31979L1067

1979.12.24. AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK HIVATALOS LAPJA L 327/29

A BIZOTTSÁG ELSŐ IRÁNYELVE

(1979. november 13.)

az egyes emberi fogyasztásra szánt, részben vagy teljesen dehidratált tartós tejtermékek vizsgálatára szolgáló közösségi elemzési módszerek megállapításáról

(79/1067/EGK)

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Gazdasági Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a tagállamok egyes emberi fogyasztásra szánt, részben vagy teljesen dehidratált tartós tejtermékekre vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről szóló, 1975. december 18-i 76/118/EGK tanácsi irányelvre [1] és különösen annak 11. cikkére,

mivel a 76/118/EGK irányelv 11. cikke szerint az egyes, részben vagy teljesen dehidratált tartós tejtermékek összetételének ellenőrzéséhez közösségi elemzési módszerekre van szükség;

mivel kívánatos olyan első módszercsomagot elfogadni, amelynek a kidolgozása már befejeződött;

mivel az ebben az irányelvben előírt intézkedések megegyeznek az Élelmiszerügyi Állandó Bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT AZ IRÁNYELVET:

1. cikk

A tagállamok megtesznek minden szükséges intézkedést annak biztosítására, hogy az I. mellékletben megállapított követelmények ellenőrzéséhez szükséges elemzéseket a II. mellékletben leírt módszereknek megfelelően végezzék el.

2. cikk

Amennyiben ugyanarra a meghatározásra alternatív módszereket határoznak meg, a minta elemzését bármelyik módszerrel el lehet végezni. A II. mellékletben említett vizsgálati jelentésnek azonban utalnia kell rá, hogy melyik módszert alkalmazták.

3. cikk

A tagállamok hatályba léptetik azokat a törvényeket, rendeleteket és közigazgatási rendelkezéseket, amelyek szükségesek ennek az irányelvnek a betartásához az irányelv értesítésétől számított 18 hónapon belül. Erről haladéktalanul tájékoztatják a Bizottságot.

4. cikk

Ennek az irányelvnek a tagállamok a címzettjei.

Kelt Brüsszelben, 1979. november 13-án.

a Bizottság részéről
Étienne DAVIGNON
a Bizottság tagja

[1] HL L 24., 1976.1.30., 49. o.

I. MELLÉKLET

AZ EGYES, RÉSZBEN VAGY TELJESEN DEHIDRATÁLT TARTÓS TEJTERMÉKRE VONATKOZÓ IRÁNYELVBEN ALKALMAZOTT ELSŐ KÖZÖSSÉGI ELEMZÉSI MÓDSZEREK HATÁLYA

I. **Általános rendelkezések**

II. **Szárazanyag-tartalom meghatározása:**

- cukrozatlan, zsíros sűrített tej (II. melléklet, 1. módszer),
- cukrozatlan sűrített tej (II. melléklet, 1. módszer),
- cukrozatlan, félzsíros sűrített tej (II. melléklet, 1. módszer),
- cukrozatlan, sűrített fölözött tej (II. melléklet, 1. módszer),
- cukrozott sűrített tej (II. melléklet, 1. módszer),
- cukrozott, félzsíros sűrített tej (II. melléklet, 1. módszer),
- cukrozott, sűrített fölözött tej (II. melléklet, 1. módszer).

III. **Nedvességtartalom meghatározása:**

- zsíros tejpor (II. melléklet, 2. módszer),
- teljes tejpor (II. melléklet, 2. módszer),
- félzsíros tejpor (II. melléklet, 2. módszer),
- sovány tejpor (II. melléklet, 2. módszer).

IV. **Zsírtartalom meghatározása:**

- cukrozatlan, zsíros sűrített tej (II. melléklet, 3. módszer),
- cukrozatlan sűrített tej (II. melléklet, 3. módszer),
- cukrozatlan, félzsíros sűrített tej (II. melléklet, 3. módszer),
- cukrozatlan, sűrített fölözött tej (II. melléklet, 3. módszer),
- cukrozott sűrített tej (II. melléklet, 3. módszer),
- cukrozott, félzsíros sűrített tej (II. melléklet, 3. módszer),
- cukrozott, sűrített fölözött tej (II. melléklet, 3. módszer),
- zsíros tejpor (II. melléklet, 4. módszer),
- teljes tejpor (II. melléklet, 4. módszer),
- félzsíros tejpor (II. melléklet, 4. módszer),
- sovány tejpor (II. melléklet, 4. módszer).

V. **Szacharóztartalom meghatározása:**

- cukrozott sűrített tej (II. melléklet, 5. módszer),
- cukrozott félzsíros sűrített tej (II. melléklet, 5. módszer),
- cukrozott sűrített fölözött tej (II. melléklet, 5. módszer).

VI. **Tejsav és laktát meghatározása:**

- zsíros tejpor (II. melléklet, 6. módszer),
- teljes tejpor (II. melléklet, 6. módszer),
- félzsíros tejpor (II. melléklet, 6. módszer),
- sovány tejpor (II. melléklet, 6. módszer).

VII. **Foszfatázaktivitás meghatározása:**

- zsíros tejpor (II. melléklet, 7. vagy 8. módszer),
- teljes tejpor (II. melléklet, 7. vagy 8. módszer),
- félzsíros tejpor (II. melléklet, 7. vagy 8. módszer),
- sovány tejpor (II. melléklet, 7. vagy 8. módszer).

II. MELLÉKLET

EGYES, EMBERI FOGYASZTÁSRA SZÁNT, RÉSZBEN VAGY TELJESEN DEHIDRATÁLT TARTÓS TEJTERMÉKEK ÖSSZETÉTELÉNEK VIZSGÁLATÁHOZ ALKALMAZOTT ELEMZÉSI MÓDSZEREK

ÁLTALÁNOS RENDELKEZÉSEK

1. A MINTA ELŐKÉSZÍTÉSE A VEGYI ELEMZÉSHEZ

1.1. Cukrozatlan, zsíros sűrített tej

Cukrozatlan sűrített tej

Cukrozatlan, félzsíros sűrített tej

Cukrozatlan, sűrített fölözött tej

A lezárt dobozt összerázzuk és megforgatjuk. A dobozt kinyitjuk és a tejet lassan egy másik, légmentesen zárható edénybe töltjük át, majd ismételt áttöltögetéssel összekeverjük. Gondoskodjunk arról, hogy a doboz falára és fenekére tapadó zsír- és tejrészecskék a mintába bekerüljenek. Az edényt lezárjuk. Ha a tartalom nem homogén, akkor az edényt 40 °C hőmérsékletű vízfürdőn melegítjük, 15 percenként erősen megrázzuk. 2 óra múlva az edényt a vízfürdőről levesszük, szobahőmérsékletre hűtjük. A fedőt levesszük és az edény tartalmát kanállal vagy spatulával alaposan összekeverjük (amennyiben a zsír kivált, a minta nem vizsgálható). Hűtve tároljuk.

1.2. Cukrozott sűrített tej

Cukrozott, félzsíros sűrített tej

Cukrozott, sűrített fölözött tej

Doboz: a lezárt dobozt vízfürdőben 30–40 °C-on kb. 30 percig melegítjük. A dobozt kinyitjuk és tartalmát kanállal vagy spatulával felfelé-, lefelé- és körkörös irányú mozgatással jól összekeverjük a felső és alsó rétegek elegyedése végett. Gondoskodjunk arról, hogy a doboz karimájára, falára és fenekére tapadó tejrészecskék a mintába jussanak. A doboz tartalmát amilyen gyorsan csak lehet, légmentesen záró fedéllel ellátott másik dobozba öntjük. Az edényt lezárjuk és hidegen tároljuk.

Tubus: fenekét levágjuk, és tartalmát egy légmentesen záró fedéllel ellátott edénybe nyomjuk. Aztán a tubust hosszában is felvágjuk. Belsejéből az összes anyagot kikaparjuk, és a többivel gondosan összekeverjük. Az edényt hűtve tároljuk.

1.3. Zsíros tejpor

Teljes tejpor

Félzsíros tejpor

Sovány tejpor

A tejport tiszta, száraz, légmentesen záródó fedővel ellátott edénybe töltjük. Az edény térfogata a por térfogatának kétszerese legyen. Az edényt azonnal lezárjuk és a tejport az edény ismételt rázásával és forgatásával alaposan összekeverjük. A minta előkészítése során amennyire csak lehet, kerüljük el, hogy a tejpor a levegővel érintkezzen, s ezáltal nedvességet vegyen fel.

2. VEGYSZEREK

2.1. **Víz**

2.1.1. Minden olyan esetben, amikor oldásra, hígításra vagy mosásra vizet használunk, az mindig desztillált vagy legalább azzal azonos minőségű, ioncserélt víz legyen.

2.1.2. Minden olyan esetben, amikor „oldás” vagy „hígítás” minden további adat nélkül szerepel, mindig „vízben való oldást” vagy „vízzel való hígítást” kell értenünk.

2.2. **Tisztasági követelmény**

Minden alkalmazott vegyszer analitikai tisztaságú legyen, hacsak nincs más kikötés.

3. ESZKÖZÖK

3.1. **Az eszközök felsorolása**

Az eszközök felsorolásában csak azok a tételek szerepelnek, amelyeknek speciális rendeletetése van, vagy különleges jellemzőkkel rendelkeznek.

3.2. **Analitikai mérleg**

Az analitikai mérleg leolvasási pontossága 0,1 mg.

4. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

4.1. **A százalékos arány kiszámítása**

Hacsak másképp nem adják meg, az eredményeket a laboratórium által megkapott minta tömegének százalékos arányában kell kiszámítani.

4.2. **A szignifikáns számjegyek száma**

Az eredmény nem tartalmazhat több szignifikáns számjegyet, mint amennyit az alkalmazott elemzési módszer pontossága indokolttá tesz.

5. VIZSGÁLATI JEGYZŐKÖNYV

A vizsgálati jegyzőkönyvnek tartalmaznia kell az alkalmazott elemzési módszer meghatározását, valamint a kapott eredményeket. Ezen túlmenően részletes említést kell tennie minden olyan eljárásról, amelynek leírása az elemzési módszerben nem szerepel, illetve amely nem kötelező, továbbá meg kell említenie minden olyan körülményt is, amelyek a kapott eredményeket befolyásolhatták.

A vizsgálati jegyzőkönyvben szerepelnie kell minden olyan információnak, amely a minta azonosításához szükséges.

1. MÓDSZER: A SZÁRAZANYAG-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA

(Szárítószekrényben 99 °C-on)

1. HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezzel a módszerrel a következő anyagok szárazanyag-tartalmának meghatározását lehet elvégezni:

– cukrozatlan, zsíros sűrített tej,

– cukrozatlan sűrített tej,

– cukrozatlan, félzsíros sűrített tej,

– cukrozatlan, sűrített fölözött tej,

– cukrozott sűrített tej,

– cukrozott, félzsíros sűrített tej,

– cukrozott, sűrített fölözött tej.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

A sűrített tej szárazanyag-tartalma: a megadott módszer szerint meghatározott szárazanyag-tartalom

3. A MÓDSZER ELVE

A minta ismert mennyiségét vízzel hígítjuk, homokkal elkeverjük, és 99 °C ± 1 °C hőmérsékleten szárítjuk. A szárítás után kapott tömeg a szárazanyag tömege, amelyet a minta tömegének százalékában kell kiszámítani.

4. VEGYSZEREK

Sósavas kezelésnek alávetett kvarchomok vagy tengeri homok (szemcseméret 0,18–0,5 mm között, vagyis amelyek átesnek az 500 mikronos szitaszöveten, és fennakadnak a 180 mikronos szitán). A homok feleljen meg a következő ellenőrző vizsgálat követelményeinek:

Körülbelül 25 g homokot melegítsünk két órán keresztül a szárítószekrényben (5.3.) a 6.1.–6.3. pontokban leírtaknak megfelelően. Adjunk hozzá 5 ml vizet, hevítsük ismét a szárítószekrényben két órán keresztül, hűtsük le és mérjük meg. A két mért tömeg közötti különbség nem haladhatja meg a 0,5 mg-ot.

Szükség esetén kezeljük a homokot három napon keresztül 25 %-os sósavoldattal, és időnként kevergessük meg. Mossuk át vízzel mindaddig, amíg a savas reakció el nem tűnik, és a mosóvízben nincs kloridion. Szárítsuk 160 °C hőmérsékleten, és ismét vizsgáljuk be a fentiek szerint.

5. ESZKÖZÖK

5.1. Analitikai mérleg

5.2. Bemérő fémedények, lehetőleg nikkelből, alumíniumból vagy rozsdamentes acélból. A bemérő edényeknek fedőkkel kell rendelkezniük, amelyek nagyon jól zárnak, de ugyanakkor könnyedén eltávolíthatók. A megfelelő méretek: 60–80 mm átmérő, és körülbelül 25 mm mélység.

5.3. Légköri nyomású, jól szellőző, termosztátos vezérléssel szabályozott szárítószekrény, amelynek hőmérséklete 99 °C ± 1 °C. A szárítószekrény egészében azonos hőmérsékletnek kell lennie.

5.4. Frissen aktivált szilikagéllel vagy egyéb, ezzel egyenértékű szárító anyaggal töltött és nedvességindikátorral ellátott exszikkátor.

5.5. Egyik végükön lapos üvegbotok, amelyek hosszúsága megfelelő ahhoz, hogy a bemérő edényekbe (5.2.) beleférjenek.

5.6. Forrásban lévő vízfürdő.

6. ELJÁRÁS

6.1. Helyezzünk körülbelül 25 g homokot (4.) és egy rövid üvegbotot (5.5.) a bemérő edénybe (5.2.).

6.2. Az edény és tartalmának letakarása nélkül tegyük be az edényt, annak tartalmát, valamint a fedőt a szárítószekrénybe (5.3.), és két órán keresztül melegítsük ezeket.

6.3. Helyezzük vissza a fedőt, és az edényt tegyük át az exszikkátorba (5.4.). Hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni, és mérjük meg pontosan a legközelebbi 0,1 mg-os értékre. (M_0).

6.4. A homokot az edény egyik oldalára döntjük. Az így felszabadult helyre vigyünk be 1,5 g-ot a cukrozott sűrített tejmintából, illetve 3 g-ot az cukrozatlan sűrített tejmintából. Helyezzük vissza a fedőt, és pontosan mérjük meg a legközelebbi 0,1 mg-os értékre. (M_1).

6.5. Vegyük le a fedőt, adjunk hozzá 5 ml vizet, és az üvegbot segítségével keverjük össze előbb a folyadékokat, majd a homokot és a folyékony részt. Hagyjuk az üvegbotot a keverékben.

6.6. Helyezzük az edényt forrásban lévő vízfürdőbe (5.6.), míg a víz el nem párolog; ez rendszerint 20 percet vesz igénybe. Keverjük fel időről időre a keveréket az üvegbottal, hogy az anyag jól átszellőzzön, és megszáradáskor ne álljon össze. Hagyjuk az üvegbotot az edényben.

6.7. Helyezzük az edényt és a fedőt másfél órás időtartamra a szárítószekrénybe.

6.8. Helyezzük vissza fedőt, és az edényt tegyük át az exszikkátorba (5.4.), hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni, és mérjük meg pontosan a legközelebbi 0,1 mg-os értékre.

6.9. Rakjuk vissza az edényt és a fedőt a szárítóba, vegyük le a fedőt az edényről, és az edényt a fedővel együtt melegítsük további egy órán keresztül.

6.10. Ismételjük meg a 6.8. pontban leírt eljárást.

6.11. Ismételjük meg a 6.9. és 6.10. pontban leírt eljárásokat egészen addig, amíg két egymást követő mérésnél a különbség 0,5 mg-nál kisebb nem lesz, illetve amíg a tömeg nőni nem kezd. Ha a tömeg növekedése tapasztalható, számításoknál a legkisebb kapott tömeget használjuk (7.1.). Legyen a végső mért tömeg értéke M_2 g.

7. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

7.1. **A számítás módja**

A minta tömegszázalékában megadott szárazanyag-tartalmat a következő képlettel számítjuk ki:

$$\frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

ahol

M_0 = az edény, a fedő, valamint a homok grammban kifejezett együttes tömege a 6.3. pontban leírt eljárás elvégzése után;

M_1 = az edény, a fedő, a homok, valamint a minta grammban kifejezett együttes tömege a 6.4. pontban leírt eljárás elvégzése után;

M_2 = az edény, a fedő, a homok, valamint a szárított minta grammban kifejezett együttes tömege a 6.11. pontban leírt eljárás elvégzése után.

7.2. **Ismételhetőség**

Ugyanabból a mintából, egy időben vagy gyors egymásutánban, ugyanazon vizsgáló által azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg a termék 100 grammjára vetítve a 0,2 g szárazanyagot.

8. AZ ÖSSZES TEJSZÁRAZANYAG ÉS ZSÍRMENTES TEJSZÁRAZANYAG KISZÁMÍTÁSA

8.1. A cukrozott sűrített tej összes tejszárazanyag-tartalmának meghatározása a következők szerint történik:

A II. melléklet 1. módszerével nyert összes szárazanyag-tartalom – a II. melléklet 5. módszerével nyert szacharóz.

8.2. A cukrozott sűrített tej összes zsírmentes tejszárazanyag-tartalmának meghatározása a következők szerint történik:

A II. melléklet 1. módszerével nyert összes szárazanyag-tartalom – a II. melléklet 5. módszerével nyert szacharóz, valamint a II. melléklet 3. módszerével nyert zsírtartalom.

8.3. A cukrozatlan sűrített tej összes zsírmentes tejszárazanyag-tartalmának meghatározása a következők szerint történik:

A II. melléklet 1. módszerével nyert összes szárazanyag-tartalom – a II. melléklet 3. módszerével nyert zsírtartalom.

2. MÓDSZER: VÍZTARTALOM MEGHATÁROZÁSA

(Szárítószekrényben 102 °C-on)

1. HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezzel a módszerrel a következő anyagok szárítással végzett tömegveszteségének meghatározását lehet elvégezni:

– zsíros tejpor,

– teljes tejpor,

– félzsíros tejpor,

– sovány tejpor.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

Víztartalom: a megadott módszer szerinti szárítás során bekövetkezett tömegveszteség.

3. A MÓDSZER ELVE

A vizsgálati minta 102 °C ± 1 °C hőmérsékleten, atmoszférikus nyomáson, tömegállandóságig történő szárítását követően visszamaradt tömegét határozzuk meg. A tömegveszteséget a minta tömegének százalékában kell kiszámítani.

4. ESZKÖZÖK

4.1. Analitikai mérleg

4.2. Edények, lehetőleg nikkelből, alumíniumból vagy rozsdamentes acélból. Az edényeknek fedőkkel kell rendelkezniük, amelyek nagyon jól zárnak, de ugyanakkor könnyedén eltávolíthatók. A megfelelő méret: 60–80 mm átmérő, és körülbelül 25 mm mélység.

4.3. Atmoszférikus nyomású, jól szellőző, termosztátos vezérléssel szabályozott szárítószekrény, amelynek hőmérséklete 102 °C ± 1 °C. A szárítószekrény egészében azonos hőmérsékletnek kell lennie.

4.4. Frissen aktivált szilikagéllel vagy egyéb, ezzel egyenértékű szárító anyaggal töltött és nedvességindikátorral ellátott exszikkátor.

5. ELJÁRÁS

5.1. Vegyük le az edény (4.2.) tetejét, és a fedőt meg a tálkát helyezzük a szárítószekrénybe (4.3.), és egy órán keresztül melegítsük ezeket.

5.2. Helyezzük vissza a fedőt, és az edényt tegyük át az exszikkátorba (4.4.). Hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni, és mérjük meg pontosan a legközelebbi 0,1 mg-os értékre. (M_0).

5.3. Tegyünk megközelítőleg 2 g tejpormintát az edénybe, helyezzük vissza a fedőt, és pontosan mérjük meg a legközelebbi 0,1 mg-os értékre. (M_1).

5.4. Vegyük le a fedőt, majd helyezzük a fedetlen edényt és a fedőt két órás időtartamra a szárítószekrénybe.

5.5. Helyezzük vissza fedőt, és az edényt tegyük át az exszikkátorba, hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni, és amilyen gyorsan csak lehet, mérjük meg pontosan a legközelebbi 0,1 mg-os értékre.

5.6. Vegyük le a fedőt az edényről, és a fedővel együtt melegítsük további egy órán keresztül a szárítószekrényben.

5.7. Ismételjük meg az 5.5. pontban leírt eljárást.

5.8. Ismételjük meg az 5.6. és 5.5. pontban leírt eljárásokat egészen addig, amíg két egymást követő mérésnél a tömeg csökkenése 0,5 mg-nál kisebb nem lesz, illetve amíg a tömeg nőni nem kezd. Ha a tömeg növekedése tapasztalható, a számításoknál (6.1.) a legkisebb kapott tömeget használjuk. Legyen a végső mért tömeg értéke M_2 g.

6. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

6.1. A számítás módja

A minta szárítása következtében bekövetkezett tömegveszteséget a tömeg százalékában kifejezve a következő képlettel lehet kiszámítani:

$$\frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

ahol

M_0 = az edény és a fedő grammban kifejezett együttes tömege az 5.2. pontban leírt eljárás elvégzése után;

M_1 = az edény, fedő, valamint a minta grammban kifejezett együttes tömege az 5.3. pontban leírt eljárás elvégzése után;

M_2 = az edény, fedő, valamint a szárított minta grammban kifejezett együttes tömege az 5.5. pontban leírt eljárás elvégzése után.

6.2. Ismételhetőség

Ugyanabból a mintából egy időben vagy gyors egymásutánban, ugyanaz által a vizsgáló által azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg a termék 100 grammjára vetítve a 0,1 g nedvességet.

3. MÓDSZER: ZSÍRTARTALOM MEGHATÁROZÁSA SŰRÍTETT TEJBEN (RÖSE–GOTTLIEB-MÓDSZER)

1. HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezzel a módszerrel a következő anyagok zsírtartalmának meghatározását lehet elvégezni:

– cukrozatlan, zsíros sűrített tej,

– cukrozatlan sűrített tej,

– cukrozatlan, félzsíros sűrített tej,

– cukrozatlan, sűrített fölözött tej,

– cukrozott sűrített tej,

– cukrozott, félzsíros sűrített tej,

– cukrozott, sűrített fölözött tej.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

A sűrített tej zsírtartalma: a megadott módszer szerint meghatározott zsírtartalom.

3. A MÓDSZER ELVE

A vizsgálati minta zsírtartalmának meghatározása úgy történik, hogy a zsírtartalmat ammóniás alkohololdatból dietiléterrel és petroléterrel extraháljuk, majd az oldatot bepároljuk, és a visszamaradt anyagot lemérjük, majd a Röse–Gottlieb-elv alapján a minta tömegszázalékában fejezzük ki.

4. VEGYSZEREK

Minden reagensnek meg kell felelnie a vakpróbában (6.1.) meghatározott követelményeknek. Szükség esetén a reagenseket körülbelül 1g vajzsír/100 ml oldószer jelenlétében újra desztilláljuk.

4.1. Megközelítőleg 25 % (m/m) NH_3 tartalmú ammóniaoldat (ennek sűrűsége 20 °C-on megközelítőleg 0,91 g/ml) vagy ennél erősebb, ismert töménységű oldat.

4.2. Etanol, 96 ± 2 % (v/v) vagy, ha ez nem áll rendelkezésre, akkor metanollal, etil-metil-ketonnal, illetve petroléterrel denaturált etanol.

4.3. Peroxidmentes dietil-éter

1. megjegyzés:
A peroxidok jelenlétének kimutatása érdekében tegyünk 10 ml dietil-étert egy előzetesen éterrel kiöblített, kisebb, üvegdugós üveghengerbe, majd adjunk hozzá 1 ml frissen készített 10 %-os kálium-jodid-oldatot. Rázzuk fel, és hagyjuk állni egy percig. Egyik rétegben sem lehet sárga elszíneződés.

2. megjegyzés:
A dietil-étert peroxidmentesen tarthatjuk, ha előzetesen teljes egészében egy percen át hígított, savanyított réz-szulfát-oldatba merített, és ezt követően vízben kimosott cinkfóliát adunk hozzá. Literenként megközelítőleg 8 000 mm^2 cinkfóliát kell felhasználni; ezt olyan hosszú csíkokra vágjuk, amelyek legalább az edény feléig felérnek.

4.4. Petroléter, amelynek a forráspontja 30 °C és 60 °C között bárhol lehet.

4.5. Kevert oldószer, amelyet röviddel a felhasználás előtt azonos térfogatú dietil-éter (4.3.) és petroléter (4.4.) összekeverésével nyerünk (ahol a kevert oldószer használatáról történik említés, azt akár tiszta dietil-éterrel, akár tiszta petroléterrel is lehet helyettesíteni).

5. ESZKÖZÖK

5.1. Analitikai mérleg

5.2. Megfelelő méretű extraháló csövek, illetve lombikok, amelyeket oldószerre nem érzékeny, csiszolt üvegdugóval vagy egyéb dugóval láttak el.

5.3. Vékonyfalú és lapos fenekű 150–200 ml űrtartalmú lombikok.

5.4. Atmoszférikus nyomású, jól szellőző, termosztátos vezérléssel szabályozott szárítószekrény, amelynek hőmérséklete 102 °C ± 1 °C-ra van állítva.

5.5. Zsírmentes, nem porózus, használat során nem pörkölődő, rázkódáscsökkentő szemcsék, például üveggyöngyök vagy szilíciumkarbid darabkák (ennek az anyagnak a használata nem kötelező, lásd a 6.2.1. pontot).

5.6. Az extrakciós kémcsövekhez illeszkedő pipetta

5.7. Centrifuga (nem kötelező)

6. ELJÁRÁS

6.1. Vakpróba

A minta zsírtartalmának meghatározásával egyidejűleg végezzük el a vakpróbát is 10 ml desztillált víz felhasználásával ugyanazzal az extrakciós felszereléssel, azonos mennyiségű, azonos reagensekkel, és ugyanazzal az eljárással, amely a következőkben szerepel, kivéve a 6.2.2. pontot. Ha a vakpróbával nyert érték meghaladja a 0,5 mg-ot, a reagenseket ellenőrizni kell, a szennyeződött reagenseket pedig meg kell tisztítani, vagy ki kell cserélni.

6.2. Meghatározás

6.2.1. Szárítsunk ki egy lombikot (5.3.) a szárítószekrényben (5.4.) 30–60 percen keresztül (szükség esetén rázkódáscsökkentő szemcsével (5.5.) együtt, amelyek az oldószerek későbbiek során történő eltávolításakor az egyenletes, gyenge forrást segítik elő). Engedjük, hogy a lombik lehűljön és felvegye a mérőszoba hőmérsékletét, majd a lehűlt lombikot pontosan mérjük meg a legközelebbi 0,1 mg-os értékre.

6.2.2. Rázzuk fel az előkészített mintát, majd közvetlenül az extrakciós berendezésben (5.2) – vagy bele – azonnal mérjünk ki egy milligrammos pontossággal a cukrozott tej esetében 2–2,5 grammot, illetve a cukrozatlan minta esetében 4–5 grammot. Hígítsuk fel vízzel 10,5 ml-re, majd óvatos rázogatás mellett lassan melegítsük (40–50 °C-on), míg a minta teljesen el nem oszlik. A mintát teljesen el kell oszlatni, ellenkező esetben a meghatározást meg kell ismételni.

6.2.3. Adjunk hozzá 1,5 ml-t a 25 %-os ammóniaoldatból (4.1.) vagy annak megfelelő mennyiségű erősebb oldatot, és alaposan keverjük össze.

6.2.4. Adjunk hozzá 10 ml etanolt (4.2.), és a nyitott készülékben óvatosan, de alaposan keverjük össze a folyadékokat.

6.2.5. Adjunk hozzá 25 ml dietil-étert (4.3.). Folyóvízzel hűtsük. Zárjuk le a készüléket, és egy percen keresztül rázzuk erősen, és többször fordítsuk fel.

6.2.6. Óvatosan vegyük ki a dugót, és adjunk hozzá 25 ml petrolétert (4.4.) úgy, hogy az első néhány milliliterrel leöblítjük a dugót és az üveg nyakát, hagyva, hogy az öblítésre használt oldat belecsorogjon a készülékbe. A dugó visszahelyezésével zárjuk le a készüléket, rázzuk fél percen keresztül, majd ismételten fordítsuk fel. Ne rázzuk túl erőteljesen, ha a 6.2.7. pontban nem fogunk centrifugát használni.

6.2.7. Hagyjuk a készüléket állni, amíg a felső folyadékréteg ki nem tisztul, és egyértelműen el nem válik az alsó vizes fázistól. Alternatív megoldásként az elválasztást egy erre alkalmas centrifugával (5.7.) végezzük el.

Megjegyzés:

ha a centrifuga meghajtását nem háromfázisú motor látja el, szikrák keletkezhetnek, ezért figyelmet kell fordítani egy esetleges robbanás vagy tűzeset elkerülésére, amelyet okozhatnak akár egy törött csőből szivárgó étergőzök is.

6.2.8. Húzzuk ki a dugót, és a kevert oldószer (4.5.) néhány milliliterével öblítsük le a dugót és az üveg nyakát, hagyva, hogy az öblítésre használt oldat belecsorogjon a készülékbe. Dekantálással vagy pipetta (5.6.) segítségével óvatosan vigyünk át a felülúszó rétegből az előkészített lombikba (6.2.1.) annyit, amennyit csak lehet.

Megjegyzés:
Ha az átvitelt nem pipetta alkalmazásával végezzük, szükségessé válhat egy kevés víz hozzáadása annak érdekében, hogy növeljük a két réteg határfelületét, és így segítsük a dekantálást.

6.2.9. Néhány milliliter kevert oldószerrel (4.5.) öblítsük el a készülék nyakának külső és belső oldalát, illetve a pipetta csúcsát és alsó felét. Hagyjuk, hogy az öblítésre használt oldat a készülék külső feléről a lombikba, a nyak belső felületéről és a pipettáról pedig az extrakciós készülékbe csorogjon.

6.2.10. Végezzünk el még egy extrakciót a 6.2.5.–6.2.9. pontok megismétlésével, de csak 15 ml dietil-étert és petrolétert használjunk fel.

6.2.11. Végezzünk el még egy harmadik extrakciót a 6.2.10. pont megismétlésével, de úgy, hogy kihagyjuk a legutolsó öblítést (6.2.9.).

Megjegyzés:
Ennek a harmadik extrakciónak az elvégzése nem kötelező, ha cukrozatlan, sűrített fölözött tej vagy cukrozott, sűrített fölözött tej mintáit elemezzük.

6.2.12. Gondosan párologtassunk el vagy desztilláljunk le annyi oldószert (beleértve az etil-alkoholt is), amennyit lehetséges. Ha a lombik űrtartalma kicsi, esetleg minden egyes extrakciót követően szükségessé válhat bizonyos mennyiségű oldószer fentiek szerinti eltávolítása.

6.2.13. Amikor már nem érezhető az oldószer szaga, helyezzük a lombikot az oldalára fektetve a szárítószekrénybe, és melegítsük egy órán keresztül.

6.2.14. Vegyük ki a lombikot a szárítószekrényből, hagyjuk kihűlni a mérőszoba hőmérsékletére, majd 0,1 mg-os pontossággal mérjük meg.

6.2.15. Ismételjük meg a 6.2.13. és 6.2.14. pontokat 30–60 perces melegítési periódusokban annyiszor, amíg két egymást követő mérés során a tömegek különbsége 0,5 mg-nál kisebb nem lesz, illetve amíg a tömeg nagysága nőni nem kezd. Ha a tömeg emelkedése tapasztalható, a számításoknál a legkisebb kapott tömeget használjuk (7.1.) Legyen a végső mért tömeg értéke M_1 g.

6.2.16. Adjunk hozzá 15–25 ml petrolétert annak bizonyítására, hogy a kivont anyag teljes mértékben oldható. Enyhén melegítsük és lötyögtessük az oldatot, amíg a zsír teljesen fel nem oldódik.

6.2.16.1. Ha a kivont anyag teljesen oldható a petroléterben, a zsír tömege a 6.2.1. és a 6.2.15. pont szerint végzett két mérés különbsége lesz.

6.2.16.2. Amennyiben bármilyen oldhatatlan anyag van jelen, vagy felmerül ennek a lehetősége, meleg petroléterrel való ismételt kimosással a zsírt teljes mértékben vonjuk ki a lombikból, és hagyjuk, hogy a fel nem oldódott anyag leülepedjen minden dekantálás előtt. A lombik nyakát kívülről háromszor öblítsük le. Melegítsük a lombikot oldalára fordítva egy órán keresztül a szárítószekrényben, hagyjuk hogy az előbbiek szerint (6.2.1.) a mérőszoba hőmérsékletére hűljön vissza, majd 0,1 mg-os pontossággal mérjük meg. A zsír tömegének értéke a 6.2.15. pont szerinti mérés és a legutolsó mérés közötti különbség lesz.

7. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

7.1. A számítás módja

A kivont zsír grammban kifejezett tömege a következő:

$$(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)$$

és a minta százalékos arányban kifejezett zsírtartalma a következő:

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100$$

ahol

M_1 = az M lombik és a zsír grammban kifejezett tömege a 6.2.15. pontban leírtak elvégzése után

M_2 = az M lombik grammban kifejezett tömege a 6.2.1., illetve kétség vagy fel nem oldódott anyag esetén a 6.2.16.2. pontban leírtak elvégzése után

B_1 = a B lombik grammban kifejezett tömege a vakpróbában a 6.2.15. pontban leírtak elvégzése után

B_2 = a B lombik grammban kifejezett tömege a 6.2.1., illetve kétség vagy fel nem oldódott anyag esetén a 6.2.16.2. pontban leírtak elvégzése után

S = a felhasznált minta grammban kifejezett tömege.

7.2. Ismételhetőség

Ugyanabból a mintából egy időben vagy gyors egymásutánban, ugyanaz által a vizsgáló által, azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg a termék 100 grammjára vetítve a 0,05 g zsírtartalmat.

4. MÓDSZER: ZSÍRTARTALOM MEGHATÁROZÁSA TEJPORBAN (RÖSE–GOTTLIEB MÓDSZER)

1. HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezzel a módszerrel a következő anyagok zsírtartalmának meghatározását lehet elvégezni:

– zsíros tejpor,

– teljes tejpor,

– félzsíros tejpor,

– sovány tejpor.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

A tejpor zsírtartalma: a megadott módszer szerint meghatározott zsírtartalom

3. A MÓDSZER ELVE

A vizsgálati minta zsírtartalmának meghatározása úgy történik, hogy a zsírtartalmat ammóniás alkohololdatból dietil-éterrel és petroléterrel kivonjuk, majd az oldószereket elpárologtatjuk és a visszamaradt anyagot lemérjük, majd azt a Röse–Gottlieb-elv alapján a minta tömegének százalékában számítva fejezzük ki.

4. VEGYSZEREK

Minden reagensnek meg kell felelnie a vakpróbában meghatározott követelményeknek (6.1.). Szükség esetén a reagenseket körülbelül 1 g vajzsír/100 ml oldószer jelenlétében újra desztilláljuk.

4.1. Megközelítőleg 25 % (m/m) NH_3 tartalmú ammóniaoldat (ennek sűrűsége 20 °C-on megközelítőleg 0,91 g/ml) vagy ennél erősebb, ismert töménységű oldat.

4.2. Etil-alkohol, 96 ± 2 % (v/v) vagy, ha ez nem áll rendelkezésre, akkor metil-alkohollal, etil-metil-ketonnal, illetve petroléterrel denaturált etil-alkohol.

4.3. Peroxidmentes dietil-éter

1. megjegyzés:
A peroxidok jelenlétének kimutatása érdekében tegyünk 10 ml étert egy előzetesen éterrel kiöblített, kisebb, üvegdugós üveghengerbe, és adjunk hozzá 1 ml frissen készített 10 %-os kálium-jodid-oldatot. Rázzuk fel és hagyjuk állni egy percig. Egyik rétegben sem lehet sárga elszíneződés.

2. megjegyzés:
A dietil-étert peroxidmentesen tarthatjuk, ha előzetesen teljes egészében egy percen át hígított, savanyított réz-szulfát-oldatba merített és ezt követően vízben kimosott cinkfóliát adunk hozzá. Literenként megközelítőleg 8 000 mm^2 cinkfóliát kell felhasználni; olyan hosszú csíkokra vágjuk, amelyek legalább az edény feléig felérnek.

4.4. Petroléter, amelynek a forráspontja 30 °C és 60 °C között bárhol lehet.

4.5. Kevert oldószer, amelyet röviddel a felhasználás előtt azonos térfogatú dietil-éter (4.3.) és petroléter (4.4.) összekeverésével nyerünk (ahol a kevert oldószer használatáról történik említés, azt akár tiszta dietil-éterrel, akár tiszta petroléterrel is lehet helyettesíteni).

5. ESZKÖZÖK

5.1. Analitikai mérleg

5.2. Megfelelő méretű extraháló kémcsövek, illetve lombikok, amelyeket oldószerre nem érzékeny, csiszolt üvegdugóval vagy egyéb dugóval láttak el.

5.3. Vékonyfalú és lapos fenekű 150–250 ml űrtartalmú lombikok.

5.4. Atmoszférikus nyomású, jól szellőző, termosztátos vezérléssel szabályozott szárítószekrény, amelynek hőmérséklete 102 °C ± 1 °C-ra van állítva.

5.5. Zsírmentes, nem porózus, használat során nem pörkölődő, rázkódáscsökkentő szemcsék, például üveggyöngyök vagy szilíciumkarbid darabkák (ennek az anyagnak a használata nem kötelező, lásd a 6.2.1. pontot).

5.6. 60–70 °C-os hőmérsékletű vízfürdő

5.7. Az extrakciós kémcsövekhez illeszkedő pipetta

5.8. Centrifuga (nem kötelező)

6. ELJÁRÁS

6.1. **Vakpróba**

A minta zsírtartalmának meghatározásával egyidejűleg végezzük el a vakpróbát is 10 ml víz felhasználásával ugyanazzal az extrakciós felszereléssel, azonos mennyiségű, azonos reagensekkel, és ugyanazzal az eljárással, amely a következőkben szerepel, kivéve a 6.2.2. pontot. Ha a vakpróbával nyert érték meghaladja a 0,5 mg-ot, a reagenseket ellenőrizni kell, a szennyeződött reagenseket pedig meg kell tisztítani, vagy ki kell cserélni.

6.2. **Meghatározás**

6.2.1. Szárítsunk ki egy lombikot (5.3.) a szárítószekrényben (5.4.) 30–60 percen keresztül (szükség esetén bizonyos mennyiségű rázkódáscsökkentő szemcsével (5.5) együtt, amelyek az oldószerek későbbiek során történő eltávolításakor az egyenletes, gyenge forrást segítik elő). Engedjük, hogy a lombik lehűljön és felvegye a mérőszoba hőmérsékletét, majd a lehűlt lombikot pontosan mérjük meg a legközelebbi 0,1 mg-os értékre.

6.2.2. Közvetlenül az extrakciós berendezésben (5.2.) – vagy bele – pontosan mérjünk ki egy milligrammos pontossággal 1 gramm teljes tejport, illetve 1,5 gramm részben fölözött vagy sovány tejport. Adjunk hozzá 10 ml vizet, és óvatosan rázogassuk mindaddig, amíg a tejpor teljesen el nem oszlik (egyes minták estében melegítésre is szükség lehet).

6.2.3. Adjunk hozzá 1,5 ml-t a 4.1. pontban meghatározott 25 %-os ammóniaoldatból vagy annak megfelelő mennyiségű erősebb oldatot, majd gyakori rázogatás mellett az 5.6. szerinti vízfürdőben melegítsük 15 percen keresztül 60–70 °C hőmérsékleten. Hűtsük le, például folyóvízben.

6.2.4. Adjunk hozzá 10 ml etanolt (4.2.), és a nyitott készülékben óvatosan, de alaposan keverjük össze a folyadékokat.

6.2.5. Adjunk hozzá 25 ml dietil-étert (4.3.). Folyóvízzel hűtsük. Zárjuk le a készüléket, és egy percen keresztül rázzuk erősen, és többször fordítsuk fel.

6.2.6. Óvatosan vegyük le a dugót, és adjunk hozzá 25 ml petrolétert (4.4.) úgy, hogy az első néhány milliliterrel leöblítjük a dugót és az üveg nyakát, hagyva, hogy az öblítésre használt oldat belecsorogjon a készülékbe. A dugó visszahelyezésével zárjuk le, rázzuk fél percig, és ismételten fordítsuk fel. Ne rázzuk túl erőteljesen, ha a 6.2.7. pontban nem fogunk centrifugát használni.

6.2.7. Hagyjuk a készüléket állni, amíg a felső folyadékréteg ki nem tisztul, és egyértelműen el nem válik az alsó vizes fázistól. Alternatív megoldásként az elválasztást egy arra alkalmas centrifugával (5.8.) végezzük el.

Megjegyzés:
ha a centrifuga meghajtását nem háromfázisú motor látja el, szikrák keletkezhetnek, ezért figyelmet kell fordítani egy esetleges robbanás vagy tűzeset elkerülésére, amelyet okozhatnak akár egy törött csőből szivárgó étergőzök is.

6.2.8. Húzzuk ki a dugót, és néhány milliliter kevert oldószerrel (4.5.) öblítsük le a dugót és az üveg nyakát, hagyva, hogy az öblítésre használt oldat belecsorogjon a készülékbe. Dekantálással vagy pipetta (5.7.) segítségével óvatosan vigyünk át a felülúszó rétegből az előkészített lombikba (6.2.1.) annyit, amennyit csak lehet.

Megjegyzés:
Ha az átvitelt nem pipetta alkalmazásával végezzük, szükségessé válhat egy kevés víz hozzáadása annak érdekében, hogy növeljük a két réteg határfelületét és így segítsük a dekantálást.

6.2.9. Néhány milliliter kevert oldószerrel (4.5.) öblítsük el a készülék nyakának külső és belső oldalát, illetve a pipetta csúcsát és alsó felét. Hagyjuk, hogy az öblítésre használt oldat a készülék külső feléről a lombikba, a nyak belső felületéről és a pipettáról pedig az extrakciós készülékbe csorogjon.

6.2.10. Végezzünk el még egy extrakciót a 6.2.5–6.2.9. pontok megismétlésével, de csak 15 ml dietil-étert és 15 ml petrolétert használjunk fel.

6.2.11. Végezzünk el még egy harmadik extrakciót a 6.2.10. pont megismétlésével, de úgy, hogy kihagyjuk a legutolsó öblítést (6.2.9.)

Megjegyzés:
Ennek a harmadik extrakciónak az elvégzése nem kötelező, ha szárított sovány tej mintáit elemezzük.

6.2.12. Gondosan párologtassunk el vagy desztilláljunk le annyi oldószert (beleértve az etanolt is), amennyit lehetséges. Ha a lombik űrtartalma kicsi, esetleg minden egyes extrakciót követően szükségessé válhat bizonyos mennyiségű oldószer fentiek szerinti eltávolítása.

6.2.13. Amikor már nem érezhető az oldószer szaga, fektessük a lombikot az oldalára a szárítószekrényben, és egy órán keresztül melegítsük.

6.2.14. Vegyük ki a lombikot a szárítószekrényből, hagyjuk kihűlni a mérőszoba hőmérsékletére, mint azt korábban is tettük a 6.2.1. pont szerint, majd 0,1 mg-os pontossággal mérjük meg.

6.2.15. Ismételjük meg a 6.2.13. és 6.2.14. pontokat 30–60 perces melegítési periódusokban annyiszor, amíg két egymást követő mérés során a tömegek különbsége 0,5 mg-nál kisebb nem lesz, illetve amíg a tömeg nagysága nőni nem kezd. Ha a tömeg emelkedése tapasztalható, a számításoknál a legkisebb kapott tömeget használjuk (7.1.) Legyen a végső tömeg értéke M_1 g.

6.2.16. Adjunk hozzá 15–25 ml petrolétert annak bizonyítására, hogy a kivont anyag teljes mértékben oldható. Enyhén melegítsük és lötyögtessük az oldatot, amíg a zsír teljesen fel nem oldódik.

6.2.16.1. Ha a kivont anyag teljesen oldható a petroléterben, akkor a zsír tömege a 6.2.1. és 6.2.15. pont szerint végzett két mérés különbsége lesz.

6.2.16.2. Amennyiben bármilyen oldhatatlan anyag van jelen, vagy felmerül ennek a lehetősége, meleg petroléterrel való ismételt kimosással a zsírt teljes mértékben vonjuk ki a lombikból, és hagyjuk, hogy a fel nem oldódott anyag leülepedjen minden dekantálás előtt. A lombik nyakát kívülről háromszor öblítsük le.

Melegítsük a lombikot oldalára fordítva egy órán keresztül a szárítószekrényben, hagyjuk, hogy az előbbiek szerint (6.2.1.) a mérőszoba hőmérsékletére hűljön vissza, és 0,1 mg-os pontossággal mérjük meg. A zsír tömegének értéke a 6.2.15. pont szerinti mérés és a legutolsó mérés közötti különbség lesz.

7. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

7.1. **A számítás módja**

A kivont zsír grammban kifejezett tömege a következő:

$$(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)$$

és a minta százalékos arányban kifejezett zsírtartalma a következő:

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100$$

ahol

M_1 = az M lombik és a zsír grammban kifejezett tömege a 6.2.15. pontban leírtak elvégzése után

M_2 = az M lombik grammban kifejezett tömege a 6.2.1., illetve kétség vagy fel nem oldódott anyag esetén a 6.2.16.2. pontban leírtak elvégzése után

B_1 = a B lombik grammban kifejezett tömege a vakpróbában a 6.2.15. pontban leírtak elvégzése után

B_2 = a B lombik grammban kifejezett tömege a 6.2.1., illetve kétség vagy fel nem oldódott anyag esetén a 6.2.16.2. pontban leírtak elvégzése után

S = a felhasznált minta grammban kifejezett tömege.

7.2. **Ismételhetőség**

Ugyanabból a mintából egy időben vagy gyors egymásutánban, ugyanaz által a vizsgáló által, azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg a termék 100 grammjára vetítve a 0,2 g zsírtartalmat, kivéve a sovány tejpor esetében, ahol a különbség nem lehet több, mint a minta 100 grammjára vetítve 0,1 gramm.

5. MÓDSZER: SZACHARÓZTARTALOM MEGHATÁROZÁSA (POLARIMÉTRIÁS MÓDSZER)

1. HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezzel a módszerrel a következő anyagok szacharóztartalmának meghatározását lehet elvégezni:

– cukrozott sűrített tej,

– cukrozott, félzsíros sűrített tej,

– cukrozott, sűrített fölözött tej.

A minták nem tartalmazhatnak invert cukrot.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

Az cukrozott sűrített tej szacharóztartalma: a megadott módszer szerint meghatározott szacharóztartalom

3. A MÓDSZER ELVE

A módszer a Clerget-inverzió elvén alapszik, amely a mintának savval történő enyhe kezelését jelenti. Ennek eredményeként a szacharóz teljesen hidrolizálódik, de a tejcukor és egyéb cukrok szinte egyáltalán nem. A répacukor-tartalomra az oldat polarizált fényt elforgató képességének változásából lehet következtetni.

A mintából tiszta, a laktóz mutarotációs hatásától mentes szűrletet készítünk úgy, hogy előbb ammóniás kezelésnek vetjük alá, majd semlegesítjük az oldatot, és ezt követően cink-acetát és kálium-hexacianoferrát(II)-oldat hozzáadásával megtisztítjuk.

A szűrlet egy részében a répacukrot meghatározott módon hidrolizáljuk.

A szűrletnek az inverziót megelőzően és azt követően mért fényelforgatásából a megfelelő képlet alkalmazásával kiszámítható az oldat répacukor-tartalma.

4. VEGYSZEREK

4.1. Cink-acetát-oldat, 1 mólos; 21,9 g kristályos cink-acetát-dihidrátot ($Zn(C_2H_3O_2)_2.2\ H_2O$) és 3 ml ecetsavat oldjunk fel vízben, és hígítsuk fel az oldatot vízzel 100 ml-re.

4.2. 0,25 mólos kálium-hexacianoferrát (II)-oldat: 10,6 g kristályos kálium-hexacianoferrát (II)- trihidrátot ($K_4[Fe(CN)_6].3\ H_2O$) oldjunk fel vízben, és hígítsuk fel az oldatot vízzel 100 ml térfogatra.

4.3. Sósavoldat (6,35 ± 0,20 M (20–22 %) vagy 5,0 ± 0,2 M (16–18 %) töménységű).

4.4. Ammóniaoldat (2,0 ± 0,2 M (3,5 %) töménységű).

4.5. Ecetsavoldat (2,0 ± 0,2 M (12 %) töménységű).

4.6. Brómtimolkék-indikátor, 1 % (m/v) töménységben etil-alkoholban oldva.

5. ESZKÖZÖK

5.1. Mérleg, 10 mg-os pontosságú.

5.2. Két deciméteres, pontosan hitelesített hosszúságú polarimétercső.

5.3. Polariméter vagy szachariméter

a) Nátriumlámpával vagy zöld higanygőzlámpával működő polariméter (prizmával ellátott higanygőzlámpa, illetve a speciális Wratten-szűrő Nr. 77A), amelyet legalább 0,05 szögfoknyi pontossággal lehet leolvasni.

b) Nemzetközi cukorskálával ellátott szachariméter, amely fehér fényt bocsát keresztül egy 15 mm-es 6 %-os kálium-bikromát szűrőn, illetve nátronfényt alkalmaz, leolvasási pontossága pedig a nemzetközi cukorskálán legalább 0,1 fok.

5.4. 60 ± 1 °C-os hőmérsékletre szabályozott vízfürdő.

6. ELJÁRÁS

6.1. **Ellenőrző meghatározás**

Az eljárás, a reagensek és a felszerelés egységessé tétele érdekében a következők szerint egy ellenőrző meghatározást kell párhuzamosan elvégezni 100 g tej és 18 g tiszta répacukor (szacharóz), vagy pedig 110 g fölözött tej és 18 g tiszta szacharóz felhasználásával, amelyek mindegyike 40 g 45 % répacukor tartalmú sűrített tejnek felel meg. A 7. pontban leírt képletek alkalmazásával számítsuk ki a cukortartalmat, az 1. számú képletben az M, F, illetve P helyére a felhasznált tejet, illetve ennek a tejnek a zsír- és fehérjetartalmát helyettesítve be, a 2. számú képletben pedig az M értékét 40,00-nek véve. A kapott értékek átlaga a 45 %-os értéktől 0,2 %-nál nagyobb mértékben nem térhet el.

6.2. **Meghatározás**

6.2.1. Egy 100 ml-es üveg csőröspohárba 10 mg-os pontossággal mérjünk ki megközelítőleg 40 g jól összekevert mintát. Adjunk hozzá 50 ml 80–90 °C hőmérsékletű forró vizet, és keverjük el alaposan.

6.2.2. A keveréket teljes mennyiségben öntsük át egy 200 ml űrtartalmú mérőlombikba, és a csőröspoharat 60 °C-os vízzel többször öblítsük ki mindaddig, amíg az oldat teljes térfogata 120–150 ml nem lesz. Ekkor keverjük el az oldatot, és hűtsük szobahőmérsékletre.

6.2.3. Adjunk hozzá 5 ml-t a híg ammóniaoldatból (4.4.). Keverjük el ismét, majd hagyjuk állni 15 percen keresztül.

6.2.4. Semlegesítsük az ammóniát azonos mennyiségű hígított ecetsavoldat (4.5.) hozzáadásával. Előzetesen az ammóniaoldat millilitereinek pontos számát titrálás útján brómtimol kék indikátor (4.6.) alkalmazásával határozzuk meg. Keverjük el.

6.2.5. A megdöntött lombik tartalmát lötyköléssel enyhén keverve adjunk hozzá 12,5 ml cink-acetát-oldatot (4.1.).

6.2.6. Adjunk hozzá 12,5 ml kálium-hexacianoferrát (II)-oldatot (4.2.) ugyanolyan módon, mint az előbb tettük az ecetsavoldattal.

6.2.7. A lombik tartalma legyen 20 °C-os, és ezt 20 °C-os vízzel töltsük fel a 200 ml-es jelig.

Megjegyzés:
Az eddig ismertetett összes szakaszban a víz vagy reagens hozzáadását olyan módon kell végezni, hogy légbuborékok keletkezését elkerüljük, és ugyanezt a célt szem előtt tartva a keverést is inkább a lombik körözésével és nem annyira heves rázással kell elvégezni. Ha légbuborékok jelenlétét észleljük, még mielőtt 200 ml-re hígítottuk volna fel a tartalmat, ezeknek az eltávolítását elősegíthetjük, ha rövid ideig vákuumszivattyúra kötjük lombikot, és közben forgatjuk.

6.2.8. Zárjuk le a lombikot egy száraz üvegdugóval, és hevesen rázva alaposan keverjük el.

6.2.9. Hagyjuk állni néhány percig, majd száraz szűrőpapíron szűrjük meg, a szűrlet első 25 milliliterét pedig öntsük ki.

6.2.10. Közvetlen polarizáció: 20 °C ± 1 °C hőmérsékleten határozzuk meg a szűrlet optikai fényelforgatási szögét.

6.2.11. Inverzió: a fentebb mondottak szerint nyert szűrletből pipettázzunk 40 ml mennyiséget egy 50 milliliteres mérőlombikba. Adjunk hozzá 6,0 ml 6,35 M-os sósavat vagy 7,5 ml 5,0 M-os sósavat (4.3.).

Helyezzük a lombikot 15 perces időtartamra 60 °C hőmérsékletű vízfürdőbe, gondoskodva róla, hogy a lombik egész gömbje belemerüljön a fürdőbe. Az első öt percben körkörös mozgatással keverjük a tartalmat, ez alatt az idő alatt a lombik tartalmának el kell érnie a vízfürdő hőmérsékletét. Hűtsük vissza 20 °C-ra és hígítsuk fel teljes térfogatra 20 °C hőmérsékletű vízzel. Keverjük össze és hagyjuk állni ezen a hőmérsékleten egy óra hosszat.

6.2.12. *Inverzió utáni polarizáció*

Az invertált oldat elforgatásának mértékét 20 °C ± 0,2 °C hőmérsékleten határozzuk meg. (Amennyiben azonban a polarizációs csőben található folyadék T hőmérséklete több mint 0,2 °C-kal eltér a mérés alatt, a 7.2 pontban ismertetett hőmérsékleti korrekciót kell alkalmazni).

7. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

7.1. **A számítás módja**

A szacharóztartalmat a következő képletek segítségével számíthatjuk ki:

1. $v = \frac{M}{100} (1.08\ F + 1.55\ P)$

2. $S = \frac{D - 1.25\ I}{Q} \times \frac{V - v}{V} \times \frac{V}{L \times M}\ \%$

ahol

S = a szacharóztartalom

M = a lemért minta tömege grammban

F = a minta zsírtartalma százalékban

P = a minta fehérjetartalma (N x 6,38) százalékban

V = az a térfogat milliliterben, amire a mintát szűrés előtt hígítottuk

v = a letisztulás során bekövetkezett kicsapódás miatt szükséges térfogat-korrekció milliliterben

D = a polariméter közvetlenül leolvasott értéke (inverzió előtti polarizáció)

I = a polariméter leolvasott értéke inverzió után

L = a polariméter csövének hossza deciméterben

Q = inverziós tényező, amelynek értékeit a következőkben megadjuk.

Megjegyzések:

a) Ha pontosan 40,00 g sűrített tejet nátriumlámpás polariméterrel mérünk, szögfokokat használunk, és 20,0 °C ± 1 °C-on 2 deciméter hosszú polariméter csövet alkalmazunk, a szabályos sűrített tej (C = 9) szacharóz tartalmának meghatározásához a következő képlet használható:

$$S = (D - 1.25\ I) \times (2.833 - 0.00612\ F - 0.00878\ P)$$

b) Ha az invert polarizációt nem 20 °C-on, hanem más hőmérsékleten mérjük, a számokat a következők szerint kell beszorozni:

$$(1 + 0.0037\ (T - 20\ ).$$

7.2. **A Q inverziós tényező értékei**

A következő képletek különböző fényforrások esetén pontos értéket adnak a Q tényezőre, a töménységre, valamint hőmérsékletre végzett korrekcióval:

Nátriumlámpa és szögfokokat mérő polariméter:
Q = 0,8825 + 0,0006 (C–9) – 0,0033 (T–20).

Zöld higanylámpa polariméterrel és szögfokokban mérve:
Q = 1,0392 + 0,0007 (C–9) – 0,0039 (T–20).

Fehér fény dikromátos szűrővel és nemzetközi cukorfok skálával ellátott szachariméter alkalmazásával:
Q = 2,549 + 0,0017 (C–9) – 0,0095 (T–20).

A fenti képletekben:

C = A polarizált invert oldatban jelen lévő összes cukor mennyisége százalékban.

T = Az invertált oldat hőmérséklete a polariméteres leolvasásnál

1. megjegyzés:
A polarizált invert oldatban jelen lévő összes cukor C mennyisége a közvetlenül leolvasott értékből, és az inverzió változásából a megszokott módon is kiszámolható, a szacharóz, tejcukor és inverz cukor szokásos fajlagos elforgatási értékeinek az alkalmazásával.
A 0,0006 (C–9) stb. korrekció csak akkor pontos, ha a C megközelítőleg 9; szabályos sűrített tejnél ezt a korrekciót el lehet hanyagolni, hiszen itt a C–9-hez közel van.

2. megjegyzés:
A hőmérséklet eltérése a 20 °C ± 1 °C értéktől kevés változást eredményez a közvetlen leolvasással nyert értékben, de a 0,2 °C-nál nagyobb eltérések az invert érték leolvasásakor korrekciót tesznek szükségessé. A - 0,0033 (T–20) stb. korrekció csak 18 és 22 °C között pontos.

7.3. **Ismételhetőség**

Ugyanabból a mintából egy időben vagy gyors egymásutánban, ugyanaz által a vizsgáló által, azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg a termék 100 grammjára vetítve a 0,3 g szacharóz tartalmat.

6. MÓDSZER: TEJSAV- ÉS LAKTÁTTARTALOM MEGHATÁROZÁSA

1. HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezzel a módszerrel a következő anyagok tejsavban kifejezett tejsav- és laktáttartalmának meghatározását lehet elvégezni:

– emelt zsírtartalmú tejpor,

– teljes tejpor,

– félzsíros tejpor,

– sovány tejpor.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

A tejpor tejsav- és laktáttartalma: a megadott módszer szerint meghatározott és tejsavban kifejezett tejsav- és laktáttartalom

3. A MÓDSZER ELVE

Réz-szulfát és kalcium-hidroxid hozzáadásával majd szűréssel a mintából készült oldatból a zsírt, fehérjét és laktózt egyszerre távolítjuk el.

A szűrletben található tejsavat és laktátokat réz-(II)-szulfát jelenlétében tömény kénsav hozzáadásával acetaldehiddé alakítjuk

A tejsavtartalmat p-hidroxidifenil használatával színképelemzéssel határozzuk meg.

A tejsav- és laktáttartalmat a minta zsírmentes szárazanyag-tartalmának 100 grammjára vetített tejsav milligrammban fejezzük ki.

4. REAGENSEK

4.1. Réz-(II)-szulfát-oldat: oldjunk fel vízben 250 mg réz-(II)-szulfátot ($CuSO_4.5\ H_2O$) és hígítsuk fel vízzel 1 000 ml-re.

4.2. Kalciumhidroxid-szuszpenzió:

4.2.1. Mozsárban törjünk meg 300 g kalcium-hidroxidot ($Ca(OH)_2$) összesen 900 ml víz felhasználásával. A szuszpenziót a felhasználás előtt frissen kell készíteni.

4.2.2. Kalcium-hidroxid szuszpenzió: mozsárban törjünk meg 300 g kalcium-hidroxidot ($Ca(OH)_2$) összesen 1 400 ml víz felhasználásával. A szuszpenziót a felhasználás előtt frissen kell készíteni.

4.3. Kénsav-réz-(II)-szulfát-oldat: adjunk hozzá 300 ml 95,9–97,0 %-os (m/m) H_2SO_4 kénsavhoz 0,5 ml réz-(II)-szulfát-oldatot (4.1.).

4.4. p-hidroxidifenol($C_6H_3C_6H_4OH$)-oldat: rázogatás és enyhe melegítés mellett oldjunk fel 0,75 g p-hidroxidifenolt 5 ml vizes nátrium-hidroxid-oldatban, amely 100 ml-ben 5 g NaOH-t tartalmaz. Vízzel hígítsuk fel egy térfogatmérő lombikban 50 ml-re. Az oldatot tartsuk barnára színezett üvegben sötét és hűvös helyen. Ne használjuk fel, ha a színe megváltozik, vagy zavarossá válik. Az oldatot nem szabad 72 óránál tovább tárolni.

4.5. Standard tejsavoldat: nem sokkal felhasználás előtt oldjunk fel vízben 0,1067 g lítium-laktátot (CH_3CHOH-COOLi), és hígítsuk fel egy térfogatmérő lombikban 1 000 ml-re. Ennek az oldatnak 1 ml-e 0,1 mg tejsavnak felel meg.

4.6. Standard tejporból készített tej: előzetesen elemezzünk több, jó minőségű tejpormintát. A kalibrációs görbe elkészítéséhez válasszuk ki a legalacsonyabb tejsavtartalommal rendelkező mintát, amely 100 g zsírmentes szárazanyagra számítva nem tartalmaz több tejsavat 30 mg-nál. Kövessük a 6.2.1. és 6.2.2. pontokban leírt eljárást.

5. ESZKÖZÖK

5.1. Analitikai mérleg

5.2. 570 nm-es hullámhosszon történő mérésre alkalmas spektrofotométer

5.3. 30 °C ± 2 °C hőmérsékletű vízfürdő

5.4. Dörzsmozsár törővel

5.5. Szűrőpapír (Schleicher és Schüll 595, Whatman 1 vagy azzal egyenértékű)

5.6. Kémcsövek, Pyrex vagy azzal egyenértékű anyag (25 x 150 mm méretben)

Megjegyzés:
Az összes üvegárunak tökéletesen tisztának kell lennie, és csak erre a meghatározásra lehet őket felhasználni. A csapadékmaradványokat tartalmazó üvegedényeket mosogatás előtt koncentrált sósavval öblítsük ki.

6. ELJÁRÁS

6.1. **Vakpróba**

Beosztással ellátott 50 ml-es kémcsőbe tegyünk 30 ml vizet, és a 6.2.4–6.2.11. pontokban leírt eljárás végrehajtásával végezzük el a vakpróbát. Ha a vizes vakpróbával nyert érték 100 g zsírmentes szárazanyagra számítva meghaladja a 20 mg tejsav egyenértéket, a reagenseket ellenőrizni kell, és a szennyeződött reagenseket meg kell tisztítani, vagy ki kell cserélni. A vakpróbát a minta elemzésével egyidejűleg kell elvégezni.

6.2. **Meghatározás**

Megjegyzés:
Lehetőleg kerüljük el a szennyeződéseket, különösen a nyállal és izzadsággal való szennyeződést.

6.2.1. Határozzuk meg a minta zsírmentes szárazanyag-tartalmát (a) grammban a 4. számú módszerrel nyert zsírtartalomnak és a 2. számú módszerrel nyert nedvesség tartalomnak 100-ból való kivonásával.

6.2.2. A mintából mérjünk ki 0,1 mg-os pontossággal mennyiséget. $\frac{1000}{(a - 10)}$ g Ezt a mennyiséget adjuk hozzá 100 ml vízhez és keverjük el alaposan.

6.2.3. Pipettázzunk ki a kapott oldatból 5 ml-t egy 50 ml űrtartalmú beosztással ellátott kémcsőbe, és vízzel hígítsuk fel körülbelül 30 ml-re.

6.2.4. Lassan, állandó rázogatás mellett adjunk hozzá 5 ml réz-(II)-szulfát-oldatot (4.1.) és hagyjuk állni tíz percen keresztül.

6.2.5. Lassan, állandó rázogatás mellett adjunk hozzá 5 ml kalcium-hidroxid szuszpenziót (4.2.1.) vagy 10 ml kalcium-hidroxid szuszpenziót (4.2.2.).

6.2.6. Hígítsuk fel vízzel 50 ml-re, rázzuk fel erősen és hagyjuk állni 10 percig, majd szűrjük le. A szűrlet első részét öntsük ki.

6.2.7. Pipettázzunk 1 ml szűrletet egy kémcsőbe (5.6.).

6.2.8. Büretta vagy mérőpipetta segítségével adjunk hozzá az oldathoz 6,0 ml kénsav-réz-(II)-szulfát-oldatot (4.3.). Keverjük össze.

6.2.9. Melegítsük a forró vízfürdőben öt percen keresztül. Folyóvíz alatt hűtsük vissza a környezeti hőmérsékletre.

6.2.10. Adjunk hozzá két csepp hidroxidifenol-reagenst (4.4.) és rázzuk fel erősen, hogy a reagenst a folyadék egészében eloszlassuk. Helyezzük a kémcsövet 30 °C ± 2 °C hőmérsékletű vízfürdőbe 15 percre, és időnként rázzuk fel.

6.2.11. Helyezzük a kémcsövet 90 másodpercig forrásban lévő vízfürdőbe. Folyóvíz alatt hűtsük vissza a környezeti hőmérsékletre.

6.2.12. Az 5.2. pontban meghatározott hullámhosszon három órán belül mérjük meg a vakpróbáéhoz viszonyított (6.1.) optikai sűrűséget.

6.2.13. Ha az optikai sűrűség meghaladja a kalibrációs görbe legmagasabb pontját, ismételjük meg a kísérletet a 6.2.6. pontban nyert szűrlet megfelelő hígításának felhasználásával.

6.3. **Standard sor készítése**

6.3.1. A tejporból készített tejből (4.6.) mérjünk ki pipettával 5 ml-t öt 50 ml-es mérőkémcsőbe. A kémcsövekbe pipettázzunk a standardoldatból (4.5.) 0, 1, 2, 3, illetve 4 ml-t, amivel a tejporban lévő 100 g zsírmentes szárazanyagra számított 0, 20, 40, 60, illetve 80 mg-nak megfelelő tejsav standard sort kapunk.

6.3.2. Vízzel hígítsuk fel mintegy 30 ml-re és vessük alá ugyanolyan kezelésnek, mint aminek leírása a 6.2.4–6.2.11. pontokban szerepel.

6.3.3. Mérjük meg a standardoldatok (6.3.1.) vakpróbához (6.1.) viszonyított optikai sűrűségét az 5.2. pontban megadott hullámhosszon. Vigyük fel egy diagramra a 6.3.1. pontban megadott tejsavtartalmaknak, vagyis 100 g zsírmentes szárazanyagra számított 0, 20, 40, 60, illetve 80 mg tejsavnak az optikai sűrűség értékeit. Rajzoljunk egy, a kapott pontokra legjobban illeszkedő egyenest és készítsük el a standard görbét úgy, hogy ezt az egyenest saját magával párhuzamosan addig toljuk el, amíg át nem halad az origón.

7. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

7.1. **A számítás módja**

A minta 6.2.12. vagy 6.2.13. szerint mért optikai sűrűségét a kalibrációs görbe segítségével tejsav mg/100 g zsírmentes szárazanyag értékre számoljuk át. Ezt az eredményt szorozzuk be a hígítási tényezővel, amikor a szűrletet a 6.2.13. pontnak megfelelően felhígítottuk.

7.2. **Ismételhetőség**

Ugyanabból a mintából egy időben vagy gyors egymásutánban ugyanaz által a vizsgáló által, azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség 80 mg tartalomig 100 gramm zsírmentes szárazanyagra vetítve nem haladhatja meg a 8 mg tejsavtartalmat. Ennél magasabb értékeknél a különbség nem haladhatja meg a legalacsonyabb érték 10 %-át.

7. MÓDSZER: FOSZFATÁZAKTIVITÁS MEGHATÁROZÁSA (MÓDOSÍTOTT SANDERS- ÉS SAGERS-ELJÁRÁS)

1. HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezzel a módszerrel a következő anyagok foszfatázaktivitásának meghatározását lehet elvégezni:

– emelt zsírtartalmú tejpor,

– teljes tejpor,

– félzsíros tejpor,

– sovány tejpor.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

A tejpor foszfatázaktivitása a tejkészítményben jelen lévő aktív, alkalikus foszfatázmennyiségének mérésére szolgál. Ezt a tejporból készített tej 1 ml-e által a következőkben leírt eljárással felszabadított fenol µg-ban kifejezett mennyisége adja meg.

3. A MÓDSZER ELVE

A tejpor foszfatázaktivitását a foszfatáznak a fenolt dinátrium-fenolfoszfátból való felszabadításának képessége alapján lehet meghatározni. Az előírt körülmények között felszabadított fenol mennyiségét a Gibb-reagens segítségével kapott szín spektrofotometriás mérésével határozzuk meg.

4. VEGYSZEREK

4.1. **A-oldat**

Bárium-borát hidroxidpuffer: pH 10,6 ± 0,1 20 °C hőmérsékleten.

Oldjunk fel 25,0 gramm bárium-hidroxidot ($Ba(OH)_2.8\ H_2O$) vízben, és hígítsuk fel 500 ml-re.

Oldjunk fel 11,0 gramm bórsavat (H_3BO_3) vízben, és hígítsuk fel 500 ml-re.

Melegítsük fel a két oldatot 50 °C-ra, és keverjük össze.

Rázzuk fel, és hűtsük vissza a keveréket szobahőmérsékletre.

A bárium-hidroxid-oldattal állítsuk be a pH-ját 10,6 ± 0,1-re, és szűrjük le.

Az oldatot szorosan lezárt edényben tároljuk.

Használat előtt a pufferoldatot azonos mennyiségű vízzel hígítsuk fel.

4.2. **B-oldat:**

Színelőhívó puffer.

Oldjunk fel 6,0 g nátrium-metaborátot ($NaBO_2$) (vagy 12,6 g $NaBO_2$. 4 H_2O) és 20,0 g nátrium-kloridot (NaCl) vízben, és hígítsuk fel vízzel 1,000 ml-re.

4.3. **C-oldat**

Puffer-szubsztrát-oldat

4.3.1. 4,5 ml B-oldatban (4.2.) oldjunk fel 0,5 g dinátrium-fenilfoszfátot ($Na_2C_6H_3PO_4.2H_2O$). Adjunk hozzá két csepp E-oldatot (4.5.) és hagyjuk állni 30 percen keresztül. A színt 2,5 ml butil-alkohollal (4.10.) vonjuk ki. Szükség esetén ismételjük meg a szín kivonásának műveletét. Az elkülönítést követően a butil-alkoholt ki lehet önteni. Az oldat hűtőszekrényben több napig is eltartható. Használat előtt a színt hívjuk elő és vonjuk ki még egyszer.

4.3.2. Ebből az oldatból pipettával mérjünk át 1 ml-t egy 100 ml-es térfogatmérő lombikba, és hígítsuk fel a teljes térfogatra az A-oldattal. A pufferoldatot közvetlenül felhasználás előtt készítsük el.

4.4. **D-oldat**

Kicsapószer

Oldjunk fel 3,0 g cink-szulfátot ($ZnSO_4.7H_2O$) és 0,6 g réz-(II)-szulfátot ($CuSO_4.5H_2O$) vízben, és vízzel hígítsuk fel 100 m-re.

4.5. **E-oldat**

Gibb-reagens

Oldjunk fel 0,040 g 2,6-dibrómkinon 1,4-klórimidet ($O.C_6H_2Br_2NCl$) tíz ml 96 %-os etil-alkoholban. Az oldatot sötét üvegben, hűtőszekrényben tároljuk. Ezt a reagenst ki kell dobni, ha elszíneződött.

4.6. Színhígító puffer

10 ml B-oldatot (4.2.), színelőhívó puffert, hígítsunk fel vízzel 100 ml-re.

4.7. Réz-szulfát-oldat

Oldjunk fel 0,05 g réz-(II)-szulfátot ($CuSO_4$. 5 H_2O) vízben, majd hígítsuk fel vízzel 100 ml-re.

4.8. Fenol-törzsoldat

0,2 g ± 0,001 g tiszta fenolt oldjunk fel vízben, és egy 100 ml-es térfogatmérő lombikban hígítsuk fel vízzel a teljes térfogatra. Ez az oldat hűtőszekrényben több hónapig is eltartható. Ebből az oldatból 10 ml-t hígítsunk fel vízzel 100 ml-re. Ez a hígított oldat 1 ml-ben 200 μg fenolt tartalmaz, és felhasználható tovább hígított oldatok készítéséhez.

4.9. Forrásban lévő desztillált víz

4.10. n-butanol.

5. ESZKÖZÖK

5.1. Analitikai mérleg

5.2. 37 °C ± 1 °C hőmérsékletű, termosztáttal vezérelt vízfürdő.

5.3. 610 nm-es hullámhosszon történő mérésre alkalmas spektrofotométer.

5.4. Szűrőpapír (Schleicher és Schüll 597, Whatman 42 vagy azzal egyenértékű).

5.5. Forrásban lévő vízfürdő

5.6. Alumínium fólia.

6. ELJÁRÁS

Figyelmeztetés:

1. Kerüljük a közvetlen napfényt.
2. Az összes üvegedénynek, dugónak és kivonó anyagnak teljesen tisztának kell lennie. Ajánlatos elöblíteni, és vízben kifőzni, vagy pedig gőzkezelésnek alávetni őket.
3. Kerüljük a műanyag tárgyak használatát (például dugók), mert fenolt tartalmazhatnak.
4. A nyál foszfatázt tartalmaz a minta nyállal még nyomokban sem szennyeződhet, ezt gondosan kerülni kell.

6.1. **A minta előkészítése**

6.1.1. A mintából 0,1 g-os pontossággal mérjünk ki 10 grammot, majd 90 ml vízben oldjuk fel. A tejpor feloldására használt víz hőmérséklete semmilyen körülmények között nem haladhatja meg a 35 °C-ot.

6.2. **Meghatározás**

6.2.1. Két kémcsőbe tegyünk a 6.1.1. szerint elkészített rekonstituált tejből 1-1 ml-t.

6.2.2. Az egyik kémcsövet forrásban lévő vízben főzzük 2 percig. Fedjük le a csövet és a vízfürdőt (5.5.), vagy adott esetben a csőröspoharat alumínium fóliával (5.6.), hogy biztosak legyünk benne, hogy az egész kémcső forrásban van. Hideg víz alatt hűtsük vissza szobahőmérsékletre. Ezt a kémcsövet használjuk vakpróbának. Innen kezdve minden műveleti lépésben azonos módon kell a két csövet kezelni.

6.2.3. Adjunk hozzá a kémcsövekhez 10 ml C-oldatot (4.3.2.). Keverjük össze, és helyezzük a csöveket 37 °C-os vízfürdőbe (5.2.).

6.2.4. A vízfürdőben rendszeres rázogatás mellett inkubáljuk 60 percig.

6.2.5. A csöveket azonnal helyezzük át egy forrásban lévő vízfürdőbe (5.5.), és két percig forraljuk, majd hideg vízzel hűtsük vissza szobahőmérsékletre.

6.2.6. Adjunk hozzá 1 ml-t a D-oldatból (4.4.), és szűrjük le száraz szűrőpapíron. Az első szűrleteket dobjuk ki, egészen addig, amíg tiszta folyadékot nem kapunk.

6.2.7. Mindkét szűrletből tegyünk 5 ml-t kémcsövekbe, adjunk hozzá 5 ml-t a B-oldatból (4.2.) és 0,1 ml-t az E-oldatból (4.5.). Keverjük el.

6.2.8. Szobahőmérsékleten hívjuk elő a színt harminc percen keresztül, kerülve a közvetlen napfényt.

6.2.9. Mérjük meg az 5.3. pontban jelzett hullámhosszon a mintaoldat optikai sűrűségét a vakpróbával szemben.

6.2.10. Ismételjük meg a meghatározást, ha az oldat optikai sűrűsége magasabb a standard mintáénál, amelyben a 7. pont szerint elkészített 20 µg fenol van.

Ha túlléptük ezt a határt, akkor a jelenlévő foszfatázaktivitás eltávolítása érdekében hígítsunk fel megfelelő mennyiségű tejporból (6.1.1.) készült tejet ennek a tejnek a 6.2.2. pont szerint forralt megfelelő mennyiségével.

7. KALIBRÁCIÓS GÖRBE ELKÉSZÍTÉSE

7.1. Négy 100 ml-es térfogatmérő lombikba pipettával mérjünk bele a 4.8. pont szerint hígított standardoldatból 1, 3, 5 és 10 ml-t, és töltsük fel a jelig vízzel. Ezek a hígítások 2, 6, 10, illetve 20 μg fenolt tartalmaznak.

7.2. Pipettával mérjünk 1 ml vizet, illetve a standardoldatokból (7.1.) 1 ml-t a kémcsövekbe annak érdekében, hogy olyan sort kapjunk, amely 0 (vakpróba érték, amelyet 1 ml víz bemérésével kapunk) – 2 – 6 – 10 és 20 μg fenolt tartalmaz.

7.3. Egymást követően mindegyik kémcsőbe mérjünk be pipettával 1 ml réz-(II)-szulfát-oldatot (4.7.), 5 ml színhígító pufferoldatot (4.6.), 3 ml vizet és 0,1 ml-t az E-oldatból (4.5.). Keverjük össze.

7.4. Hagyjuk a kémcsöveket fél órán keresztül szobahőmérsékleten állni, kerülve a közvetlen napfényt.

7.5. A vakpróbához viszonyítva mérjük az oldatok fényelnyelését mindegyik kémcsőben az 5.3. pontban jelzett hullámhosszon.

7.6. Készítsük el a kalibrációs görbét a fényelnyelési értékeket a 7.2. pontban meghatározott fenolmennyiségekhez képest felrajzolva.

8. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

8.1. **A számítás módja**

8.1.1. A 6.2.9. pontban mért elnyelési értékeket a standard görbe igénybevételével konvertáljuk a fenol mikrogrammjára.

8.1.2. A tejporból készített tej egy milliliterjére a fenol mikrogrammban kifejezett foszfatázaktivitást a következő képlettel lehet kiszámítani:

Foszfatáz aktivitás = 2,4 x P,

ahol a P = a fenol μg-ban megadott mennyisége a 8.1.1. szerint.

8.1.3. Ha szükséges volt a 6.2.10. pontban leírt hígítást elvégezni, a 8.1.2. pontban nyert eredményeket a hígítási tényezővel meg kell szorozni.

8.2. **Ismételhetőség**

Ugyanabból a mintából egy időben vagy gyors egymásutánban, ugyanaz által a vizsgáló által, azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg az 1 ml tejporból készített tejre vonatkoztatott 2 μg mennyiségű felszabadított fenolt.

8. MÓDSZER: FOSZFATÁZAKTIVITÁS MEGHATÁROZÁSA (ASCHAFFENBURG- és MÜLLEN-ELJÁRÁS)

1. **HATÁLY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET**

Ezzel a módszerrel a következő anyagok foszfatázaktivitásának meghatározását lehet elvégezni:

– zsíros tejpor,

– teljes tejpor,

– félzsíros tejpor,

– sovány tejpor.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

A tejpor foszfatázaktivitása a tejkészítményben jelen lévő aktív lúgos foszfatáz mennyiségének mérésére szolgál. A tejporból készített tej 1 ml-e által a következőkben leírt eljárással felszabadított p-nitrofenol μg-ban kifejezett mennyisége adja meg.

3. A MÓDSZER ELVE

A tejporból készült tejet 10,2 pH-értékű puffer szubsztráttal hígítjuk, és 37 °C-on vízfürdőben két órán át inkubáljuk. Ilyen körülmények között a mintában lévő összes lúgos foszfatáz p-nitrofenolt fog a hozzáadott dinátrium-p-nitrofenolfoszfátból felszabadítani. A felszabadított p-nitrofenol mennyiségét standard színezésű üvegekkel egy egyszerű összehasonlító készülékben tükrözött fény felhasználásával történő összehasonlítás útján lehet megállapítani.

4. VEGYSZEREK

4.1. Nátrium karbonát-bikarbonát puffer:

Oldjunk fel vízben 3,5 gramm vízmentes nátrium karbonátot és 1,5 g nátrium-bikarbonátot, és egy térfogatmérő lombikban hígítsuk fel vízzel 1 000 ml-re.

4.2. Puffer szubsztrát:

A 4.1. pont szerint elkészített nátrium-karbonát-bikarbonát-pufferoldatban oldjunk fel 1,5 g dinátrium-p-nitrofenilfoszfátot, és egy térfogatmérő lombikban hígítsuk fel vízzel 1 000 ml-re.

Ez az oldat hűtőszekrényben tárolva (4 °C) egy hónapon keresztül stabil, de az ilyen tárolt oldatokat ellenőrző színvizsgálatnak kell alávetni – lásd a 6. pontban a 3. számú elővigyázatossági intézkedést.

4.3. Tisztító oldatok

4.3.1. Cink-szulfát-oldat

Oldjunk fel vízben 30,0 gramm cink-szulfátot ($ZnSO_4$) és vízzel hígítsuk fel egy 100 ml-es térfogatmérő lombikban teljes térfogatra.

4.3.2. Kálium-hexacianoferrát(II)-oldat

17,2 gramm kálium hexacianoferrát (II) trihidrátot ($K_4[Fe(CN)_6].3\ H_2O$) oldjunk fel vízben, és egy térfogatmérő lombikban hígítsuk fel az oldatot vízzel 100 ml térfogatra.

5. ESZKÖZÖK

5.1. Analitikai mérleg

5.2. 37 °C ± 1 °C hőmérsékletű, termosztáttal vezérelt vízfürdő.

5.3. Különleges koronggal ellátott szín-összehasonlító készülék, amely 1 ml tejben található p-nitrofenol mikrogrammjára kalibrált standard színezésű üvegekből, és 2 x 25 mm-es küvettákból áll.

6. ELJÁRÁS

Figyelmeztetés:

1. Használat után a kémcsöveket ürítsük ki, vízzel öblítsük el, lúgos detergenst tartalmazó forró vízben mossuk el, majd tiszta forró csapvízben ismét öblítsük el. Végül használat előtt szintén el kell öblíteni vízben, majd meg kell szárítani őket.

   A pipettákat rögtön használat után tiszta, forró csapvízben alaposan öblítsük el, és használat előtt szintén el kell öblíteni vízben, majd meg kell szárítani őket.

2. A kémcsődugókat rögtön használat után tiszta, forró csapvízben el kell alaposan öblíteni, majd két percen át vízben kifőzni.

3. A puffer-szubsztrát-oldatnak (4.2.) hűtőszekrényben 4 °C-on vagy az alatt legalább egy hónapon keresztül stabilnak kell maradnia. Bármilyen okból bekövetkezett instabilitást az oldat sárga elszíneződése jelzi. Noha a vizsgálatot mindig egy azonos puffer szubsztrátumot tartalmazó hevített kontroll termékkel együtt végezzük, azonban mégis ajánlatos kerülni az oldat használatát, ha 10 µg fölötti színértéket kapunk, mikor a szín-összehasonlító készülék 25 mm-es küvettájában lévő oldatot összehasonlítjuk a másik 25 mm-es küvetta desztillált vizével.

4. Használjunk minden mintához új pipettát, és kerüljük, hogy a pipetták nyállal szennyeződjenek.

5. A kísérletet semmilyen fázisban nem érheti közvetlen napfény.

6.1. **A minta előkészítése**

Oldjunk fel 10 gramm tejport 90 ml vízben. A tejpor feloldására használt víz hőmérséklete semmilyen körülmények között nem haladhatja meg a 35 °C-ot.

6.2. **Meghatározás**

6.2.1. Egy tiszta, száraz kémcsőbe mérjünk ki 15 ml puffer szubsztrátumot (4.2.), majd 2 ml-t a vizsgálni szándékozott, tejporból készült tejmintából (6.1.). Dugaszoljuk be a csövet, fordítsuk fejjel lefelé és keverjük össze, majd helyezzük 37 °C-os vízfürdőbe (5.2.).

6.2.2. Ezzel egyidejűleg helyezzünk a vízfürdőbe egy másik kontroll kémcsövet, amely 15 ml puffer szubsztrátumot és 2 ml felforralt, a vizsgálathoz hasonló, tejporból készült tejet tartalmaz.

6.2.3. Kétórás inkubálás után vegyük ki a csöveket a vízfürdőből, és a kicsapás érdekében adjunk hozzájuk 0,5 ml csapadékképző cink-szulfátot (4.3.1.), helyezzük vissza a dugót, rázzuk fel erősen és hagyjuk állni három percig. Adjunk hozzá 0,5 ml kálium-hexacianoferrát(II)-csapadékképző-oldatot (4.3.2.), keverjük össze és szűrjük át a szűrőpapíron (5.4.), majd gyűjtsük össze a tiszta kémcsőben a letisztult szűrletet.

6.2.4. Tegyük bele a szűrletet a 25 mm-es küvettába, és a speciális korong használatával az összehasonlító készülékben (5.3) hasonlítsuk össze a forralt mintát tartalmazó kontrollal.

7. AZ EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

7.1. **A számítás**

A 6.2.4. pontban mért közvetlenül leolvasott értékeket a tejporból készített tej egy milliliterében lévő p-nitrofenol mikrogrammjában rögzítjük.

7.2. **Ismételhetőség**

Ugyanabból a mintából egy időben vagy gyors egymásutánban, ugyanaz által a vizsgáló által, azonos feltételek mellett végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg az 1 ml, tejporból készített tejre vonatkoztatott 2 μg mennyiségű felszabadított p-nitrofenolt.