

## КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

### Фотометрический метод определения массовой доли лактозы

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2011

Предисловие

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

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

2 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 624-ст

3 Настоящий стандарт гармонизирован с международным стандартом ИСО 5548—80 «Казеины и казеинаты. Определение содержания лактозы. Фотометрический метод»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2011 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1999  
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2011

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

## ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

## КАЗЕИНЫ И КАЗЕИНАТЫ

## Фотометрический метод определения массовой доли лактозы

Caseins and caseinates.  
Photometric method for determination of lactose content

Дата введения 2001-01-01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на казеины и казеинаты массовой долей углеводов не более 2 %. Стандарт устанавливает фотометрический метод определения массовой доли лактозы и других растворимых углеводов.

Метод основан на растворении навески продукта в горячей воде или растворе, осаждении осадка фильтрации, окраске белкового осадка углеводов, фотометрического измерения и определения массовой доли лактозы в соответствии с калибровочным графиком.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 61-75 Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ 199-78 Натрий уксуснокислый 3-водный. Технические условия

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензуры, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118-77 Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4201-79 Натрий углекислый кислый. Технические условия

ГОСТ 4204-77 Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 6859-72 Приборы для отмеривания и отбора жидкостей. Технические условия

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 19814-74 Кислота уксусная синтетическая и регенерированная. Технические условия

ГОСТ 23519-93 Фенол синтетический технический. Технические условия

ГОСТ 24104-88\* Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26809-86 Молоко и молочные продукты. Правила приемки, методы отбора и подготовки проб к анализу

ГОСТ 29227-91 (ИСО 835-1-81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1

ГОСТ 29251-91 (ИСО 385-1-84) Посуда лабораторная стеклянная. Бюretки. Часть 1. Общие требования

ИСО 707-97\*\* Молоко и молочные продукты. Методы отбора проб

## 3 Определение

В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением:

**массовая доля лактозы в казеинах и казеинатах:** Отношение массы растворимых углеводов к массе навески продукта, умноженное на 100.

\* С 1 июля 2002 г. введен в действие ГОСТ 24104-2001. На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228-2008.

\*\* Действует до введения в действие ГОСТ Р, разработанного на основе соответствующего ИСО. С 11 августа 2008 г. действует ИСО 707:2008.

#### 4 Аппаратура, материалы и реактивы

Дозаторы серной кислоты по ГОСТ 6859 вместимостью 10 см<sup>3</sup>.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104, 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г и ценой поверочного деления 0,001 г.

Устройство измельчающее, без нагрева пробы при измельчении и без потери или поглощения влаги.

Колбы конические по ГОСТ 25336 вместимостью 100 и 500 см<sup>3</sup>.

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

Пробирки с притертыми пробками по ГОСТ 1770 вместимостью 40 см<sup>3</sup>.

Пипетки по ГОСТ 29227 исполнения 2, 1-го и 2-го класса точности, вместимостью 1, 2 и 10 см<sup>3</sup>.

Микропипетки вместимостью 0,2 см<sup>3</sup> и ценой деления 0,001 см<sup>3</sup>.

Баня водяная с возможностью установки температур (20 ± 1) °С и от 60 °С до 70 °С.

Цилиндры мерные по ГОСТ 1770 2-го класса точности вместимостью 25 см<sup>3</sup>.

Фотоэлектроколориметр диапазоном измерения при длине волны 490 нм, с кюветами разъемом оптического пути от 1 до 2 см.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Натрий углекислый кислый (NaHCO<sub>3</sub>) по ГОСТ 4201, ч. д. а.

Натрия трифосфат (Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub>) по технической документации, ч. д. а.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, раствор концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, х. ч.

Кислота серная концентрированная по ГОСТ 4204, плотностью 1,84 г/см<sup>3</sup>, раствор концентрации 1 моль/дм<sup>3</sup>, х. ч.

Кислота уксусная по ГОСТ 61, раствор 100 г уксусной кислоты в 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды, х. ч.

Натрий уксуснокислый (CH<sub>3</sub>COONa) по ГОСТ 199, раствор концентрации 1 моль/дм<sup>3</sup>, ч. д. а.

Фенол по ГОСТ 23519, раствор с массовой долей фенола 80 %.

Лактоза безводная, ч. д. а.

Кислота уксусная синтетическая и регенерированная по ГОСТ 19814.

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

#### 6 Подготовка к определению

##### 6.1 Подготовка пробы

6.1.1 В колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> помещают (50 ± 1) г казеина или казеината, закрывают колбу пробкой и перемешивают пробу десятикратным переворачиванием и встряхиванием колбы.

6.1.2 Тщательно перемешанную пробу переносят на лабораторное сито.

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

6.1.4 Если проба полностью или частично не проходит, измельчают (50 ± 5) г образца. Пробу просеивают и переносят в колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup>, закрывают пробкой и тщательно перемешивают не менее чем десятикратным переворачиванием колбы. Во время проведения этих работ необходимо исключить попадание влаги в продукт и дальнейшее определение проводить как можно скорее.

##### 6.2 Приготовление растворов для построения калибровочного графика

###### 6.2.1 Раствор лактозы

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают (2,000 ± 0,001) г безводной лактозы, доливают дистиллированной водой до метки и перемешивают до полного растворения. Раствор хранят при температуре 0 °С.

## 6.2.2 Приготовление градуированных растворов

## 6.2.2.1 Раствор А

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> пипеткой отмеряют 10 см<sup>3</sup> раствора лактозы (по 6.2.1) и доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см<sup>3</sup> раствора А содержится 2 мг безводной лактозы.

## 6.2.2.2 Раствор № 1

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> пипеткой отмеряют 1 см<sup>3</sup> раствора А и доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см<sup>3</sup> раствора содержится 20 мкг безводной лактозы.

## 6.2.2.3 Раствор № 2

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> пипеткой отмеряют 2 см<sup>3</sup> раствора А, доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см<sup>3</sup> раствора содержится 40 мкг безводной лактозы.

## 6.2.2.4 Раствор № 3

В мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> пипеткой отмеряют 3 см<sup>3</sup> раствора А, доливают дистиллированной водой до метки.

В 1 см<sup>3</sup> раствора содержится 60 мкг безводной лактозы.

## 6.2.2.5 Раствор сравнения

В колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят (0,100 ± 0,001) г углекислого кислого натрия для кислотного казеина или (0,100 ± 0,001) г трифосфата натрия — для сырчужного казеина и доливают 25 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Перемешивают встряхиванием и ставят на водяную баню при температуре (65 ± 5) °С до полного растворения. Далее обработка раствора по 6.3.4.

## 6.3 Подготовка фильтрата в соответствии с требованиями, изложенными в приложении А

6.3.1 Навеску массой (1,00 ± 0,01) г казеина или казеината по 6.1 помещают в коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и добавляют (кроме казеината):

- для кислотного казеина — (0,100 ± 0,001) г углекислого кислого натрия (NaHCO<sub>3</sub>);
- для сырчужного казеина — (0,100 ± 0,001) г трифосфата натрия (Na<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>10</sub>).

6.3.2 В колбу доливают 25 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, ставят на водяную баню температурой от 60 до 70 °С. Колбу периодически перемешивают встряхиванием.

6.3.3 Нагревание проводят в течение 10—15 мин до полного растворения навески.

6.3.4 Колбу охлаждают до комнатной температуры и постепенно добавляют:

- 15 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и перемешивают встряхиванием;
- 8 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты или раствора серной кислоты концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup> и перемешивают встряхиванием;

- 1 см<sup>3</sup> раствора уксусной кислоты и перемешивают встряхиванием.

Колбу оставляют на 5 мин.

Затем добавляют 1 см<sup>3</sup> раствора ацетата натрия и перемешивают встряхиванием.

Колбу оставляют до полного осаждения казеинового преципитата.

Раствор фильтруют через сухую фильтровальную бумагу.

## 7 Проведение определения

7.1 В пробирку вместимостью 40 см<sup>3</sup> отмеряют пипеткой 2 см<sup>3</sup> фильтрата, добавляют микропипеткой 0,2 см<sup>3</sup> раствора фенола массовой долей 80 % и перемешивают встряхиванием.

Доливают концентрированную серную кислоту при помощи дозатора со скоростью 5 см<sup>3</sup>/с. Струю кислоты направляют на поверхность раствора, а не по стенке пробирки, при этом хорошо перемешивают.

Содержимое пробирки вновь тщательно перемешивают встряхиванием и оставляют в покое на 15 мин.

Охлаждают в течение 5 мин на водяной бане при температуре (20 ± 2) °С и приступают к измерению.

Измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 490 нм с использованием раствора сравнения, приготовленного по 6.2.2.5.

Если значение оптической плотности выше верхнего предела, указанного калибровочной кривой, повторяют измерение с использованием 2 см<sup>3</sup> разбавленного раствора фильтрата вместо самого фильтрата.

П р и м е ч а н и е — Если делается такое разбавление, то в формуле расчета по 8.1 проводят соответствующую корректировку.

## 7.2 Построение калибровочного графика

В четыре пробирки для анализа помещают 2 см<sup>3</sup> каждого из трех градуировочных растворов по 6.2 и приливают к ним 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды.

Измеряют оптическую плотность трех градуировочных растворов с использованием раствора сравнения, подготовленного по 6.2.2.5.

Строят калибровочный график нанесением значений массовой концентрации безводной лактозы и результатов измерения оптической плотности.

## 8 Обработка результатов

### 8.1 Массовую долю лактозы в навеске $M, \%$ , вычисляют по формуле

$$M = \frac{c \cdot 50 \cdot 10^{-6}}{m} \cdot 100,$$

где  $c$  — массовая концентрация безводной лактозы, определенная по градуировочному графику, мкг/см<sup>3</sup>;

$m$  — масса навески продукта, г;

50 — объем раствора казеина или казеината, см<sup>3</sup>.

## 9 Метрологические характеристики

### 9.1 Сходимость

Разность двух результатов определений, полученных при анализе одной и той же пробы одним и тем же лаборантом за короткий промежуток времени, не должна превышать 0,03 % при массовой доле лактозы менее или равной 0,2 % и вероятности  $P = 0,95$ .

### 9.2 Воспроизводимость

Разность двух единичных и независимых результатов определений, полученных двумя лаборантами, работающими в разных лабораториях с одной и той же пробой, не должна превышать 0,04 % при массовой доле лактозы менее или равной 0,2 % и вероятности  $P = 0,95$ .

9.3 Если расхождение результатов двух параллельных определений (сходимость) превышает 0,03 %, то повторно проводят два новых определения.

ПРИЛОЖЕНИЕ А  
(обязательное)

## Подготовка фильтрата

Вид продукта	Масса навески, г	Бикарбонат натрия $\text{NaHCO}_3$	Пентанатрийтрифосфат $\text{Na}_5\text{H}_4\text{O}_10$	Объем воды, см <sup>3</sup>	Время выдержки при нагревании, мин	Объем волны, см <sup>3</sup>	Объем $\text{HClH}_2\text{SO}_4$	Уксусная кислота, см <sup>3</sup>	Время выдержки, мин	Ацетат натрия $\text{CH}_3$ $\text{COO Na}$ (с-н <sup>2</sup> )
Казеинаты	$1 \pm 0,01$			25	10—15	15	8	1	5	1
Кислотные казеины	$1 \pm 0,01$	$0,1 \pm 0,001$		25	10—15	15	8	1	5	1
Сычужные казеины	$1 \pm 0,01$		$0,1 \pm 0,001$	25	10—15	15	8	1	5	1
Раствор сравнения для кислотного казеина		$0,1 \pm 0,001$		25	—	—	—	—	—	—
Раствор сравнения для сычужного казеина			$0,1 \pm 0,001$	25	—	—	—	—	—	—

УДК 637.2/.3/.147.2:006.354

ОКС 67.100.10

Н19

ОКСТУ 9209

Ключевые слова: казеин, казеинаты, метод определения, массовая доля лактозы, растворение навески продукта, обработка результатов

