



НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

МОЛОКО

**Визначення вмісту азоту
Частина 1. Метод К'єльдаля
(ISO 8968-1:2001, IDT; IDF 20-1:2001, IDT)**

ДСТУ ISO 8968-1:2005 (IDF 20-1:2001)

ПЕРЕДМОВА

1 ВНЕСЕНО: Технологічний інститут молока та м'яса УААН, Технічний комітет «Молоко, м'ясо та продукти їх переробки» (ТК 140)

ПЕРЕКЛАД І НАУКОВО-ТЕХНІЧНЕ РЕДАГУВАННЯ: Г. Єресько, д-р техн. наук; Я. Жукова, канд. біол. наук; Н. Левитська; Г. Насирова, канд. біол. наук (науковий керівник)

2 НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ Держспоживстандарту України від 26 грудня 2005 р. № 371 з 2007-07-01

3 Національний стандарт відповідає ISO 8968-1:2001/IDF 20-1:2001 Milk — Determination of nitrogen content — Part 1: Kjeldahl method (Молоко. Визначання вмісту азоту. Частина 1. Метод К'ельдаля)

Ступінь відповідності — ідентичний (IDT)
Переклад з англійської (en)

4 УВЕДЕНО ВПЕРШЕ

Право власності на цей документ належить державі.
Відтворювати, тиражувати і розповсюджувати його повністю чи частково
на будь-яких носіях інформації без офіційного дозволу заборонено.
Стосовно врегулювання прав власності треба звертатися до Держспоживстандарту України

Держспоживстандарт України, 2008

ЗМІСТ

	с.
Національний вступ.....	IV
1 Сфера застосування.....	1
2 Нормативні посилання.....	1
3 Терміни та визначення понять.....	2
4 Суть методу.....	2
5 Реактиви.....	2
6 Апаратура.....	3
7 Відбирання проб.....	4
8 Готування дослідної проби.....	4
9 Випробовування.....	4
10 Опрацювання та вираження результатів.....	7
11 Точність.....	7
12 Протокол випробування.....	8
Додаток А Модифікація методу аналізування інших молочних продуктів, якщо немає відповідних стандартів.....	8
Бібліографія.....	9
Додаток НА Перелік чинних в Україні нормативних документів, на які є посилання в цьому стандарті.....	10

НАЦІОНАЛЬНИЙ ВСТУП

Цей стандарт є тотожний переклад ISO 8968-1:2001/IDF 20-1:2001 Milk — Determination of nitrogen content — Part 1: Kjeldahl method (Молоко. Визначання вмісту азоту. Частина 1. Метод К'ельдаля).

Технічний комітет, відповідальний за цей стандарт в Україні, — ТК 140 «Молоко, м'ясо та продукти їх переробки».

Стандарт містить вимоги, які відповідають чинному законодавству України.

Стандарт не скасовує і не замінює будь-яких національних стандартів.

До стандарту внесено такі редакційні зміни:

- слова «ця частина ISO 8968/IDF 20» замінено на «цей стандарт»;
- вилучено «Передмову» і «Вступ» як такі, що не містять для цього стандарту суттєвої інформації;
- пронумеровано формули для зручності користування стандартом;
- структурні елементи цього стандарту: «Титульний аркуш», «Передмову», «Зміст», «Національний вступ», першу сторінку, «Терміни та визначення понять» і «Бібліографічні дані» — оформлено відповідно до вимог національної стандартизації України;
- одиниці об'єму «мл» та «л» замінено на «см³» та «дм³» (система SI) згідно з ДСТУ 3651–97 Метрологія. Одиниці фізичних величин;
- до розділів 2, 5, 6, 7 і «Бібліографії» долучено «Національне пояснення» і «Національну примітку», виділені рамкою;
- долучено національний додаток НА щодо чинних в Україні нормативних документів, посилання на які подано в тексті цього стандарту.

Міжнародний стандарт ISO 707, на який є посилання в цьому стандарті, впроваджено в Україні як національний ДСТУ ISO 707.

Додатки А, НА — довідкові.

Копії документів, на які є посилання в цьому стандарті, можна отримати в Головному фонді нормативних документів.

НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

МОЛОКО

Визначення вмісту азоту
Частина 1. Метод К'єльдаля

МОЛОКО

Определение содержания азота
Часть 1. Метод Къельдаля

MILK

Determination of nitrogen content
Part 1. Kjeldahl's method

Чинний від 2007-07-01

ЗАСТОРОГА! Використання цього стандарту передбачає застосування речовин, методів та устаткування підвищеної небезпеки. У цьому стандарті не зазначено перелік усіх небезпечних моментів, пов'язаних з його застосуванням. Відповідальність за безпеку покладено на користувача стандарту, який має дотримуватися відповідних правил безпеки праці.

1 СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Цей стандарт установлює визначання вмісту азоту в натуральному молоці, незбираному або збираному, за методом К'єльдаля.

2 НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

Наведений нижче нормативний документ містить положення, які через посилання в тексті цього стандарту становлять положення цього національного стандарту. У разі датованих посилань пізніші зміни до будь-якого з цих видань або перегляд їх не застосовують. Однак учасникам угод, базованих на цьому стандарті, необхідно визначити можливість застосування найновіших видань нормативних документів. У разі недатованих посилань чинні останні редакції нормативних документів. Члени IEC та ISO впорядковують каталоги чинних міжнародних стандартів.

ISO 385-1 Laboratory glassware — Burettes — Part 1: General requirements.

НАЦІОНАЛЬНЕ ПОЯСНЕННЯ

ISO 385-1 Лабораторний скляний посуд. Бюретки. Частина 1. Загальні вимоги.

Національна примітка

В Україні чинний ГОСТ 29251 (ISO 385-1) [1 НА].

3 ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ

У цьому стандарті вжито такий термін та визначення позначеного ним поняття:

3.1 уміст азоту (*nitrogen content*)

Визначення масової частки азоту методом, описаним у цьому стандарті.

Примітка. Уміст азоту виражають у відсотках за масою.

4 СУТЬ МЕТОДУ

Дослідну пробу спалюють у суміші концентрованої сірчаної кислоти та сульфату калію з використанням сульфату міді (II) як каталізатора, для перетворення в сульфат амонію наявного в пробі органічного азоту. Сульфат калію додають для підвищення точки кипіння сірчаної кислоти та для забезпечення сильнішого окиснення під час спалювання. Надлишок гідроксиду натрію додають до охолодженої після спалення проби для вивільнення аміаку. Вивільнений аміак дистилують у надлишок розчину борної кислоти, а потім титрують розчином соляної кислоти. Вміст азоту обчислюють за кількістю утвореного аміаку.

5 РЕАКТИВИ

Використовують реактиви тільки рекомендованої аналітичної чистоти, якщо не вказано інше, а також дистильовану чи демінералізовану воду або воду еквівалентної чистоти.

Національна примітка

В Україні використовують здистильовану воду згідно з ГОСТ 6709 [2 НА].

5.1 Сульфат калію (K_2SO_4), що не містить азот.

5.2 Розчин сульфату міді (II), $c(CuSO_4) = 5,0$ г у 100 см^3 .

У мірній колбі з одною поділкою, місткістю 100 см^3 , розчиняють $5,0$ г сульфату міді (II) п'ятиводної ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$) у воді. Доводять до поділки водою та перемішують.

5.3 Сірчана кислота (H_2SO_4) з масовою часткою (95—98) %, що не містить азот ($c_{20}(H_2SO_4) = 1,84$ г/см³, приблизно).

5.4 Розчин гідроксиду натрію (NaOH), вільний від азоту, що містить 50 г гідроксиду натрію в 100 г розчину.

5.5 Розчин індикатора

Розчиняють $0,1$ г метилового червоного в 95 % (за об'ємом) етанолі. Доводять до 50 см^3 етанолом. Розчиняють $0,5$ г бромкрезолового зеленого в 95 % (за об'ємом) етанолі. Доводять до 250 см^3 етанолом. Змішують одну частину розчину метилового червоного з п'ятьма частинами розчину бромкрезолового зеленого або об'єднують та перемішують обидва розчини.

5.6 Розчин борної кислоти, $c(H_3BO_3) = 40,0$ г/дм³.

Розчиняють $40,0$ г борної кислоти в 1 дм^3 гарячої води в мірній колбі місткістю 1000 см^3 з одною поділкою. Охолоджують колбу до $20\text{ }^\circ\text{C}$. Додають 3 см^3 розчину індикатора (5.5), доводять до поділки водою та перемішують. Зберігають розчин, що має ледь помітний помаранчевий колір, у склянці з боросилікатного скла в захищеному від світла та аміачних випарів місці.

Якщо кінцеву точку титрування визначають рН-метром, не треба додавати розчин індикатора в розчин борної кислоти. З іншого боку, зміну кольору також можна застосовувати для перевіряння правильності процедури титрування.

5.7 Стандартний розчин соляної кислоти, $c(HCl) = (0,1 \pm 0,0005)$ моль/дм³.

Рекомендовано застосовувати готовий стандартний розчин промислового виготовлення, який відповідає наведеному нижче показнику або перевищує його за якістю.

Примітка. Частою систематичною помилкою аналітиків (якої можна уникнути) є розведення концентрованого розчину кислоти, а потім визначення її молярності. Це знижує відтворюваність методу. Аналітик не повинен використовувати розчин кислоти з концентрацією, більшою ніж $0,1$ моль/дм³, тому що об'єм концентрованішого розчину кислоти, необхідний для титрування проби, буде зменшеним. Це призведе до зростання похибки, буде негативно впливати на збіжність та відтворюваність методу. До таких самих наслідків призводить заміна соляної кислоти для титрування на іншу (наприклад сірчану) кислоту. Таку заміну не рекомендовано.

5.9 Сульфат амонію ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), мінімальна чистота 99,9 % (за масою) в сухій речовині. Безпосередньо перед використанням сульфат амонію висушують не менше ніж 2 год за температури $(102 \pm 2)^\circ\text{C}$. Охолоджують до кімнатної температури в ексікаторі.

5.10 Триптофан ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$) або **гідрохлорид лізину** ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2$), мінімальна чистота 99 % (за масою).

Перед використанням реактиви у термостаті не висушують.

5.11 Сахароза з умістом азоту не більше ніж 0,002 % (за масою).

Перед використанням сахарозу в термостаті не висушують.

6 АПАРАТУРА

Звичайне лабораторне устаткування, зокрема таке:

6.1 Водяна баня, здатна підтримувати температуру $(38 \pm 2)^\circ\text{C}$.

6.2 Колби К'ельдаля, місткістю 500 см^3 чи 800 см^3 .

6.3 Аналітичні ваги, придатні для зважування з точністю до 0,1 мг.

6.4 Кипілки (засоби для кипіння), такі, як шматочки пемзи, порошок цинку, подріблені шматочки фарфору чи гранули амфотерного алунду високої чистоти (так званий карборунд) з розміром 10 меш.

Національна примітка

В Україні розмір часток порошуватих матеріалів виражають у міліметрах за ДСТУ 3651 [3 НА].

10 меш приблизно дорівнює 2 мм.

Повторно не застосовні.

Примітка. Іноді використовують шматочки скла, діаметром 5 мм, але вони не такі ефективні, як гранули алунду, і з ними виникає більше проблем під час спалювання.

6.5 Бюретка чи автоматична піпетка для відмірювання порцій розчину сульфату міді (5.2) об'ємом $1,0\text{ см}^3$.

6.6 Циліндри градуйовані мірні, місткістю 50 см^3 , 100 см^3 та 500 см^3 .

6.7 Устаткування для спалювання для розташування колб К'ельдаля в нахиленому положенні (під кутом приблизно 45°), з електричним чи газовим нагрівачем, що забезпечує температуру не вище, ніж потрібно, та з пристроєм для поглинання випарів.

Використовуваний нагрівач має забезпечувати контроль температури спалювання. Попередньо перевіряють нагрівач для його оцінювання. У разі нагрівання газом перевіряння має тривати 10 хв, для електричного нагрівача цей період дорівнює 30 хв. Для будь-якого нагрівача тривалість нагрівання 250 см^3 води, з додаванням 5—10 кипілок, від початкової температури 25°C до точки кипіння, має становити (5—6) хв. Це максимальна температура для спалювання проби.

6.8 Устаткування для дистилювання з боросилікатного скла або іншого придатного матеріалу, пристосоване для з'єднання з колбою К'ельдаля (6.2), що складається з протирозбризувального пристрою, щільно з'єданого з конденсатором води, з вузькою вхідною трубкою та алонжем на нижньому кінці.

З'єднувальні трубки та крани мають бути щільно підігнані, та, бажано, зроблені з неофрена.

6.9 Конічні колби, місткістю 500 см^3 , з градуванням через кожні 200 см^3 .

6.10 Бюретка, місткістю 50 см^3 , градуйована з точністю до $0,01\text{ см}^3$, що відповідає вимогам ISO 385-1, клас А.

6.11 Автоматичний титратор, забезпечений рН-метром

рН-метр має бути відкалібрований у межах від 4 до 7 рН за звичайною лабораторною процедурою.

7 ВІДБИРАННЯ ПРОБ

Метод відбирання проб не визначений у цьому стандарті. Рекомендований метод відбирання проб згідно з ISO 707.

Національна примітка
В Україні чинний ДСТУ ISO 707 [4 НА].

Важливо, щоб лабораторія отримала проби, підготовлені відповідно до нормативних вимог, не пошкоджені і не змінені під час транспортування або зберігання.

8 ГОТУВАННЯ ДОСЛІДНОЇ ПРОБИ

Нагрівають дослідну пробу у водяній бані (6.1) за температури 38 °С. Обережно перемішують дослідну пробу, кілька разів обертають склянку з нею без утворення піни або бульбашок. Охолоджують пробу до кімнатної температури безпосередньо перед тим, як зважити дослідну порцію (9.1).

Примітка. У разі застосування цього методу для інших молочних продуктів, окрім молока, для визначення необхідної кількості дослідної проби див. додаток А цього стандарту.

9 ВИПРОБОВУВАННЯ

9.1 Попереднє готування дослідної проби

Додають до чистої та сухої колби К'ельдаля (6.2) 5—10 кипілок (6.4), 15,0 г сульфату калію (5.1), 1,0 см³ розчину сульфату міді (II) (5.2), дослідну пробу (розділ 8) об'ємом $(5 \pm 0,1)$ см³, відважену з точністю до 0,1 мг, та 25 см³ сірчаної кислоти (5.3). Використовують сірчану кислоту для змивання з верхньої частини та стінок колби залишків розчину сульфату міді (II), сульфату калію чи дослідної проби. Якщо окрема часточка проби або реактивів залишилася на стінках колби, її змивають невеликою кількістю води. Вміст колби К'ельдаля ретельно перемішують.

Примітка. У разі застосування цього методу для інших молочних продуктів, окрім молока, для визначення необхідної кількості дослідної проби див. додаток А цього стандарту.

9.2 Визначання

9.2.1 Спалювання

Перед початком спалювання під'єднують пристрій для поглинання випарів до устатковання для спалювання (6.7). Нагрівають колбу К'ельдаля з її вмістом (9.1) на устаткованні для спалювання, на нагрівачу, що налаштований на достатньо низьку температуру, щоб спалювана речовина не утворювала піни і не підіймалась у верхню частину колби К'ельдаля. За такого температурного режиму після появи білих парів у верхній частині колби спалювання продовжують приблизно 20 хв. Підвищують температуру до половини максимальної, що визначена в 6.7, та продовжують спалювання протягом 15 хв. Через 15 хв підвищують температуру нагрівання до максимальної, визначеної в 6.7. Після того, як спалюваний уміст колби стане прозорим (прозорим із блакитно-зеленим кольором), продовжують кип'ятіння (1—1,5) год за максимального режиму. Якщо рідина не кипить, кінець пальника встановлено занадто низько. Спалювання має тривати (1,8—2,25) год.

Для визначення конкретної тривалості кипіння, необхідної для випробовування в певній лабораторії за використання конкретної апаратури, відбирають для дослідження пробу молока з високим вмістом білка та жиру. Після того, як проба стає прозорою, визначають уміст білка за різних проміжків тривалості кипіння ((1—1,5) год). Середнє значення вмісту білка збільшується з подовженням тривалості кипіння, далі стає постійним, а потім зменшується, якщо кипіння триває досить довго. Вибирають такий проміжок тривалості кипіння, за якого результат вмісту білка буде найвищий.

Після закінчення спалювання проба має бути прозорою, без часток неспаленого матеріалу. Залишають спалену пробу за кімнатної температури для охолодження у відкритій колбі на нагрівачі зі знятою системою для поглинання випарів приблизно на 25 хв. Якщо колбу залишити охолоджуватися на гарячому нагрівачі, вона буде довше охолоджуватися до кімнатної температури. Через 25 хв охолодження проба має бути рідкою або рідкою з незначною кількістю кри-

сталічного осаду. Не варто залишати на ніч нерозведену спалену пробу в колбі. Вона може закристалізуватися протягом цього періоду, і потім буде дуже важко перевести закристалізовану пробу в розчин.

Примітка. Надмірна кристалізація через 25 хв є результатом втрати надлишку кислоти під час спалювання, що може призводити до занижених результатів. Втрату надлишку кислоти спричиняють надмірне випаровування або довша тривалість спалювання за неправильно встановленого температурного режиму.

До колби К'ельдаля місткістю 500 см³ додають 300 см³ води, а у разі використання колби К'ельдаля місткістю 800 см³ — 400 см³ води. Обмивають цією водою також верхню частину колби. Ретельно перемішують уміст колби до повного розчинення всіх кристалів. Додають 5—10 кипілок (6.4). Дають суміші знову охолонути до кімнатної температури перед дистилюванням. Розведену спалену пробу можна зберігати та дистилювати трохи пізніше.

9.2.2 Дистилювання

Вмикають конденсатор води дистиляційного устаткування (6.8). До розведеної спаленої проби (9.2.1) додають 75 см³ розчину гідроксиду натрію (5.4), обережно заливаючи розчин у нахилену колбу К'ельдаля для утворення шару на круглomu дні колби. Між двома шарами розчину має бути чиста поверхня розділу. Для попередження можливості втрати аміаку після додавання розчину гідроксиду натрію до колби К'ельдаля швидко з'єднують її з устаткуванням для дистилювання (6.8). Алонж на виході конденсатора має бути занурений у конічну колбу (6.9) з 50 см³ розчину борної кислоти (5.6). Енергійно перемішують коловими рухами колбу К'ельдаля, поки окремі шари розчинів не змішаються. Розташовують колбу на нагрівачі. Вмикають нагрівач, встановивши температуру, достатньо високу для кипіння суміші. Дистилюють до початку нерівномірного кипіння, а потім швидко роз'єднують колбу К'ельдаля та вмикають нагрівач. Вимикають конденсатор води. Промивають зсередини та ззовні кінчик алонжу конденсатора водою, збираючи воду після промивання в конічну колбу. Перемішують уміст конічної колби.

Швидкість дистилювання має бути такою, щоб приблизно 150 см³ дистиляту накопичувалося до початку нерівномірного кипіння. Загальний об'єм умісту конічної колби має бути приблизно 200 см³. Якщо об'єм зібраного дистиляту менший за 150 см³, очевидно, що для розведення спаленої проби було додано води менше ніж 300 см³. За колориметричного встановлення кінцевої точки титрування ефективність конденсатора має бути такою, щоб температура вмісту конічної колби не перевищувала 35 °С протягом дистилювання.

9.2.3 Титрування

Використовуючи бюретку (6.5) титрують уміст конічної колби (9.2.2) соляною кислотою (5.7). У разі появи перших ознак рожевого забарвлення припиняють титрування. Визначають об'єм, витрачений на титрування, з точністю до 0,05 см³. Підсвічування на магнітній мішалці може сприяти визначенню кінцевої точки візуальним способом.

Альтернативний спосіб полягає в титруванні вмісту конічної колби (9.2.2) соляною кислотою (5.7) з використанням ретельно відкаліброваного автоматичного титратора, обладнаного рН-метром (6.11). Кінцевий результат титрування в такому разі становить 4,6 рН, що є найвищою точкою на кривій титрування (точка перегину). Відмічають на автоматичному титраторі кількість використаного розчину соляної кислоти.

Примітка 1. Рожеве забарвлення з'являється в границях від 4,6 до 4,3 рН в суміші з індикаторним розчином та 4-відсотковим розчином борної кислоти, що рекомендовано для цього методу. На практиці швидкість зміни рН як функція додавання 0,1 моль/дм³ HCl є дуже високою в границях такого діапазону рН. При цьому додавання близько 0,05 см³ 0,1 моль/дм³ HCl призводить до зміни рН на 0,3 одиниці в діапазоні від 4,6 до 4,3 рН.

Примітка 2. Статистичні дослідження цього методу були встановлені за використання визначення закінчення титрування за зміною кольору у внутрішніх та міжлабораторних випробуваннях. Порівняння кінцевих результатів, у тому числі контрольних проб, отриманих з використанням рН-метра та за зміною кольору, показало, що суттєвої статистичної різниці між такими способами титрування немає.

9.3 Холоста проба

Холості проби завжди титрують тим самим розчином соляної кислоти (5.7), використовуючи ту саму бюретку (6.5) або автоматичний титратор, з'єднаний з рН-метром (6.11), як і у роботі з дослідними пробами. Холосту пробу випробовують за процедурами, описаними в 9.1—9.2.3. При цьому замість дослідної проби беруть 5 см³ води та приблизно 0,85 г сахарози (5.10).

Записують одержані значення холостих проб. Якщо ці значення змінюються, треба з'ясувати причину змін.

Примітка 1. Сахарозу в холосту чи перевіряльну проби вносять для витрачання певної кількості сірчаної кислоти під час спалювання органічної речовини, еквівалентної дослідній пробі. Якщо кількість сірчаної кислоти, що залишилася вільною після закінчення спалення, замала, значення кількості азоту, який перевіряють в обох перевіряльних випробуваннях, 9.4.2 та 9.4.3, буде теж малим. Однак, якщо кількість кислоти, що залишилася наприкінці спалювання, достатня для утримання азоту проби, але температура спалювання та його тривалість були недостатніми для вивільнення всього азоту проби, кількість азоту за 9.4.2 буде задовільною, а кількість азоту за 9.4.3 буде малою.

Кількість розчину для титрування, використаного під час холостих випробувань, має завжди бути більшою за нуль. Холості випробування в тій самій лабораторії треба проводити регулярно. Типовий результат для холостої проби має дорівнювати або бути меншим за 0,2 см³.

Примітка 2. Якщо холоста проба набуває рожевого забарвлення ще до початку титрування, це свідчить про помилку під час роботи. Зазвичай, причиною такого є забруднювання конічних колб, або вода з повітря, можливо, сконденсувала на зовнішній поверхні конденсатора і стікає в конічну колбу, спричиняючи забруднення.

9.4 Перевіряльні випробування

9.4.1 Регулярно перевіряють точність випробувань перевіряльними випробуваннями, які треба проводити згідно з 9.1 та 9.2.3.

9.4.2 Для перевіряння втрат азоту використовують випробну суміш з 0,12 г сульфату амонію (5.8) та 0,85 г сахарози (5.10).

Примітка. Додавання сульфату амонію в пробу під час визначання збіжності не дає інформації для визначення умов спалювання з вивільненням азоту білкових структур.

Відносний результат значень азоту, виражений у відсотках, має перебувати між 99,0 % та 100,0 % для всіх варіантів апаратури. Якщо значення нижчі за 99 %, це свідчить, що концентрація розчину для титрування вища ніж має бути або є втрати азоту під час спалювання чи дистилювання. Можливе використання суміші сульфату амонію з невеликою кількістю сірчаної кислоти (що дорівнює залишковій кількості наприкінці спалювання) у колбі К'ельдаля.

Суміш розводять таким об'ємом води та додають таку кількість гідроксиду натрію, як і для дослідної проби, після чого дистилюють. Якщо результат занижений, азот втрачено не під час спалювання, а під час дистилювання. Можлива причина — негерметичність з'єднань у традиційній системі або кінець алонжу конденсатора не занурений у розчин борної кислоти перед початком процесу дистилювання. Апаратура має бути перевірена за цією процедурою раніше, ніж буде перевірена за 9.4.3.

Тоді, коли відносний результат значень азоту, виражений у відсотках, перевищує 100 %, немає втрат азоту. У цьому разі можливі такі помилки:

- a) забруднений сульфат амонію;
- b) концентрація розчину для титрування менша ніж має бути;
- c) бюретку з розчином для титрування відкалібровано неправильно;
- d) температура розчину для титрування значно вища за температуру, за якої калібрували бюретку;
- e) швидкість витікання розчину для титрування з бюретки перевищує максимальну швидкість, за якої калібрування бюретки є справжнім.

9.4.3 Перевіряють ефективність процедури спалювання, використовуючи перевіряльні проби, що містять 0,16 г гідрохлориду лізину чи 0,18 г триптофану (5.9) разом із 0,67 г сахарози (5.10).

Найменша кількість азоту, виражена у відсотках, наприкінці аналізування становить 98 %. Якщо цей показник нижче за 98 %, а під час перевіряння із сульфатом амонію він становить 99 % та 100 %, це свідчить, що температура або тривалість спалювання є не достатніми (9.2.1, параграф 1 та примітка) або у колбі К'ельдаля наявні неспалені залишки проби (обвуглені).

Участь у профільних тестових програмах сприяє отриманню найкращих результатів, при цьому результати для проб молока, одержані у внутрішньолабораторних та міжлабораторних дослідженнях, оброблюють статистично.

9.4.4 Занижені результати в кожному з перевіряльних випробувань (чи вищі ніж 100,0 % за 9.4.2) вказують на недоліки під час випробування та/чи неточність концентрації стандартного розчину соляної кислоти (5.7).

10 ОПРАЦЬОВУВАННЯ ТА ВИРАЖАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

10.1 Визначання вмісту азоту

10.1.1 Визначають уміст азоту дослідної проби, w_N , за формулою:

$$w_N = \frac{1,4007 (V_s - V_b) M_r}{m}, \quad (1)$$

де w_N — уміст азоту в пробі, % (за масою);

V_s — об'єм стандартного розчину соляної кислоти (5.7), використаний під час випробовування дослідної проби (9.2.3), виражений з точністю до 0,05 см³, см³;

V_b — об'єм стандартного розчину соляної кислоти (5.7) використаний під час випробовування холостої проби (9.2.3), виражений з точністю до 0,05 см³, см³;

M_r — молярна концентрація стандартного розчину соляної кислоти (5.7), виражена з точністю до четвертої значущої цифри після коми;

m — маса дослідної проби (9.1), з точністю до 0,1 мг, г.

10.1.2 Отримані результати мають бути виражені з точністю до четвертої значущої цифри після коми, коли їх застосовують для подальших обчислень. Остаточний результат умісту азоту треба виражати з точністю до третьої значущої цифри після коми, а вмісту білка — з точністю до другої значущої цифри після коми.

Примітка. Таке положення є правильним, коли результати застосовують для подальших обчислень. Якщо проводять індивідуальні вимірювання окремих проб багатьох продуктів, варто застосовувати статистичні методи обчислювань для внутрішнього та міжлабораторного відхилень. Якщо отримані результати використовують як стандарт для калібрування (наприклад, для інфрачервоного аналізатора молока), тоді значення від багатьох проб застосовують в обчисленнях у простій або множинній регресії. У такому разі отримані результати не треба заокруглювати, поки вони необхідні для подальших обчислень.

10.2 Визначання вмісту загального білка

10.2.1 Визначають уміст загального білка дослідної проби, w_p , за формулою:

$$w_p = w_N \cdot 6,38, \quad (2)$$

де w_p — уміст загального білка в пробі, % (за масою);

w_N — уміст азоту в пробі, з точністю до четвертої значущої цифри після коми (10.1), %;

6,38 — загальноприйнятий коефіцієнт множення для виведення значення вмісту азоту зі значення вмісту загального білка.

10.2.2 Результати, отримані для вмісту загального білка, виражають з точністю до третьої значущої цифри після коми, якщо вони необхідні для подальших обчислень. Кінцевий результат (див. 10.1.2) виражають з точністю до другої значущої цифри після коми.

11 ТОЧНІСТЬ

11.1 Міжлабораторне випробовування

Значення границь збіжності та відтворюваності отримані за результатами міжлабораторних випробувань, проведених згідно з ISO 5725¹⁾. Подробиці міжлабораторного випробування методу узагальнено в посиланнях [5], [6]. Дані, отримані під час цього випробування, не можуть бути застосовані для концентрацій та об'єктів інших, ніж зазначено.

11.2 Збіжність

Абсолютна різниця між двома незалежними результатами окремих випробувань, одержаними тим самим методом, на ідентичному матеріалі, в одній лабораторії, тим самим лаборантом, на тому самому устаткованні, за невеликий проміжок часу, не більше ніж у 5 % випадків не повинна перевищувати 0,006 % для вмісту азоту (0,038 % для вмісту загального білка).

11.3 Відтворюваність

Абсолютна різниця між двома незалежними результатами окремих випробувань, одержаними тим самим методом, на ідентичному матеріалі, у різних лабораторіях, різними лаборантами, на різному устаткованні, не більше ніж у 5 % випадків не повинна перевищувати 0,0077 % для вмісту азоту (0,049 % для вмісту загального білка).

¹⁾ ISO 5725:1986 (нині не чинне) було застосовано для отримання точності результатів.

12 ПРОТОКОЛ ВИПРОБУВАННЯ

У протоколі випробування має бути:

- уся інформація, необхідна для повної ідентифікації проби;
- метод відбирання проб, якщо він відомий;
- метод визначання з посиланням на цей стандарт;
- усі подробиці, не визначені в цьому стандарті, та будь-які обставини, які є важливими і можуть вплинути на результат випробування;
- отриманий(-і) результат(-и) випробування;
- якщо перевіряли збіжність, її наводять у кінцевому результаті;
- якщо перевіряли відтворюваність, її наводять у кінцевому результаті.

ДОДАТОК А (довідковий)

МОДИФІКАЦІЯ МЕТОДУ АНАЛІЗУВАННЯ ІНШИХ МОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ, ЯКЩО НЕМАЄ ВІДПОВІДНИХ СТАНДАРТІВ

А.1 Загальне положення

Метод, описаний у цьому стандарті, оптимізований та пристосований для дослідження коров'ячого молока. Для визначення вмісту азоту в цілому ряді молочних продуктів, якщо немає окремих стандартів, лабораторія може застосовувати такий метод з незначною модифікацією. Втім, процес визначання та його особливості для кожного випадку необґрунтовані.

А.2 Випробовування

Необхідну масу дослідної проби, підготовлену так, як описано нижче, зважують з точністю до 0,1 мг. Визначають уміст азоту, використовуючи метод, зазначений у 9.1—9.4.

Під час спалювання та дистилювання не можна змінювати кількість сірчаної кислоти (5.3) та гідроксиду натрію (5.4). Збільшення кількості кислоти стосовно інших складників суміші для спалювання знижує початкову точку кипіння суміші, тому це робити не рекомендовано.

Встановлюють відповідну кількість дослідної проби в разі використання реактивів, зазначених у цьому стандарті.

Необхідну кількість дослідної проби визначають так. Оптимальна кількість білка в колбі К'ельдаля (6.2) має перебувати в границях (0,15—0,30) г на колбу для будь-якої дослідної проби. Наприклад, якщо зразок сиру Чеддер в середньому містить 24 % білка, то маса дослідної проби має бути (0,625—1,25) г. Кількість дослідної проби залежить від кількості кислоти, яку використовують для спалювання органічних складників (таких, як жир і вуглеводи); при цьому масу проби обчислюють як середнє значення між найбільшим та найменшим значенням білка в продукті.

Під час випробовування дослідної проби в колбу К'ельдаля додають 25 см³ сірчаної кислоти (близько 46 г). Наприкінці спалювання в колбі має залишитись близько 15 г сірчаної кислоти, щоб утримати весь азот проби.

Сірчана кислота витрачається на спалювання дослідної проби, а також певна кількість її частково випаровується під час спалювання. Втрати під час випаровування можуть бути майже такими, як втрати під час спалювання органічного матеріалу дослідної проби. Кількість кислоти, що залишається наприкінці, залежить від цих двох процесів. Надмірна втрата кислоти під час випаровування (спричинена надмірним піноутворенням під час спалювання або тим, що верхня частина колби занадто гаряча) може призводити до замалої кількості кислоти, що залишається наприкінці спалювання, навіть, якщо масу дослідної проби визначено правильно.

Замала кількість кислоти, що залишилася після спалення, може спричиняти кристалізацію отриманого розчину після охолодження протягом 25 хв, а також зниження вмісту азоту.

Прикладом складного для аналізування продукту можуть бути вершки з умістом 40 % жиру. В такому разі вміст білка чи азоту в пробі буде низьким, а вміст жиру — високим. Така проба в середньому містить близько 40 % жиру, 1,9 % білка та 2,9 % лактози. Зважаючи на те, що в колбі К'ельдаля (6.2) має бути 0,15 г білка, маса дослідної проби буде дорівнювати 7,89 г. При цьому дослідна проба буде вміщувати 3,16 г жиру, що вимагає додавання 56,9 г (30,9 см³) сірчаної кислоти на спалювання, без урахування сірчаної кислоти, що втрачається під час випаровування. (В обчисленнях враховують те, що для спалювання 1 г жиру потрібно 18 г сірчаної кислоти). Це є прикладом, коли масу дослідної проби зменшують, щоб кількість залишкової кислоти, була достатньою. Для такого продукту, як вершки, треба використовувати розчин для титрування з меншою концентрацією (наприклад 0,01 моль/дм³). У такому разі масу дослідної проби зменшують, щоб наприкінці спалювання залишалася необхідна кількість кислоти.

Під час визначання кількості сахарози в холостій чи перевіряльних пробах для продуктів, інших, ніж коров'яче молоко, треба зважати на таке:

По-перше, встановлюють приблизний вміст жиру, білка та вуглеводів для цього типу продукту та визначають приблизну масу дослідної проби для спалювання.

По-друге, беруть до уваги, що для спалювання 1 г жиру необхідно додавати близько 18 г сірчаної кислоти; для 1 г білка — близько 9 г сірчаної кислоти та для 1 г вуглеводів — близько 7 г сірчаної кислоти.

З огляду на таку інформацію, можна обчислити кількість кислоти, яку витрачають для спалювання дослідної проби, та необхідну кількість сахарози для такої самої кількості кислоти протягом спалювання. Обчислена кількість сахарози необхідна для холостого досліду та перевіряльного досліду із сульфатом амонію.

Для перевіряльної проби з амінокислотами (9.4.3) зменшують кількість сахарози відповідно до обчисленої кількості кислоти, що буде потрібна (обраховують як білок) для гідрохлориду лізину або триптофану. Припускають, що значення азоту під час спалювання дослідних продуктів, інших, ніж молоко, на цьому устаткованні буде таким самим, без проведення перевіряльних експериментів щодо відтворення умов, за якими кількість кислоти, що залишається наприкінці спалювання, буде подібною.

БІБЛІОГРАФІЯ

- 1 ISO 707 Milk and milk products — Guidance on sampling
- 2 ISO 5725:1986 Precision of test methods — Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests
- 3 ISO 5725-1:1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions
- 4 ISO 5725-2:1994 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
- 5 Barbano D. M., Clark J. L., Dunham C. E. and Fleming J. R. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: Collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73, 1990, p. 849—859
- 6 Lynch J. M., Barbano D. M. and Fleming J. R. Performance evaluation of direct forced-air total solids and Kjeldahl total nitrogen methods: 1990 through 1995. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 80, 1997, p.1038—1043.

НАЦІОНАЛЬНЕ ПОЯСНЕННЯ

- 1 ISO 707 Молоко та молочні продукти. Настанови щодо відбирання проб
- 2 ISO 5725:1986 Точність методів досліджування. Визначання збіжності та відтворюваності для стандартного методу перевіряння міжлабораторних випробувань
- 3 ISO 5725-1:1994 Правильність (вірогідність і точність) методів випробовування та результатів. Частина 1. Загальні принципи та визначення понять
- 4 ISO 5725-2:1994 Правильність (вірогідність і точність) методів випробовування та результатів. Частина 2. Базовий метод визначання збіжності та відтворюваності для стандартного методу випробовування
- 5 Барбано Д. М., Кларк Дж. Л., Дунгам К. Е. і Флемінг Дж. Р. Метод К'ельдаля для визначення вмісту загального азоту в молоці: сукупні (спільні) дослідження. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73, 1990, с. 849—859
- 6 Лінч Дж. М., Барбано Д. М. і Флемінг Дж. Р. Оцінювання методів визначання загальних сухих речовин та визначання загального азоту за К'ельдалем: від 1990 до 1995. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 80, 1997, с.1038—1043.

ДОДАТОК НА
(довідковий)

**ПЕРЕЛІК ЧИННИХ В УКРАЇНІ НОРМАТИВНИХ ДОКУМЕНТІВ,
НА ЯКІ Є ПОСИЛАННЯ В ЦЬОМУ СТАНДАРТІ**

- 1 ГОСТ 29251–91 (ИСО 385-1–84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования (Посуд лабораторний скляний. Бюретки. Частина 1. Загальні вимоги)
- 2 ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия (Вода здистильована. Технічні вимоги)
- 3 ДСТУ 3651–97 Метрологія. Одиниці фізичних величин
- 4 ДСТУ ISO 707:2002 Молоко та молочні продукти. Настанови щодо відбирання проб.

Код УКНД 67.100.10

Ключові слова: визначання азоту, вміст білка, метод К'ельдаля, молоко, молочні продукти.
