по мере его перегонки, или в дистиллированной воде, или путем собирания дистиллята в растворе серной или борной кислоты. В последнем случае достаточно использовать 10 — 25 $см^3$ раствора борной кислоты массовой концентрацией 40 $г/дм^3$.

Одновременное титрование также дает возможность определить, имел ли место переброс раствора гидроокиси натрия, и, если имел, результаты титрования теряют свое значение. В этом случае результат признают недействительным и анализ проводят вторично.

Контрольный анализ, проводимый путем перегонки смеси воды с гидроокисью натрия, может подтвердить наличие такого переброса.

Следует избегать перегрева этой жидкости недостаточно охлажденным дистиллятом; температура не должна подниматься выше 25 °С.

5.1.2. *Титрование после перегонки*

Титрование после перегонки проводится либо непосредственно в растворе борной кислоты, либо путем обратного титрования.

Обратное титрование проводят путем сбора аммиака в титрованном растворе сильной кислоты, избыток которой определяют позже. Необходимо также удостовериться, что перегонка полностью закончена в условиях данного анализа.

Неполная перегонка и переброс раствора гидроокиси натрия вследствие несоблюдения условий перегонки могут в значительной мере компенсировать друг друга и таким образом остаться незамеченными. Концентрация используемого раствора кислоты должна быть от $c(H^+) = 0{,}02$ $моль/дм^3$ до $c(H^+) = 0{,}2$ $моль/дм^3$ и должна быть выбрана с таким расчетом, чтобы объем титрованного раствора составлял от 5 до 50 $см^3$.

5.2. Индикаторы для титрования

Допускается использовать любой индикатор или электрометрическое устройство, дающее удовлетворительные результаты при проверочных испытаниях.

Наиболее широко используют метиловый красный или бромкрезоловый зеленый. Можно также использовать индикатор, известный под названием «Таширо»; в него входит раствор метилового красного, в который добавлен метиленовый голубой. В этом случае голубой цвет должен быть взят в такой пропорции, чтобы получить нейтральную серую окраску при pH 5,5.

6. ИСПЫТАНИЯ

6.1. Общие требования

Весы, гири и мерная стеклянная посуда должны быть проверены или откалиброваны. Концентрация растворов также должна быть точно известна. Вначале проводят контрольный анализ для проверки реактивов, затем проводят проверочные испытания прибора и методики анализа. Каждая серия определений должна сопровождаться одним контрольным анализом и не менее чем одним проверочным испытанием.

Контрольный анализ проводят при возобновлении каждого реактива.

6.2. Контрольный анализ

Контрольный анализ охватывает все стадии определения и осуществляется путем замены пробы эквивалентным количеством органического вещества, не содержащего азота (например, сахароза) и способствующего восстановлению любых азотных или азотистых соединений, которые могут присутствовать в реактивах. Контрольный анализ должен давать практически нулевой результат (погрешность порядка одной капли титрованного раствора).

Если погрешность невелика, необходимо сделать соответствующую поправку, или лучше разделить анализ, чтобы определить, какой именно реактив содержит азот, или выяснить, не вызывает ли погрешность сам прибор.

Обнаруженный в приборе дефект должен быть сразу же устранен.

6.3. Проверочные испытания

6.3.1 *Испытание аппарата для перегонки*

Помещают в аппарат известное количество аммонийной соли, например, 10 $см^3$ раствора сернокислого аммония *с* (1/2 $(NH_4)_2SO_4$) = 0,1 моль/$см^3$. Добавляют щелочь в избытке, перегоняют, титруют.

Низкий результат свидетельствует о неполной перегонке или утечке аммиака из аппарата.

6.3.2. *Проверка всей методики определения без органического вещества*

Помещают аммонийную соль в колбу и проводят определение по установленной методике, включая минерализацию с целью разрушения органического вещества.

Низкие результаты, которые не могут быть следствием перегонки, могут быть получены за счет потерь на предыдущих стадиях (выплескивание, улетучивание соединений азота и т. п.).

6.3.3. *Проверка, включающая разрушение органического вещества*

Содержание азота определяют в известном органическом соединении, которое плохо поддается разложению, например, в триптофане чистом или в смеси с другими веществами, не содержащими азота.

Низкие результаты, которые не могут быть следствием уже упомянутых причин (см. пп. 6.3.1 и 6.3.2), могут быть получены за счет недостаточного разрушения органического вещества (например, из-за недостаточного нагревания) или за счет использования неподходящего катализатора.

7. РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЯ

Результаты испытаний выражают в пересчете на азот (N). Если делается пересчет на содержание общего белка, следует указать коэффициент пересчета.

Точность метода и формулу расчета следует указать в стандартах на методы испытаний.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН Государственным агропромышленным комитетом СССР**

   РАЗРАБОТЧИКИ

   А.Ф. Савченко, Г.Л. Солнцева, Л.И. Изотова, Р.И. Хламова

   ВНЕСЕН Государственным агропромышленным комитетом СССР

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 7 мая 1986 г. № 1185**

3. **Ограничение срока действия снято Постановлением Госстандарта № 2216 от 26.12.91**

4. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Март 2010 г.**

gost.e-ecolog.ru