**Методика проведения анализа по методу Кьельдаля**

1. Размолоть образец на лабораторной мельнице, взять соответствующую навеску и поместить ее в колбу для сжигания. Навеска образца зависит от ожидаемого содержания протеина и приблизительно составляет следующие значения:
- Содержание протеина до 25% - 1,0 г
- Содержание протеина 25-35% - 0,8-0,9 г
- Содержание протеина свыше 35% - 0,7-0,8 г
2. Добавить 2 таблетки катализатора (или 7 г сульфата калия и 0,8 г сернокислой меди)
3. Осторожно добавить 12 мл концентрированной серной кислоты и полностью смочить образец (для образцов с высоким содержанием жира и углеводов можно добавить 15 мл)
4. Установить колбы в подставку для сжигания
5. Присоединить вытяжную систему и запустите водный аспиратор на полную мощность
6. Опустить подставку с вытяжкой в блок сжигания, предварительно нагретый до 4200С
7. Установить тепловые заслонки
8. После 5 минут сжигания уменьшить поток в водном аспираторе, чтобы пары кислоты находились в головке вытяжки.
***Примечание:*** В случае неполной загрузки блока для сжигания можно прикрывать колбы часовыми стеклами Д-60 или 50 мм. Для этого подставка с колбами устанавливается в нагретый блок сжигания, вытяжная система включается на полную мощность, через 5 - 7мин. поток воздуха уменьшают до минимума и колбы прикрывают часовыми стеклами.
9. Сжигание проводить до образования прозрачного зеленого раствора, который при охлаждении должен стать голубым. В зависимости от содержания протеина время сжигания составляет 40 - 60 минут с момента помещения колб в блок сжигания.
10. Вынуть подставку вместе с вытяжкой из блока сжигания, установить на подставку так, чтобы колбы не касались основания подставки и охладить 10 - 20 минут. Можно ускорить охлаждение при помощи обдувки воздухом.
11. Дальнейшие работы проводятся по инструкции к конкретному прибору.
***Примечание:*** Перед каждой партией анализов во избежание погрешностей, связанных с используемыми реактивами, необходимо провести контрольное исследование без образца - бланк. Бланк должен пройти все те же этапы, что и образец. Взять 12 мл серной кислоты и 2 таблетки катализатора и провести сжигание и другие процедуры, как для образца (для получения хорошей воспроизводимости на бланк должно расходоваться 0,05 - 0,15 мл титранта).

**Приготовление реактивов**

1. **Натриевая щелочь 33%**
Взять 33 г NaOH и растворить в 67 мл дистиллированной воды (для получения приблизительно 3,5 л раствора необходимо взять 2680 мл воды и 1320 г щелочи (растворение проводить в фарфоровом стакане, постепенно добавляя щелочь в воду, избегая сильного нагревания жидкости; работу проводить в вытяжном шкафу при включенной вентиляции).
2. **Приготовление 0,2 н раствора соляной кислоты**
В мерную колбу на 1 л налить 400 - 500 мл дистиллированной воды, добавить 17,1 - 17,2 мл соляной кислоты плотностью 1,18 кг/м3 и довести водой до метки. Для приготовления 3 л раствора в мерную колбу приливают 51,3 мл в порядке, указанном выше. Раствор перемешивают и переносят в емкость большего объема. Затем этой же колбой отмеряют еще два раза по 1л дистиллированной воды и переливают в ту же емкость. Раствор перемешивают и устанавливают его точную концентрацию.

**Установление точной концентрации раствора.**

- Взвесить около 10 г безводного карбоната натрия (NaCO3). Растереть в мелкий порошок. Просушить 1 час при 2650С или 2 часа при 2000С. Охладить в эксикаторе и хранить там же в сосуде с плотно закрытой крышкой.

- Индикатор - 0,1г метилового красного и 0,1г бромкрезолового зеленого растворить в 100 мл этилового спирта.

- Взвесить на аналитических весах около 0,4 г подготовленного карбоната натрия, вес записать (W1). Количественно перенести навеску в коническую колбу на 250мл и добавить 40 мл дистиллированной воды. Добавить 10 капель индикатора. Титровать приготовленным раствором соляной кислоты до розовой окраски. Записать объем, пошедший на титрование (А1). Прокипятить этот раствор несколько минут. Окраска опять станет зеленой. Быстро охладить под проточной водой до комнатной температуры. Повторить титрование до появления розовой окраски. Опять записать объем, пошедший на титрование (А2). Еще раз прокипятить и охладить, как описано выше. Титровать до розовой окраски и записать объем (А3).

- Вычисление точной нормальности раствора соляной кислоты.


**Внимание!** Концентрация должна быть с точностью до 4 цифр т.е 0,2000 N.

1. **Приготовление поглощающего раствора.**

**• Индикаторы:**
а) 100 мг бромкрезолового зеленого растворить в 100 мл этанола
б) 100 мг метилового красного растворить в 100 мл этанола

**• Поглощающий раствор**
Для приготовления 5 л поглощающего раствора взвесить 50 г борной кислоты и растворить приблизительно в 1 л горячей дистиллированной воды. Охладить до комнатной температуры. Добавить 3,5 л дистиллированной воды. Отдельно отмерить еще 415 мл воды. Цилиндром отмерить 50 мл раствора бромкрезолового зеленого и количественно перенести его в раствор борной кислоты, промывая цилиндр дистиллированной водой из отмеренных заранее 415 мл. Затем таким же образом добавить 35 мл метилового красного. Оставшуюся дистиллированную воду также перенести в емкость с борной кислотой. Полученный раствор перемешать.

*Проверка правильности приготовления поглощающего раствора:*

Налить 25 мл поглощающего раствора в колбу и добавить 100 мл дистиллированной воды. Раствор должен приобрести серый цвет, возможны небольшие оттенки зеленоватого или красноватого цвета, но на фоне основного серого. Если раствор в колбе красного цвета необходимо оттитровать его 0,1н раствором натриевой щелочи до нейтрального серого цвета. Необходимое для коррекции 5 л раствора борной кислоты количество щелочи рассчитывают по формуле:

**Мл 1,0 н щелочи = числу мл 0,1н щелочи, пошедшей на титрование \* 20**

После этого провести повторно проверку правильности приготовления поглощающего раствора, как описано выше, а также протестировать контрольный образец (бланк) на титрование которого должно пойти 0,05-0,15 мл 0,2н раствора соляной кислоты.