

МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ

ISO 20483

Второе издание
2013-12-01

Зерновые и бобовые. Определение содержания азота и вычисление содержания сырого протеина. Метод Кьельдаля

*Cereals and pulses — Determination of nitrogen content and calculation
of the crude protein content — Kjeldahl method*

ISO 20843:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fb21156-697d-4f89-88bc-d5769797bb87/iso-20843-2011>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер
ISO 20483:2013(R)

© ISO 2013

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20843:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fb21156-697d-4f89-88bc-d5769797bb87/iso-20843-2011>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2013

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail [copyright @ iso.org](mailto:copyright@iso.org)
Web www.iso.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие.....	iv
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	1
4 Принцип	2
5 Реактивы	2
6 Аппаратура.....	3
7 Отбор проб.....	3
8 Приготовление пробы для испытания.....	3
9 Определение содержания влаги	4
10 Методика	4
10.1 Общие требования.....	4
10.2 Навеска	4
10.3 Определение	4
10.4 Холостой опыт	5
10.5 Испытание с использованием стандартных образцов (Проверочное испытание)	5
11 Выражение результатов	5
11.1 Содержание азота.....	5
11.2 Содержание сырого протеина	6
12 Прецизионность.....	6
12.1 Межлабораторное испытание.....	6
12.2 Повторяемость	6
12.3 Воспроизводимость	6
12.4 Критическая разница	6
13 Протокол испытания.....	7
Приложение А (информативное) Результаты межлабораторных испытаний.....	8
Приложение В (информативное) Критическая разница и практическое применение пределов повторяемости и воспроизводимости к разному содержанию протеина	10
Приложение С (информативное) Коэффициенты для перевода содержания азота в содержание протеина	12
Библиография.....	13

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Процедуры, используемые для разработки этого документа и тех, которые предназначены для его дальнейшего ведения, описаны в Директивах ISO/IEC, Часть 1. В частности, следует отметить различные критерии утверждения, необходимые для различных типов документов ISO. Этот документ был подготовлен в соответствии с редакционными правилами Директив ISO/IEC, Часть 2. www.iso.org/directives.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы данного стандарта могут быть объектом патентных прав. ISO не несет ответственности за идентификацию какого-либо одного или всех таких патентных прав. Информация о любых патентных правах, выявленных в ходе разработки документа, будет представлена в разделе Введение и/или в перечне полученных патентных деклараций ISO. www.iso.org/patents.

Любое торговое наименование, используемое в данном документе, дается для удобства пользователей и не является официальным мнением.

Данный документ разработан Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, SC 4, *Зерновые и бобовые*.

Данное второе издание отменяет и заменяет первое издание (ISO 20483:2006), которое было технически пересмотрено.

[ISO 20483:2011](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fb21156-697d-4f89-88bc-d5769797bb87/iso-20483-2011)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fb21156-697d-4f89-88bc-d5769797bb87/iso-20483-2011>

Зерновые и бобовые. Определение содержания азота и вычисление содержания сырого протеина. Метод Кьельдаля

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Настоящий стандарт предполагает использование опасных материалов, работ и оборудования. В нем не ставится цель рассмотреть все проблемы безопасности, связанные с его применением. Пользователь стандарта сам несет ответственность за меры безопасности и до его использования определяет применимость регламентирующих ограничений.

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает метод определения содержания азота в зерновых, бобовых и продуктах из них по методу Кьельдаля, а также метод расчета содержания сырого протеина.

Метод не устанавливает различия между белковым и небелковым азотом. Если важно определить содержание небелкового азота, может применяться соответствующий метод.

ПРИМЕЧАНИЕ В некоторых случаях полное восстановление азота в нитратах и нитритах по этому методу невозможно.

2 Нормативные ссылки

Следующие нормативные документы необходимы для применения настоящего международного стандарта. Для жестких ссылок применяется только ссылочное издание. Для плавающих ссылок применяется самое последнее издание нормативного ссылочного документа (включая любые изменения).

ISO 712, *Зерно и зерновые продукты. Определение содержания влаги. Стандартный контрольный метод*

ISO 6540, *Кукуруза. Определение содержания влаги (в целых и измельченных зернах)*

ISO 24557, *Бобовые. Определение содержания влаги. Метод с использованием сушильного шкафа*

3 Термины и определения

Применительно к настоящему стандарту используются следующие термины и определения.

3.1

содержание азота **nitrogen content**

количество азота, определяемое после применения метода, описанного в настоящем международном стандарте

Примечание 1 к статье: Это количество выражается как массовая доля сухого продукта, в процентах.

3.2

содержание сырого протеина **crude protein content**

количество сырого протеина, полученное из содержания азота, определенного после применения метода, описанного в настоящем документе, и рассчитанное путем умножения этого содержания на соответствующий коэффициент в зависимости от вида зерновых или бобовых

Примечание 1 к статье: Это количество выражается как массовая доля сухого продукта, в процентах.

4 Принцип

Метод заключается в расщеплении органического вещества серной кислотой в присутствии катализатора, высвобождением продуктов реакции щелочью и последующей отгонкой. Освободившийся аммиак собирают в растворе борной кислоты, который титруют раствором серной кислоты для определения содержания азота и расчета содержания сырого протеина.

5 Реактивы

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Следует принять меры предосторожности при работе с реактивами, описанными в 5.3, 5.8, 5.9 и 5.13.

5.1 Для анализа используют реактивы только установленного аналитического качества, не содержащие азота, и только дистиллированную или деминерализованную воду или воду эквивалентной чистоты.

5.2 Таблетки Кьельдаля, соответствующие следующему составу: пентагидрат сульфата меди (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) = 2,8 %, оксид титана (TiO_2) = 2,8 % и сульфат калия (K_2SO_4) = 94,3 %.

Кроме того, пентагидрат сульфата меди (II), оксид титана и сульфат калия также могут быть смешаны в определенном соотношении.

5.3 Серная кислота $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 18$ моль/л, $\rho_{20}(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84$ г/мл.

5.4 Пеногаситель: для предотвращения образования пены могут быть использованы парафиновое масло, силикон или даже антипенные таблетки.

5.5 Ацетаниlid ($\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$) или **триптофан** ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$), минимальная чистота 99 % (массовая доля).

5.6 Борная кислота, водный раствор, $\rho_{20}(\text{H}_3\text{BO}_3) = 40$ г/л, или любой другой концентрации, рекомендуемой для используемой аппаратуры.

5.7 Цветной индикатор.

Добавляют объемы раствора А (5.7.1) и раствора В (5.7.2), рекомендуемые для используемой аппаратуры (например, 5 объемов раствора А и 1 объем раствора В) или любой другой цветной индикатор, рекомендуемый для данной аппаратуры.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Можно использовать готовый раствор борной кислоты, содержащий цветной индикатор (5.7.1 и 5.7.2).

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Соотношение растворов А и В можно регулировать в зависимости от аппаратуры.

Можно также проводить потенциометрическое титрование с использованием рН-электрода, который необходимо ежедневно контролировать.

5.7.1 Раствор А

Бромкрезоловый зелёный ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$): 200 мг.

Этанол ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), с объемной долей 95 %: количество, достаточное для 100 мл раствора.

5.7.2 Раствор В

Метиловый красный ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$): 200 мг.

Этанол ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), с объемной долей 95 %: количество, достаточное для 100 мл раствора.

5.8 Гидроокись натрия, водный раствор (NaOH), с массовой долей от 30 % или 40 % и содержанием азота меньше или равным 0,001 %.

Гидроокись натрия техническая может также использоваться, когда содержание азота меньше или равно 0,001 %.

5.9 Серная кислота, стандартный титрованный раствор, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05$ моль/л.

Рекомендуется применять H_2SO_4 вместо HCl, так как H_2SO_4 не имеет тенденцию образовывать пузырьки в соединительных трубках.

5.10 Сульфат аммония, стандартный титрованный раствор, $c(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 0,05$ моль/л.

В качестве альтернативы можно применять соль, например, $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

5.11 Пемза, гранулированная, промытая соляной кислотой и прокаленная или стеклянные стержни для предотвращения взрывообразного кипения.

5.12 Сахароза (необязательно), без азота.

5.13 Пентаоксид фосфора (P_2O_5).

6 Аппаратура

Обычная лабораторная аппаратура, в частности, следующая.

6.1 Механическая мельница.

6.2 Сито, с размером отверстий 0,8 мм.

6.3 Аналитические весы, способные взвешивать с точностью 0,001 г.

6.4 Аппаратура для расщепления, отгонки и титрования.

Следует установить однородное распределение температуры установки для расщепления.

Оценка однородности температуры должна проводиться путем испытания одного из двух стандартных образцов (5.5) и в результате рассмотрения полученных скоростей восстановления.

Аппаратуру для отгонки следует проверять путем проведения отгонки известного количества соли аммония [например, 10 мл раствора сульфата аммония (5.10) и путем проверки скорости восстановления, которая должна быть больше или равна 99,8 %].

7 Отбор проб

Отбор проб не является частью метода, описанного в данном международном стандарте. Рекомендуемые методы отбора проб приведены в ISO 24333.

В лабораторию должна поступать представительная проба. Она не должна быть повреждена или изменена при транспортировке или хранении.

8 Приготовление пробы для испытания

Если необходимо, пробу измельчают так, чтобы она проходила сквозь сито с диаметром отверстий 0,8 мм. Измельченная масса зерен должна быть равна, как минимум, 200 г. Тщательно перемешивают измельченную пробу.

9 Определение содержания влаги

Определяют содержание влаги (w_H) в пробе для испытания из аликвотной пробы, приготовленной в соответствии с Разделом 8. Проводят определение методом, пригодным для испытуемого продукта (т.е. в соответствии с ISO 712 для зерна и зерновых продуктов, ISO 6540 для кукурузы, или методом, описанным в Ссылке^[8] и который применяется для испытания некоторых бобовых или ISO 24557 для бобовых).

10 Методика

10.1 Общие требования

Если необходимо проверить соответствие установленных требований пределу повторяемости (12.2), проводят два отдельных определения в соответствии с 10.2 – 10.5.

10.2 Навеска

Взвешивают с точностью 0,001 г массу пробы для испытания, приготовленной в соответствии с требованиями Раздела 8, и выбранной на основе предполагаемого содержания азота, чтобы навеска содержала от 0,005 до 0,2 г азота, предпочтительно более 0,02 г.

10.3 Определение

10.3.1 Расщепление органического вещества

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Последующие операции должны проводиться под хорошо вентилируемым колпаком, устойчивым к серной кислоте.

Переносят навеску (10.2) в колбу для расщепления, затем добавляют необходимое количество таблеток катализатора (5.2), содержащих 10 г сульфата калия, 0,30 г пентагидрата сульфата меди (II) и 0,30 г оксида титана. В конце добавляют 20 мл серной кислоты (5.3).

Количество кислоты можно регулировать в зависимости от используемой аппаратуры, но только после того, как убедитесь, что эта мера действительно ведет к скорости восстановления 99,5 % для ацетанилида и 99,0 % для триптофана.

Тщательно перемешивают, чтобы полностью смочить навеску.

Устанавливают колбу в аппарат для расщепления, предварительно нагретый до (420 ± 10) °С.

После минимум 2 ч расщепления, считая с момента, когда температура аппарата снова достигнет (420 ± 10) °С, колбу оставляют для охлаждения.

ПРИМЕЧАНИЕ Рекомендуется добавить пемзу (5.11) в качестве регулятора кипения и антипенообразующее вещество (5.4).

Минимальное время расщепления необходимо проверить на таком контрольном материале, на котором наиболее трудно достичь скорости восстановления (см. 10.5).

При откачке пара следуют рекомендациям изготовителя оборудования, так как слишком сильное всасывание может привести к потере азота.

10.3.2 Отгонка

Осторожно добавляют в охлажденную колбу 50 мл воды и оставляют остывать. Переносят в приемную колбу 50 мл борной кислоты (5.6) и, для визуальной колориметрии, или в случае использования оптического зонда, не менее 10 капель цветного индикатора (5.7).

Добавляют дополнительно 5 мл раствора гидроксида натрия (5.8), необходимой для нейтрализации используемого количества серной кислоты. Затем проводят отгонку.

В зависимости от оборудования количество используемых реактивов может меняться.

10.3.3 Титрование

Проводят титрование, используя раствор серной кислоты (5.9), либо непрерывно во время отгонки, либо в конце отгонки на всем дистилляте.

Конечную точку титрования определяют с помощью цветной колориметрии, или используя оптический зонд, или путем потенциометрического анализа, используя рН-метр.

10.4 Холостой опыт

Выполняют холостой опыт с реактивами, рекомендованными в 10.3.1 – 10.3.3, но без навески (10.2).

ПРИМЕЧАНИЕ Можно заменить навеску 1 г сахарозы (5.12).

10.5 Испытание с использованием стандартных образцов (Проверочное испытание)

Высушивают используемый стандартный образец при температуре 60 °С – 80 °С, в вакууме, в присутствии пентаоксида ди-фосфора (5.13).

Проводят проверочное испытание навески массой 15 г минимум путем определения содержания азота в триптофане и/или ацетанилиде (5.5).

ПРИМЕЧАНИЕ Можно добавить 1 г сахарозы (5.12) к эталонному материалу.

Скорость восстановления азота из ацетанилида должна составлять 99,5 % и не менее 99,0 % из триптофана.

11 Выражение результатов

11.1 Содержание азота

Содержание азота, w_N , выражаемое как массовая доля сухого продукта, в процентах, вычисляют по следующей Формуле (1):

$$w_N = \frac{(V_1 - V_0) \times T \times 0,014 \times 100}{m} \times \frac{100}{100 - w_H} = \frac{140T(V_1 - V_0)}{m(100 - w_H)} \quad (1)$$

где

V_0 объем раствора серной кислоты (5.9), использованный для холостого опыта (мл);

V_1 объем раствора серной кислоты (5.9), использованный при анализе навески (мл);

0,014 значение количества азота, эквивалентное 1 мл раствора серной кислоты концентрацией 0,5 моль/л;

T нормальность раствора серной кислоты, использованного для титрования;

m масса навески, г;

w_H содержание влаги, определяемое в соответствии с Разделом 9.

Результат вычисляют до второго десятичного знака.

11.2 Содержание сырого протеина

Вычисляют содержание сырого протеина в сухом продукте путем умножения значения, полученного во время определения содержания азота (11.1) на коэффициент преобразования, адаптированный к виду зерновых или бобовых и в соответствии с их назначением.

Результат вычисляют до первого десятичного знака.

ПРИМЕЧАНИЕ Некоторые коэффициенты, используемые для зерновых, приводятся в Приложении С. Для других продуктов, как правило, применяют коэффициент 6,25.

12 Прецизионность

12.1 Межлабораторное испытание

Подробности межлабораторных испытаний по определению прецизионности метода обобщены в Приложении А. Значения, полученные на основании этих межлабораторных испытаний, не могут быть применены к другим диапазонам концентраций и образцам с другими матрицами, чем те, которые приведены в настоящем стандарте.

12.2 Повторяемость

Абсолютная разница между результатами двух независимых единичных испытаний, полученная при использовании одного и того же метода на идентичной пробе, в той же лаборатории, тем же оператором, используя одно и то же оборудование, за короткий промежуток времени, не более чем в 5 % случаев будет превышать предел повторяемости, r , рассчитанный по следующей Формуле (2):

$$r = (0,0063 \times w_p) \times 2,8 \quad (2)$$

где w_p — содержание сырого протеина в пробе, выражаемое как массовая доля сухого продукта, в процентах (см. Таблицу В.1).

Для продуктов, в которых содержание протеина составляет от 7 % до 80 %, см. Таблицу А.1 и Рисунок А.1.

12.3 Воспроизводимость

Абсолютная разница между результатами двух единичных испытаний, полученная при использовании одного и того же метода на идентичной пробе, в разных лабораториях, разными операторами на разном оборудовании, не более чем в 5 % случаев будет превышать предел воспроизводимости, R , рассчитанный по следующей Формуле (3):

$$R = (0,014 \times w_p) \times 2,8 \quad (3)$$

(см. Таблицу В.1).

Для продуктов, в которых содержание протеина составляет от 7 % до 80 %, см. Таблицу А.1 и Рисунок А.1.

12.4 Критическая разница

12.4.1 Сравнение двух групп измерений, проведенных в одной лаборатории

Критическая разница (CDr) между двумя средними значениями, каждое получено на основе результатов двух испытаний в условиях повторяемости, равна:

$$CDr = 1,98 \times s_r = 1,98 \times (0,0063 \times w_p) = 0,01247 \times w_p \quad (4)$$

(см. Таблицу В.1)