

Bestimmung des Proteingehalts von Caseinen und Caseinaten

Referenzverfahren

DIN
10 454

Determination of protein content of caseins and caseinates; reference method

Détermination de la teneur en protéines dans les caséines et caséinates; méthode de référence

Zusammenhang mit der von der International Organization for Standardization (ISO) herausgegebenen Internationalen Norm ISO 5549 – 1978 siehe Erläuterungen.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Referenzverfahren zur Bestimmung des Proteingehalts von Caseinen und Caseinaten fest. Bei Ammoniumcaseinaten und Produkten, die Ammoniumverbindungen enthalten, muß der Ammoniak-Stickstoff gesondert bestimmt werden und vom Gesamtstickstoff in Abzug gebracht werden.

2 Begriff

Unter dem Proteingehalt von Caseinen und Caseinaten wird der nach dem in dieser Norm festgelegten Verfahren bestimmte Stickstoffgehalt, multipliziert mit 6,38, und angegeben als Massengehalt in %, verstanden.

3 Kurzbeschreibung

Die Untersuchungsprobe wird mit einem Gemisch von Kaliumsulfat und Schwefelsäure in Anwesenheit von Kupfer-(II)-sulfat als Katalysator aufgeschlossen, wodurch der organisch gebundene Stickstoff in ammoniakalischen Stickstoff übergeführt wird. Das Ammoniak wird abdestilliert und in Borsäure-Lösung aufgefangen. Anschließend wird das Ammoniak titriert. Der Eiweißgehalt wird aus dem Stickstoffgehalt der Probe durch Multiplikation mit dem Faktor 6,38 berechnet.

4 Bezeichnung des Verfahrens

Bezeichnung des Verfahrens zur Bestimmung des Proteingehalts von Caseinen und Caseinaten (A):

Prüfung DIN 10 454 – A

5 Chemikalien

Es sind analysenreine Chemikalien zu verwenden. Das verwendete Wasser muß destilliert oder mindestens von entsprechender Reinheit sein.

5.1 Schwefelsäure, konzentriert, $\rho_{20} = 1,84$ g/ml

5.2 Kaliumsulfat, K_2SO_4 , wasserfrei

5.3 Kupfer-(II)-sulfat-Pentahydrat, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

5.4 Borsäure-Lösung, Konzentration 40 g/l

5.5 Natronlauge, Massengehalt 30 %

5.6 Salzsäure-Maßlösung, Konzentration etwa 0,1 mol/l, eingestellt gegen Dinatriumtetraborat-Decahydrat ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) oder wasserfreies Natriumcarbonat (Na_2CO_3).

5.7 Mischindikator, 2 g Methylrot und 1 g Methylblau werden in 1000 ml Ethanol (Volumenkonzentration 96 %) gelöst.

6 Geräte

Bei der Verwendung von Meßgeräten sind die eichrechtlichen Vorschriften zu beachten.

6.1 Analysenwaage

6.2 500-ml-Kjeldahlkolben, z. B. Kjeldahlkolben nach DIN 12 360

6.3 Aufschlußapparatur, passend zu dem Kjeldahlkolben

6.4 Liebigkühler, Mantellänge mindestens 400 mm

6.5 Ablaufrohr mit Sicherheitskugel, angeschlossen an das untere Ende des Liebigkühlers mit einem Schliff oder Gummischlauch. Bei Verwendung eines Gummischlauchs müssen sich die Enden der Glasrohre berühren.

6.6 Tropfenfänger, mit dem Kjeldahlkolben und Liebigkühler verbunden mit dichten Weichgummistopfen.

6.7 500-ml-Erlenmeyerkolben

6.8 50-ml- und 100-ml-Meßzylinder

6.9 Bürette, Skalenteilungswert 0,1 ml, 50 ml Nennvolumen

Fortsetzung Seite 2 bis 4

Normenausschuß Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung des DIN Deutsches Institut für Normung e. V., Berlin, gestattet.

6.10 Siedehilfen

6.10.1 Für den Aufschluß: Hartporzellanscherben oder Glasperlen

6.10.2 Für die Destillation: Frisch geglühte Bimssteinstücke

6.11 Zerkleinerungsgerät, zum Zerkleinern der Laboratoriumsprobe, falls es nach Abschnitt 8.1.4 erforderlich ist. Das Zerkleinern soll ohne unnötige Erwärmung und ohne Feuchtigkeitsverlust oder -aufnahme erfolgen. Es darf keine Hammermühle verwendet werden.

6.12 Analysensieb mit Drahtsiebboden, Maschenweite 0,5 mm, Durchmesser etwa 200 mm, mit Auffangbehältnis, z. B. mit Drahtsiebboden nach DIN 4188 Teil 2.

7 Probenahme

Nach DIN 10327

8 Durchführung

8.1 Vorbereitung der Probe

8.1.1 Die Laboratoriumsprobe wird sorgfältig durch wiederholtes Schütteln und Stürzen des Behältnisses durchgemischt (falls erforderlich, wird die Laboratoriumsprobe dazu in ein luftdichtes Behältnis mit einem ausreichenden Fassungsvermögen übergeführt, das diese Vorgehensweise ermöglicht).

8.1.2 Etwa 50 g der sorgfältig gemischten Laboratoriumsprobe werden auf das Analysensieb (siehe Abschnitt 6.12) gegeben.

8.1.3 Falls die 50-g-Probe vollständig oder fast vollständig das Analysensieb passiert, wird die nach Abschnitt 8.1.1 vorbereitete Probe zur Bestimmung verwendet.

8.1.4 Andernfalls werden 50 g der Probe im Zerkleinerungsgerät nach Abschnitt 6.11 zerkleinert, bis die Probe das Analysensieb passiert. Unmittelbar danach wird die gesiebte Probe in ein ausreichend großes Behältnis übergeführt und sorgfältig durch wiederholtes Schütteln und Stürzen des Behältnisses durchgemischt. Beim Zerkleinern, Sieben und Mischen ist jede Änderung des Wassergehalts des Produkts zu vermeiden.

8.1.5 Nach der Vorbereitung der Probe sollte möglichst schnell mit der Bestimmung begonnen werden. Es sind zwei Bestimmungen mit derselben vorbereiteten Probe durchzuführen.

8.2 Prüfung auf Anwesenheit von Nichtproteinstickstoff

Bei Verdacht auf Anwesenheit von Ammoniumcaseinat oder anderer Ammoniumverbindungen wird folgende Prüfung durchgeführt:

1 g der Probe wird in einem kleinen Erlenmeyerkolben mit 10 ml Wasser und 100 mg Magnesiumoxid versetzt. An der Wandung haftendes Magnesiumoxid wird mit Wasser heruntergespült und der Kolben mit einem Korkstopfen verschlossen. Dabei wird ein Indikatorstreifen (z. B. rotes Lackmuspapier) zwischen den Stopfen und den Kolbenhals geklemmt.

Der Inhalt des Kolbens wird vorsichtig gemischt und auf einem Wasserbad auf 60 bis 65 °C erwärmt.

Falls das Indikatorpapier innerhalb von 15 min eine alkalische Reaktion zeigt (z. B. Farbumschlag des Lackmuspapiers nach Blau), sind Ammoniumverbindungen enthalten. Dann muß der Gehalt an Ammonium-Stickstoff getrennt bestimmt und vom Gesamtstickstoff in Abzug gebracht werden.

8.3 Blindversuch

Parallel zur Bestimmung des Stickstoffgehalts der Probe wird ein Blindversuch unter Verwendung der gleichen Geräte und der gleichen Mengen an Chemikalien nach demselben Verfahren, wie in Abschnitt 8.5 beschrieben, durchgeführt. Wenn das Ergebnis des Blindversuchs 0,5 ml der Salzsäure-Maßlösung (Konzentration 0,1 mol/l) überschreitet, müssen die Chemikalien überprüft und verunreinigte Chemikalien gereinigt oder ersetzt werden.

8.4 Untersuchungsprobe

0,3 bis 0,4 g der nach Abschnitt 8.1 vorbereiteten Probe werden auf $\pm 0,1$ mg in den Kjeldahlkolben eingewogen.

8.5 Bestimmung

8.5.1 In den Kjeldahlkolben werden einige Hartporzellanscherben oder Glasperlen und etwa 15 g wasserfreies Kaliumsulfat gegeben. Danach werden 0,2 g Kupfer-(II)-sulfat-Pentahydrat hinzugegeben und der innere Kolbenhals wird mit wenig Wasser abgespült. Nach der Zugabe von 20 ml konzentrierter Schwefelsäure wird der Inhalt des Kolbens gemischt.

Der Kolben wird in der Aufschlußvorrichtung nach Abschnitt 6.3 vorsichtig erhitzt, bis der Inhalt nicht mehr schäumt. Danach wird solange vorsichtig gekocht, bis die Lösung klar und hell grünblau gefärbt ist. Während des Erhitzens wird der Kolben von Zeit zu Zeit umgeschwenkt. Die klare Lösung wird 90 min lang so am Sieden gehalten, daß die Dämpfe in der Mitte des Kolbenhalses kondensieren und örtliche Überhitzungen vermieden werden. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden vorsichtig etwa 200 ml Wasser und einige Bimssteinstücke (siehe Abschnitt 6.10.2) zugegeben. Es wird gemischt und erneut abgekühlt.

8.5.2 In den Erlenmeyerkolben werden 50 ml Borsäure-Lösung und 4 Tropfen des Mischindikators gegeben und vermischt. Der Erlenmeyerkolben wird so unter dem Kühler der Destillationsapparatur angebracht, daß die Spitze des Ablaufrohrs in die Borsäure-Lösung eintaucht. Mit einem Meßzylinder werden 80 ml der Natronlauge in den Kjeldahlkolben gegeben. Dabei wird der Kolben schräg gehalten, damit die Natronlauge an der Wand des Kolbens herunterläuft und am Boden des Kolbens eine Schicht bildet. Unmittelbar danach wird der Kjeldahlkolben mit einem Tropfenfänger an den Liebigkühler angeschlossen. Durch leichtes Umschwenken wird der Kolbeninhalt vermischt. Danach wird der Kolbeninhalt vorsichtig zum Sieden gebracht, wobei jede Schaumbildung zu vermeiden ist. Die Destillation wird so eingestellt, daß 150 ml Destillat in etwa 30 min gesammelt werden. Die Temperatur des Destillats soll höchstens 25 °C betragen. Etwa 2 min vor dem Ende der Destillation wird der Erlenmeyerkolben gesenkt, so daß die Spitze des Ablaufrohrs nicht mehr in die Säurelösung eintaucht. Anschließend wird das Ablaufrohr über der Flüssigkeit