

UKD 637.344.001.4

WYROBY PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO	NORMA BRANŻOWA	BN-66
	Serwatka Metody badań	8049-02
		Grupa katalogowa XII-19

A544

12 19

### 1. WSTĘP

**1.1. Przedmiot normy.** Przedmiotem normy są badania organoleptyczne i chemiczne serwatki kwasowej, podpuszczkowej i włókienniczej.

#### 1.2. Normy związane

PN-68/A-86122 Mleko. Metody badań

PN-70/N-02120 Zasady zaokrąglania i zapisywania liczb

### 2. METODY BADAŃ ORGANOLEPTYCZNYCH

**2.1. Określanie zapachu.** Zapach serwatki należy określić bezpośrednio po otwarciu opakowania, wg kryteriów normy przedmiotowej.

**2.2. Określanie barwy i wyglądu.** Na płytkę Petriego ustawioną na białym tle nałożyć taką ilość serwatki, aby grubość warstwy wynosiła nie mniej niż 0,5 cm. Następnie obserwować barwę i wygląd.

**2.3. Określanie zanieczyszczeń mechanicznych.** Zanieczyszczenia mechaniczne określić wg PN-68/A-86122. Ocenic wg kryteriów normy przedmiotowej.

### 3. METODY BADAŃ CHEMICZNYCH

**3.1. Przygotowanie próbki do badań.** Próbkę serwatki doprowadzić do temperatury 20°C i dokładnie wymieszać. Mieszanie próbki należy powtarzać przed każdorazowym pobraniem serwatki do poszczególnych oznaczeń.

#### 3.2. Oznaczanie kwasowości

**3.2.1. Zasada oznaczania** polega na miareczkowaniu serwatki roztworem wodorotlenku sodowego wobec fenoloftaleiny.

**3.2.2. Przyrządy.** Kolba stożkowa pojemności 200cm<sup>3</sup>.

#### 3.2.3. Odczynniki

a) Wodorotlenek sodowy, roztwór 0,25N.

b) Fenoloftaleina 2-procentowy roztwór alkoholowy.

**3.2.4. Wykonanie oznaczania.** Do kolby stożkowej odmierzyć 50cm<sup>3</sup> serwatki, dodać 2cm<sup>3</sup> fenolofta-

leiny i miareczkować 0,25N roztworem wodorotlenku sodowego do otrzymania lekko różowego zabarwienia utrzymującego się przez 20 s.

**3.2.5. Obliczanie wyniku.** Kwasowość serwatki w stopniach Soxhlet - Henkla ( $X_1$ ) obliczyć wg wzoru

$$X_1 = 2 \cdot a \quad (1)$$

w którym:

a - ilość 0,25N roztworu wodorotlenku sodowego zużytego do miareczkowania, cm<sup>3</sup>.

**3.2.6. Wynik.** Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,2. Wynik zaokrąglić do pierwszego miejsca po przecinku wg PN-70/N-02120.

#### 3.3. Oznaczanie gęstości

**3.3.1. Zasada oznaczania** polega na areometrycznym oznaczaniu gęstości.

#### 3.3.2. Przyrządy

a) Laktodensymetr o temperaturze odniesienia 20°C.

b) Cylinder pojemności 250cm<sup>3</sup>.

**3.3.3. Wykonanie oznaczania.** Temperatura serwatki przy oznaczaniu gęstości nie powinna być niższa niż 15°C i nie wyższa niż 25°C. Serwatkę wlać ostrożnie po ścianie do suchego cylindra w ilości potrzebnej do swobodnego zanurzenia się laktodensymetru. Suchy laktodensymetr zanurzyć powoli w serwatce tak, aby nie zamoczyć skali powyżej stanu równowagi.

Po ustaleniu wahań laktodensymetru odczytać stopień jego zanurzenia wg menisku górnego i temperaturę serwatki.

Laktodensymetr w czasie odczytywania stopnia zanurzenia nie powinien dotykać ścianek cylindra.

**3.3.4. Obliczanie wyniku.** Gęstość serwatki w temperaturze 20°C odczytać z tabl. 1 na podstawie pomiaru stopni laktodensymetru oraz temperatury serwatki w czasie przeprowadzania oznaczania.

Centralny Związek Spółdzielni Mleczarskich  
Ustanowiona przez Zarząd CZSM dnia 27 stycznia 1966 r.  
jako norma obowiązująca w zakresie metod badań od dnia 1 lipca 1966 r.  
(Mon. Pol. nr 30/1966 poz. 159)

Tablica 1

Stopień zanurzenia lakto-densy-metru	Temperatura serwatki w °C w czasie przeprowadzania oznaczania															
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
	Ciężar właściwy serwatki odniesiony do temperatury 20°C															
25	1,0233	1,0235	1,0236	1,0237	1,0239	1,0240	1,0242	1,0244	1,0246	1,0248	1,0250	1,0252	1,0254	1,0255	1,0258	1,0260
26	1,0242	1,0244	1,0245	1,0247	1,0249	1,0250	1,0252	1,0254	1,0256	1,0258	1,0260	1,0262	1,0264	1,0266	1,0268	1,0270
27	1,0251	1,0253	1,0254	1,0256	1,0257	1,0259	1,0261	1,0263	1,0265	1,0268	1,0270	1,0272	1,0275	1,0277	1,0279	1,0282
28	1,0260	1,0261	1,0263	1,0265	1,0266	1,0268	1,0270	1,0273	1,0275	1,0278	1,0280	1,0282	1,0285	1,0287	1,0290	1,0292
29	1,0269	1,0271	1,0273	1,0275	1,0276	1,0278	1,0280	1,0283	1,0285	1,0288	1,0290	1,0292	1,0295	1,0297	1,0300	1,0302
30	1,0279	1,0281	1,0283	1,0285	1,0286	1,0288	1,0290	1,0293	1,0295	1,0298	1,0300	1,0302	1,0305	1,0307	1,0310	1,0312
31	1,0288	1,0290	1,0292	1,0294	1,0296	1,0298	1,0301	1,0303	1,0305	1,0308	1,0310	1,0312	1,0315	1,0317	1,0320	1,0322
32	1,0298	1,0300	1,0302	1,0304	1,0306	1,0307	1,0310	1,0312	1,0315	1,0318	1,0320	1,0323	1,0325	1,0328	1,0330	1,0333
33	1,0307	1,0308	1,0311	1,0313	1,0315	1,0317	1,0320	1,0322	1,0325	1,0328	1,0330	1,0333	1,0335	1,0338	1,0341	1,0343
34	1,0317	1,0319	1,0321	1,0323	1,0325	1,0327	1,0330	1,0332	1,0335	1,0338	1,0340	1,0343	1,0344	1,0348	1,0351	1,0353
35	1,0326	1,0328	1,0331	1,0333	1,0335	1,0337	1,0340	1,0342	1,0345	1,0347	1,0350	1,0353	1,0355	1,0358	1,0361	1,0363
36	1,0335	1,0338	1,0340	1,0343	1,0345	1,0347	1,0349	1,0352	1,0356	1,0357	1,0360	1,0362	1,0365	1,0367	1,0370	1,0373

Wynik podać z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku.

#### 3.4. Oznaczania zawartości tłuszczu

3.4.1. Zasada oznaczania polega na rozpuszczeniu białka w kwasie siarkowym, wydzielaniu tłuszczu za pomocą wirowania i określeniu jego zawartości.

##### 3.4.2. Aparatura i przyrządy

- Wirówka Gerbera.
- Łaźnia wodna.
- Tłuszczomierz Siegfelda.

##### 3.4.3. Odczynniki

- Kwas siarkowy cz. (1,815 ÷ 1,820).
- Alkohol izoamylowy cz. (0,815).

3.4.4. Wykonanie oznaczania. Do tłuszczomierza Siegfelda odmierzyć 20 cm<sup>3</sup> kwasu siarkowego i 2 razy po 11 cm<sup>3</sup> serwatki wlewając ją ostrożnie po ścianie tłuszczomierza. Następnie dodać 2 cm<sup>3</sup> alkoholu izoamylowego, tłuszczomierz zakorkować i po dokładnym wymieszaniu zawartości przed odwrócenie wstawić do łaźni wodnej o temperaturze 65 ÷ 70°C na 5 + 10 min. W czasie ogrzewania należy mieszać od czasu do czasu zawartość tłuszczomierza do momentu całkowitego rozpuszczenia białka. Następnie wyjąć tłuszczomierz z łaźni i wirować w wirówce przez 5 min.

Po odwirowaniu umieścić tłuszczomierz na 5 min w łaźni wodnej, a następnie wprowadzić warstwę tłuszczu na skalę tłuszczomierza. W przypadku stwierdzenia nierozpuszczalnych cząstek białka należy zawartość tłuszczomierza dokładnie wymieszać przez odwrócenie i wstrząsanie.

Wirowanie powtórzyć jeszcze raz, po czym umieścić tłuszczomierz na 5 min w łaźni wodnej o temperaturze 65 + 70°C tak, aby zawartość tłuszczomierza znajdowała się pod wodą. Następnie spraw-

dzić na skali tłuszczomierza dolny poziom słupka tłuszczu i uregulować za pomocą korka do poziomu podziałki zerowej.

W przypadku regulowania słupka tłuszczu należy tłuszczomierz jeszcze raz ogrzewać w łaźni wodnej przez 5 min. Po wyjęciu tłuszczomierza z łaźni odczytać zawartość tłuszczu w procentach wg menisku dolnego z dokładnością do 0,01.

3.4.5. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,02.

Wynik zaokrąglić do drugiego miejsca po przecinku wg PN-70/N-02120.

#### 3.5. Oznaczanie zawartości suchej masy

3.5.1. Metody oznaczania. Rozróżnia się dwie metody oznaczania zawartości suchej masy:

- metoda przez suszenie - odwoławcza,
- metoda refraktometryczna - techniczna.

3.5.2. Oznaczanie zawartości suchej masy przez suszenie - metoda odwoławcza.

3.5.2.1. Zasada oznaczania polega na wysuszeniu serwatki wraz z bibułą do sączenia w temperaturze 102°C i wagowym ustaleniu pozostałości.

##### 3.5.2.2. Przyrządy i materiały pomocnicze

- Suszarka.
- Naczynko wagowe o średnicy 25 mm i wysokości 40 mm.
- Paski bibuły do sączenia szerokości około 30 mm i długości około 60 mm.

3.5.2.3. Wykonanie oznaczania. Naczynko wagowe ze spiralnie zwiniętymi dwoma paskami bibuły do sączenia suszyć w suszarce w temperaturze 102 ± 2°C przez 1h, po czym ostudzić w eksykatorze i zważyć z dokładnością do 0,0001 g.

Do naczynka odmierzyć 5cm<sup>3</sup> serwatki i zważyć. Naczynko wstawić do suszarki o temperaturze 60°C na 3 h, po czym podnieść temperaturę do 102 ± 2°C i suszyć w tej temperaturze przez 3 h. Naczynko ostudzić w eksykatorze i zważyć z dokładnością do 0,0001 g.

Suszenie powtórzyć jeszcze raz przez 1 h i po ostudzeniu zważyć. Jeżeli różnica między kolejnymi ważeniami nie przekracza 0,001 g, suszenie należy uważać za zakończone, w przeciwnym razie suszyć jeszcze raz przez 1 h. W przypadku wzrostu masy naczynka z zawartością, do obliczeń przyjmując poprzednią najniższą masę.

3.5.2.4. Obliczenie wyniku. Procentową zawartość suchej masy w serwatce ( $X_2$ ) obliczyć wg wzoru

$$X_2 = \frac{(b-c) \cdot 100}{a-c} \quad (2)$$

w którym:

- a - masa naczynka z bibułą do sączenia i serwatką przed suszeniem, g,
- b - masa naczynka z bibułą do sączenia i serwatką po wysuszeniu, g,
- c - masa naczynka z bibułą do sączenia, g.

3.5.2.5. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,1.

Wynik zaokrąglić do drugiego miejsca po przecinku wg PN-70/N-02120.

3.5.3. Oznaczanie suchej masy metoda refraktryczna - techniczna

3.5.3.1. Zasada oznaczania polega na pomiarze współczynnika załamania światła odczytanego na skali cukrowej.

3.5.3.2. Aparatura i przyrządy

- a) Refraktometr typu Abbego ze skalą cukrową.
- b) Ultratermostat.

3.5.3.3. Wykonanie oznaczania. Refraktometr podłączyć do ultratermostatu o temperaturze 20°C. Po uzyskaniu w refraktometrze temperatury 20°C nanieść za pomocą pręcika szklanego na dolny przyzmat refraktometru 2-3 krople serwatki o temperaturze 20°C i nakryć górnym przyzmatem.

Odczyt na skali cukrowej przeprowadzić co najmniej trzykrotnie z dokładnością do 0,05. Do obliczeń przyjmując średnią arytmetyczną odczytów nie różniących się między sobą więcej niż o 0,1.

3.5.3.4. Obliczanie wyniku. Procentową zawartość suchej masy w serwatce ( $X_3$ ) obliczyć wg wzoru

$$X_3 = 0,953a - 0,15 \quad (3)$$

w którym:

- a - odczyt dokonany na refraktometrze, 0,953 i 0,15 - współczynniki ustalone doświadczalnie, pozwalające na korzystanie ze skali cukrowej do oznaczania suchej masy w serwatce.

Wynik podać z dokładnością do drugiego miejsca po przecinku.

3.6. Oznaczanie zawartości laktozy

3.6.1. Metody oznaczania. Rozróżnia się dwie metody oznaczania laktozy:

- a) metoda Bertranda - odwoławcza,
- b) metoda polarymetryczna - techniczna.

3.6.2. Oznaczanie zawartości laktozy metoda Bertranda - odwoławczą

3.6.2.1. Zasada oznaczania polega na redukcji soli miedziowych do tlenku miedziowego przez laktozę, manganometrycznym oznaczeniu zredukowanej miedzi i przeliczeniu jej za pomocą tablic na laktozę uwodnioną.

3.6.2.2. Przyrządy

- a) Zlewka pojemności 50 + 100cm<sup>3</sup>.
- b) Kolba pomiarowa pojemności 250cm<sup>3</sup>.
- c) Kolby stożkowe pojemności 200 i 500cm<sup>3</sup>.
- d) Kolby ssawkowe pojemności 250 + 300cm<sup>3</sup>.
- e) Lejek Schotta 3 g 4.
- f) Pompa próżniowa.

3.6.2.3. Odczynniki

a) Płyny Carreza:

- I - żelazocyjanek potasowy cz.d.a.  $[K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$ , roztwór 15-procentowy,
- II - siarczan cynkowy cz.d.a.  $(ZnSO_4 \cdot 7H_2O)$ , roztwór 30-procentowy.

b) Płyny Bertranda:

- I - 40 g siarczanu miedziowego cz.d.a.  $(CuSO_4 \cdot 5H_2O)$  rozpuścić w wodzie destylowanej i uzupełnić do objętości 1000cm<sup>3</sup>,

II - 200 g winianu sodowo-potasowego cz.d.a.  $(NaKH_4C_4O_6 \cdot 4H_2O)$  rozpuścić w 500cm<sup>3</sup> wody destylowanej i następnie ostrożnie dodać 150 g wodorotlenku sodowego uprzednio rozpuszczonego w 250cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Całość uzupełnić wodą destylowaną do objętości 1000cm<sup>3</sup>,

III - 50 g siarczanu żelazowego cz.d.a.  $[Fe_2(SO_4)_3]$  rozpuścić w 500cm<sup>3</sup> gorącej wody destylowanej i po ostudzeniu ostrożnie dodać 200cm<sup>3</sup> kwasu siarkowego (1,84). Po ostudzeniu całość uzupełnić wodą destylowaną do objętości 1000cm<sup>3</sup>. Następnie dodać kroplami 0,1N roztwór nadmanganianu potasowego do otrzymania trwałego lekko różowego zabarwienia.

- c) Nadmanganian potasowy, roztwór 0,1N.
- d) Bibuła do sączenia.

3.6.2.4. Wykonanie oznaczania. Odważyć w zlewce 25,0 g serwatki z dokładnością do 0,01 g i przenieść ilościowo do kolby pomiarowej pojemności 250cm<sup>3</sup> popłukując zlewkę kilkakrotnie wodą destylowaną w łącznej objętości około 100cm<sup>3</sup>. Dodać po 5cm<sup>3</sup> I i II płynu Carreza, wymieszać, uzupełnić kolbę wodą destylowaną do kreski. Ponownie wymieszać i pozostawić w spokoju na około 10 min. Następnie przesączyć przez bibułę do sączenia do suchej kolby stożkowej pojemności 500cm<sup>3</sup>.

Do kolby stożkowej pojemności 200cm<sup>3</sup> odmierzyć 20cm<sup>3</sup> klarownego przesącza, dodać po 20cm<sup>3</sup> I i II płynu Bertranda i ogrzewać intensywnie nad pal-

nikiem, aby szybko osiągnąć punkt wrzenia. Od chwili zagotowania utrzymać roztwór w stanie lekkiego wrzenia dokładnie przez 3 min. Następnie kolbę z zawartością szybko oziębić wstawiając do zimnej wody i natychmiast obmyć ścianki ciepłą wodą destylowaną tak, aby cały osad tlenku miedziawego znalazł się pod wodą.

Płyn pod osadem powinien mieć barwę niebieską.

Strącony osad sączyć przez lejek Schotta umieszczony w kolbie ssawkowej, przy użyciu pompy próżniowej. Osad przepłukać kilkakrotnie ciepłą wodą destylowaną uważając, aby nad osadem była zawsze warstwa wody. Osad w kolbie stożkowej rozpuścić w 20cm<sup>3</sup> III płynu Bertranda, przesączyć przez lejek Schotta do drugiej kolby ssawkowej. Kolbę stożkową i lejek opłukać kilkakrotnie wodą destylowaną w łącznej objętości około 50cm<sup>3</sup>. Płyn w kolbie ssawkowej bezpośrednio miareczkować 0,1N roztworem nadmanganianu potasowego do otrzymania różowego zabarwienia utrzymującego się przez 30 s.

**3.6.2.5. Obliczanie wyniku.** Liczbę mililitrów 0,1N roztworu nadmanganianu potasowego przeliczyć namiligramy miedzi (1cm<sup>3</sup> 0,1N KMnO<sub>4</sub> odpowiada 6,357 mg Cu). Z tabl. 2 odczytać ilość miligramów laktozy uwodnionej odpowiadającą obliczonej ilości miligramów miedzi.

Tablica 2. Ilość zredukowanej miedzi i odpowiadająca ilość laktozy uwodnionej w metodzie Bertranda

Ilość miedzi w miligramach	Odpowiadająca ilość laktozy uwodnionej w miligramach	Ilość miedzi w miligramach	Odpowiadająca ilość laktozy uwodnionej w miligramach	Ilość miedzi w miligramach	Odpowiadająca ilość laktozy uwodnionej w miligramach
30	22,26	57	43,38	84	65,28
31	23,03	58	44,18	85	66,11
32	23,80	59	44,98	86	66,96
33	24,57	60	45,78	87	67,78
34	25,34	61	46,58	88	68,61
35	26,10	62	47,38	89	69,43
36	26,88	63	48,18	90	70,26
37	27,66	64	48,99	91	71,09
38	28,42	65	49,80	92	71,91
39	29,20	66	50,61	93	72,75
40	29,97	67	51,42	94	73,58
41	30,75	68	52,23	95	74,41
42	31,51	69	53,03	96	75,25
43	32,29	70	53,84	97	76,08
44	33,06	71	54,65	98	76,91
45	33,84	72	55,46	99	77,75
46	34,63	73	56,27	100	78,58
47	35,43	74	57,08	101	79,42
48	36,22	75	57,90	102	80,25
49	37,01	76	58,72	103	81,09
50	37,80	77	59,55	104	81,93
51	38,60	78	60,36	105	82,78
52	39,39	79	61,18	106	83,62
53	40,18	80	62,00	107	84,46
54	41,04	81	62,82	108	85,30
55	41,77	82	63,64	109	86,14
56	42,58	83	64,46	110	86,99

cd tabl. 2.

Ilość miedzi w miligramach	Odpowiadająca ilość laktozy uwodnionej w miligramach	Ilość miedzi w miligramach	Odpowiadająca ilość laktozy uwodnionej w miligramach	Ilość miedzi w miligramach	Odpowiadająca ilość laktozy uwodnionej w miligramach
111	87,83	118	93,78	125	99,77
112	88,67	119	94,63	126	100,62
113	89,52	120	95,48	127	101,48
114	90,38	121	96,33	128	102,33
115	91,23	122	97,19	129	103,20
116	92,07	123	98,04	130	104,06
117	92,92	124	98,90	131	104,91
				132	105,74

Procentową zawartość laktozy w serwatce ( $X_4$ ) obliczyć wg wzoru

$$X_4 = \frac{a \cdot 250 \cdot 100}{25 \cdot 20 \cdot 1000} = \frac{a}{20} \quad (4)$$

w którym:  $a$  - ilość laktozy uwodnionej odczytana z tablicy 2, mg.

**3.6.2.6. Wynik.** Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,08.

Wynik zaokrąglić do drugiego miejsca po przecinku wg PN-70/N-02120.

### 3.6.3. Oznaczanie zawartości laktozy metodą polarymetryczną - techniczną

**3.6.3.1. Zasada oznaczania** polega na pomiarze kąta skręcenia płaszczyzny polaryzacji odbiałczanego roztworu serwatki.

#### 3.6.3.2. Aparatura i przyrządy

- Polarymetr.
- Kolba pomiarowa pojemności 100cm<sup>3</sup>.
- Kolba stożkowa pojemności 250cm<sup>3</sup>.

#### 3.6.3.3. Odczynniki

- Płyny Carreza:

I - żelazocyjanek potasowy cz.d.a. [K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>5</sub> · 3H<sub>2</sub>O] roztwór 15-procentowy.

II - siarczan cynkowy cz.d.a. (ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O) roztwór 30-procentowy.

- Amoniak roztwór 25-procentowy.

- Bibuła do sączenia.

**3.6.3.4. Wykonanie oznaczania.** Do kolby pomiarowej pojemności 100cm<sup>3</sup> odmierzyć 70cm<sup>3</sup> serwatki, dodać po 5cm<sup>3</sup> I i II płynu Carreza, wymieszać, dodać 2-3 krople amoniaku, ponownie wymieszać i uzupełnić kolbę wodą destylowaną do kreski. Całość wymieszać dokładnie i odstawić na około 10 min. Następnie przesączyć przez bibułę do sączenia do kolby stożkowej.

Przesączony roztwór odstawić na 30 min i dopiero po tym czasie doprowadzić do temperatury 20°C, a następnie oznaczyć kąt skręcania w polarymetrze w świetle sodowym. Odczyt przeprowadzić co naj-

mniej trzykrotnie z dokładnością do 0,1 i do obliczeń przyjmując średnią arytmetyczną odczytów nieróżniących się między sobą więcej niż o 0,1.

**3.6.3.5. Obliczanie wyniku.** Procentową zawartość laktozy w serwatce ( $X_5$ ) obliczyć wg wzoru

$$X_5 = \frac{\alpha \cdot 100 \cdot 100}{l \cdot 52,5 \cdot 70} = \frac{\alpha \cdot 2,721}{l} \quad (5)$$

w którym:

- $\alpha$  - kąt skręcania odczytany w polarymetrze,
- $l$  - długość rurki polarymetrycznej, dm,
- 52,5 - skręcalność właściwa laktozy uwodnionej.

**3.6.3.6. Wynik.** Za wynik należy przyjmując średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,15.

Wynik zaokrąglić do drugiego miejsca po przecinku wg PN-70/N-02120.

Maksymalny błąd metody wynosi 10%.

### 3.7. Oznaczanie zawartości białka metoda Kjeldahla

**3.7.1. Zasada oznaczania** polega na przeprowadzeniu organicznych związków azotu w siarczan amonowy za pomocą stężonego kwasu siarkowego w obecności katalizatora, zalkalizowaniu roztworu, destylacji i miareczkowaniu kwasem solnym amoniaku związanego w kwasie borowym.

#### 3.7.2. Aparatura i przyrządy

- a) Naczynko wagowe średnicy 30 mm i wysokości 40 mm.
- b) Kolba Kjeldahla pojemności 250 ÷ 500 cm<sup>3</sup>.
- c) Kolba stożkowa pojemności 500 cm<sup>3</sup>.
- d) Chłodnica dopasowana do kolby Kjeldahla.
- e) Zestaw do spalań elektryczny lub gazowy o regulowanej intensywności grzania pozwalającej na doprowadzanie do wrzenia 250 cm<sup>3</sup> wody o temperaturze pokojowej w kolbie Kjeldahla pojemności 500 cm<sup>3</sup> w ciągu 5 min.

f) Aparat Parnasa-Wagnera lub każdy inny zestaw do destylacji zapewniający całkowitą szczelność.

#### 3.7.3. Odczynniki i materiały pomocnicze

- a) Siarczan miedziowy cz. ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).
- b) Siarczan potasowy cz. ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ).
- c) Kwas siarkowy cz. (1,83 - 1,84).
- d) Wodorotlenek sodowy cz. roztwór około 33-procentowy: 500 g NaOH rozpuścić w 1000 cm<sup>3</sup> wody destylowanej.

e) Kwas borowy cz. ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) roztwór około 2-procentowy: 20 g kwasu borowego rozpuścić w 1000 cm<sup>3</sup> wody destylowanej.

f) Kwas solny roztwór mianowany 0,1N.

g) Wskaźnik Taschiro: 0,2 g czerwieni metylowej rozpuścić w 50 cm<sup>3</sup> 96-procentowego alkoholu etylowego; kolbę z roztworem umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 65°C do całkowitego rozpuszczenia czerwieni metylowej; 0,1 g błękitu metylenowego rozpuścić w 150 cm<sup>3</sup> 50-procentowego alkoholu etylowego; zmieszać obydwa roztwory i przesączyć do butelki z ciemnego szkła.

h) Substancje zapobiegające przegrzewaniu w czasie mineralizacji np. perełki szklane, porcelanka i w czasie destylacji - cynk metaliczny cz. granulowany.

**3.7.4. Próba ślepa.** W celu kontroli odczynników należy przeprowadzić ślepa próbę ściśle odpowiadającą sposobowi przeprowadzenia oznaczania, biorąc zamiast właściwej próbki równoważną ilość substancji organicznej wolnej od azotu (sacharoza).

Próba ślepa powinna dawać wynik praktycznie zerowy (błąd rzędu jednej kropli mianowanego 0,1N roztworu kwasu solnego).

Jeżeli wynik ślepej próby jest nieduży (rzędu do 0,2 cm<sup>3</sup> 0,1N kwasu solnego) należy go uwzględnić w końcowym obliczeniu. Wynik wyższy wymaga zmiany zestawu odczynników lub wyeliminowania odczynników zawierających związki azotu. Próba ślepa powinna być wykonana każdorazowo przy zmianie odczynników:

**3.7.5. Wykonanie oznaczania.** Do naczynka wagowego odmierzyć 10 cm<sup>3</sup> serwatki, przykryć naczynko pokrywką i zważyć z dokładnością do 0,0001 g. Serwatkę z naczynka przenieść za pomocą pręcika szklanego do kolby Kjeldahla zawierającej substancje zapobiegające przegrzewaniu w czasie mineralizacji, pręcik szklany opłukać kilkoma kroplami wody destylowanej do kolby Kjeldahla i naczynko ponownie zważyć. Następnie dodać 0,25 g siarczanu miedziowego i 6,0 g siarczanu potasowego odważonego z dokładnością do 0,01 g oraz 12 cm<sup>3</sup> kwasu siarkowego. Zawartość kolby ostrożnie wymieszać. Kolbę umieścić pod wyciągiem w zestawie do spalań w ten sposób, aby oś nachylenia kolby była pod kątem 30 ÷ 45° w stosunku do pionu. Zawartość kolby ostrożnie ogrzewać uważając ażeby powstała piana nie dostała się do szyjki kolby. Gdy zawartość kolby przestanie się pieniać, umieścić chłodnicę z wodą w szyjce kolby i ogrzewać silniej w warunkach wg 3.7.2 e), aż do uzyskania przezroczystej cieczy, która nie zmienia już swego zabarwienia. Od tego momentu ogrzewać ciecz w tych samych warunkach jeszcze przez 1,5 h.

Temperatura mineralizacji powinna wynosić 360 ÷ 380°C. W czasie spalania należy unikać przegrzania ścianek kolby w miejscach gdzie nie stykają się one z cieczą.

W przypadku gazowego urządzenia do spalań należy stosować siatki azbestowe z otworem o średnicy mniejszej niż średnica kolby na wysokości menisku cieczy.

Po zakończeniu spalania kolbę pozostawić do ostygnięcia do temperatury pokojowej. Po ostygnięciu zawartość kolby rozcieńczyć wodą destylowaną w ilości około 200 cm<sup>3</sup>. Przy przenoszeniu zawartości kolby Kjeldahla do kolby destylacyjnej część dodawanej wody destylowanej użyć do ilościowego przeniesienia.

Do kolby stożkowej służącej jako odbieralnik odmierzyć 50 cm<sup>3</sup> roztworu kwasu borowego i 8 krop-

li wskaźnika Taschiro. Odbieralnik umieścić pod chłodnicą, zanurzając rurkę chłodnicy w kwasie.

Do kolby destylacyjnej, a w przypadku bezpośredniej destylacji do kolby Kjeldahla, w której znajduje się rozcieńczona próbka dodać 40cm<sup>3</sup> roztworu wodorotlenku sodowego. Dodawanie wodorotlenku sodowego powinno odbywać się bardzo ostrożnie w celu uniknięcia przegrzania się mieszaniny oraz ewentualnych strat amoniaku. Przy destylacji bez pary wodnej do kolby destylacyjnej lub kolby Kjeldahla wrzucić ostrożnie granulę cynku. Następnie aparat zamknąć i rozpocząć destylację, która powinna trwać przynajmniej 20 min dla destylacji z parą wodną i 30 min w przypadku destylacji bez pary wodnej.

Objętość destylatu powinna wynosić około 150cm<sup>3</sup>. Bezpośrednio przed zakończeniem destylacji obniżyć odbieralnik w ten sposób, aby rurka chłodnicy znalazła się nad poziomem cieczy i pozwolić, aby ostatnie krople destylatu opłukały wewnętrzne ścianki rurki. Po zakończeniu destylacji zewnętrzne ścianki rurki spłukać niewielką ilością wody destylowanej do odbieralnika.

Destylat zmiareczkować 0,1N roztworem kwasu solnego do barwy różowofioletowej.

3.7.6. Obliczanie wyniku. Procentową zawartość białka w serwatce ( $X_6$ ) obliczyć wg wzoru

$$X_6 = \frac{(a-b) \cdot m \cdot 1,4 \cdot 6,38 \cdot 100}{(c-d) \cdot 1000} = \frac{(a-b) \cdot 0,8932}{c-d} \quad (6)$$

w którym:

- a - ilość 0,1N roztworu kwasu solnego użytego do zmiareczkowania próby właściwej, cm<sup>3</sup>,
- b - ilość 0,1N roztworu kwasu solnego użytego do zmiareczkowania próby ślepej, cm<sup>3</sup>,
- c - masa naczynka z serwatką, g,
- d - masa naczynka po wylaniu serwatki, g,
- m - miano użytego do zmiareczkowania 0,1N roztworu kwasu solnego określone z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku,
- 1,4 - ilość mg azotu, której odpowiada 1cm<sup>3</sup> 0,1N roztworu kwasu solnego,
- 6,38 - współczynnik przeliczeniowy azotu na białko mleka - kazeinę.

3.7.7. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,04.

Wynik zaokrąglić do drugiego miejsca po przecinku wg PN-70/N-02120.

### 3.8. Oznaczanie zawartości formaliny

3.8.1. Zasada oznaczania polega na jodometrycznym oznaczeniu wydzielonego w czasie destylacji alkoholu mrówkowego.

#### 3.8.2. Sprzęt

- a) Zestaw do destylacji bez pary wodnej,
- b) Kolba stożkowa pojemności 200cm<sup>3</sup>.

#### 3.8.3. Odczynniki

- a) Kwas fosforowy cz.d.a. (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) roztwór 25-procentowy.
- b) Jod roztwór mianowany 0,1N.
- c) Wodorotlenek potasowy roztwór 0,5N.
- d) Kwas solny roztwór 0,5N.
- e) Tiosiarczan sodowy roztwór mianowany 0,1N.
- f) Skrobia rozpuszczalna, roztwór 1-procentowy.
- g) Substancja zapobiegająca przegrzaniu: perełki szklane, porcelanka.

3.8.4. Wykonanie oznaczania. Do kolby destylacyjnej pojemności 200 ÷ 500cm<sup>3</sup> zawierającej substancję zapobiegającą przegrzewaniu odmierzyć 50cm<sup>3</sup> serwatki, dodać 2cm<sup>3</sup> kwasu fosforowego, zawartość wymieszać i kolbę podłączyć do aparatu destylacyjnego. Destylację prowadzić około 15 min, zbierając około 20cm<sup>3</sup> destylatu do kolby stożkowej.

Do zebranego destylatu odmierzyć z biurety 10cm<sup>3</sup> roztworu jodu oraz 2cm<sup>3</sup> roztworu wodorotlenku potasowego. Całość wymieszać, kolbę stożkową zakorkować i pozostawić w miejscu zaciemnionym na 15 min. Następnie dodać 3cm<sup>3</sup> kwasu solnego i bezpośrednio odmiareczkować nadmiar jodu, roztworem tiosiarczanu sodowego do momentu odbarwienia, dodając pod koniec miareczkowania 1cm<sup>3</sup> roztworu skrobi.

3.8.5. Obliczanie wyniku. Procentową zawartość formaliny w serwatce ( $X_7$ ) obliczyć wg wzoru

$$X_7 = \frac{(a \cdot m_1 - b \cdot m_2) \cdot 0,0015 \cdot 2,5 \cdot 100}{50} = (a \cdot m_1 - b \cdot m_2) \cdot 0,0075 \quad (7)$$

w którym:

- a - dodana ilość 0,1N roztworu jodu, cm<sup>3</sup>,
- b - ilość 0,1N roztworu tiosiarczanu sodowego użytego do zmiareczkowania, cm<sup>3</sup>,
- m<sub>1</sub> - miano użytego 0,1N roztworu jodu określone z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku,
- m<sub>2</sub> - miano użytego do miareczkowania 0,1N roztworu tiosiarczanu sodowego określone z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku,
- 0,0015 - ilość g aldehydu mrówkowego, której odpowiada 1cm<sup>3</sup> 0,1N roztworu jodu,
- 2,5 - współczynnik przeliczeniowy aldehydu mrówkowego na formalinę (40%).

3.8.6. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,01. Wynik zaokrąglić do drugiego miejsca po przecinku wg PN-70/N-02120.

### 3.9. Wykrywanie nadmiaru kwasu solnego

3.9.1. Zasada oznaczania polega na argentometrycznym ustaleniu nadmiaru kwasu solnego.

#### 3.9.2. Sprzęt

- a) Kolba pomiarowa pojemności 250cm<sup>3</sup>.
- b) Kolby stożkowe pojemności 200 i 500cm<sup>3</sup>.

### 3.9.3. Odczynniki

#### a) Płyny Carreza

I - żelazocyjanek potasowy cz.d.a.  $[K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$  roztwór 15-procentowy.

II - siarczan cynkowy cz.d.a.  $(ZnSO_4 \cdot 7H_2O)$  roztwór 30-procentowy.

b) Chromian potasowy cz.d.a.  $(K_2CrO_4)$  roztwór 10-procentowy.

c) Azotan srebrowy roztwór 0,1N.

d) Bibuła do sączenia.

3.9.4. Wykonanie oznaczania. Do kolby pomiarowej pojemności 250cm<sup>3</sup> odmierzyć 50 cm<sup>3</sup> serwatki, dodać około 50cm<sup>3</sup> wody destylowanej i po 5cm<sup>3</sup> I i II płynu Carreza. Całość wymieszać, uzupełnić wodą destylowaną do kreski, ponownie wymieszać i pozostawić na 10 min. Następnie przesączyć przez bibułę do sączenia do kolby stożkowej pojemności 500cm<sup>3</sup>.

Do dwóch kolb stożkowych pojemności 250cm<sup>3</sup> odmierzyć po 50cm<sup>3</sup> klarownego przesącza i po 1cm<sup>3</sup> roztworu chromianu potasowego. Do pierwszej kolby stożkowej odmierzyć z biurety 3,2cm<sup>3</sup> 0,1N roztworu azotanu srebrowego i całość wymieszać. Roztwór ten o jasno żółtej barwie służy jako ślepa próba do próby właściwej.

Do drugiej kolby stożkowej (próba właściwa) odmierzyć 8,2cm<sup>3</sup> 0,1N roztworu azotanu srebrowego i wymieszać.

3.9.5. Wynik. Stwierdzenie w próbie właściwej pomarańczowego zabarwienia, a nie jasno żółtego zabarwienia jak w próbie ślepej wskazuje, że zawartość kwasu solnego o ciężarze 1,14 nie przekracza 0,6 g w 100cm<sup>3</sup> serwatki.

Stwierdzenie w próbie właściwej jasno żółtego zabarwienia takiego samego jak w próbie ślepej wskazuje, że zawartość kwasu solnego o ciężarze 1,14 przekracza 0,6 g w 100cm<sup>3</sup> serwatki.

K O N I E C