31979L1067

24.12.1979. EIROPAS KOPIENU OFICIĀLAIS VĒSTNESIS L 327/29

KOMISIJAS PIRMĀ DIREKTĪVA

(1979. gada 13. novembris),

kas nosaka Kopienas analīzes metodes cilvēku uzturam paredzēta daļēji vai pilnīgi dehidrēta konservēta piena pārbaudei

(79/1067/EEK)

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

ņemot vērā Eiropas Ekonomikas kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1975. gada 18. decembra Direktīvu 76/118/EEK par dalībvalstu tiesību aktu tuvināšanu attiecībā uz cilvēku uzturam paredzētu daļēji vai pilnīgi dehidrētu konservētu pienu [1], un jo īpaši tās 11. pantu,

tā kā saskaņā ar Direktīvas 76/118/EEK 11. pantu daļēji vai pilnīgi dehidrēta konservēta piena sastāvs ir jāpārbauda ar Kopienas analīzes metodēm;

tā kā sākotnēji būtu vēlams pieņemt virkni metožu, attiecībā uz kurām pētījumi ir pabeigti;

tā kā šajā direktīvā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Pārtikas produktu pastāvīgās komitejas atzinumu,

IR PIEŅĒMUSI ŠO DIREKTĪVU.

1. pants

Dalībvalstis veic visus vajadzīgos pasākumus, lai nodrošinātu to, ka analīzes I pielikumā noteikto kritēriju pārbaudei veic saskaņā ar II pielikumā aprakstītajām metodēm.

2. pants

Ja kādai atsevišķai noteikšanai ir paredzētas alternatīvas metodes, paraugu var analizēt ar jebkuru no šīm metodēm. Izmantotā metode jānorāda II pielikumā minētajā testa ziņojumā.

3. pants

Dalībvalstīs stājas spēkā normatīvi un administratīvi akti, kas vajadzīgi, lai panāktu atbilstību šai direktīvai 18 mēnešu laikā pēc tās izziņošanas. Par to tās nekavējoties informē Komisiju.

4. pants

Šī direktīva ir adresēta dalībvalstīm.

Briselē, 1979. gada 13. novembrī

Komisijas vārdā –

Komisijas loceklis

Étienne DAVIGNON

[1] OV L 24, 30.1.1976., 49. lpp.

I PIELIKUMS

PIRMO KOPIENAS ANALĪZES METOŽU DARBĪBAS JOMA DIREKTĪVĀ PAR DAĻĒJI VAI PILNĪGI DEHIDRĒTU KONSERVĒTU PIENU

I. **Vispārīgi noteikumi.**

II. **Sausnas satura noteikšana:**

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar augstu tauku saturu (izmantojot 1. metodi II pielikumā),

— nesaldinātā iebiezinātā pienā (izmantojot 1. metodi II pielikumā),

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu (izmantojot 1. metodi II pielikumā),

— nesaldinātā iebiezinātā vājpienā (izmantojot 1. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā pienā (izmantojot 1. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu (izmantojot 1. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā vājpienā (izmantojot 1. metodi II pielikumā).

III. **Mitruma noteikšana:**

— sausajā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī (izmantojot 2. metodi II pielikumā),

— sausajā pilnpienā vai pilnpiena pulverī (izmantojot 2. metodi II pielikumā),

— sausajā pienā ar pazeminātu tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī (izmantojot 2. metodi II pielikumā),

— sausajā vājpienā vai vājpiena pulverī (izmantojot 2. metodi II pielikumā).

IV. **Tauku satura noteikšana:**

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar augstu tauku saturu (izmantojot 3. metodi II pielikumā),

— nesaldinātā iebiezinātā pienā (izmantojot 3. metodi II pielikumā),

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu (izmantojot 3. metodi II pielikumā),

— nesaldinātā iebiezinātā vājpienā (izmantojot 3. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā pienā (izmantojot 3. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu (izmantojot 3. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā vājpienā (izmantojot 3. metodi II pielikumā),

— sausā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī (izmantojot 4. metodi II pielikumā),

— sausā pilnpienā vai pilnpiena pulverī (izmantojot 4. metodi II pielikumā),

— sausā pienā ar pazeminātu tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī (izmantojot 4. metodi II pielikumā),

— sausā vājpienā vai vājpiena pulverī (izmantojot 4. metodi II pielikumā).

V. **Saharozes noteikšana:**

— saldinātā iebiezinātā pienā (izmantojot 5. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu (izmantojot 5. metodi II pielikumā),

— saldinātā iebiezinātā vājpienā (izmantojot 5. metodi II pielikumā).

VI. **Pienskābes un laktātu noteikšana:**

— sausajā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī (izmantojot 6. metodi II pielikumā),

— sausajā pilnpienā vai pilnpiena pulverī (izmantojot 6. metodi II pielikumā),

— sausajā pienā ar pazeminātu tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī (izmantojot 6. metodi II pielikumā),

— sausajā vājpienā vai vājpiena pulverī (izmantojot 6. metodi II pielikumā).

VII. **Fosfatāzes aktivitātes noteikšana:**

— sausajā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī (izmantojot 7. vai 8. metodi II pielikumā),

— sausajā pilnpienā vai pilnpiena pulverī (izmantojot 7. vai 8. metodi II pielikumā),

— sausajā pienā ar pazeminātu tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī (izmantojot 7. vai 8. metodi II pielikumā),

— sausajā vājpienā vai vājpiena pulverī (izmantojot 7. vai 8. metodi II pielikumā).

II PIELIKUMS

ANALĪZES METODES ATTIECĪBĀ UZ CILVĒKU UZTURAM PAREDZĒTU DAĻĒJI VAI PILNĪGI DEHIDRĒTA KONSERVĒTA PIENA PRODUKTU SASTĀVU

VISPĀRĪGI NOTEIKUMI

1. PARAUGA SAGATAVOŠANA ĶĪMISKAI ANALĪZEI

1.1. **Nesaldināts iebiezināts piens ar augstu tauku saturu**.

Nesaldināts iebiezināts piens.

Nesaldināts iebiezināts piens ar pazeminātu tauku saturu.

Nesaldināts iebiezināts vājpiens.

Slēgto trauku sakrata un apgriež otrādi. Atver trauku un lēni ielej pienu otrā hermētiski noslēdzamā traukā, sajaucot ar atkārtotu pārliešanu. Nodrošina to, ka visi atlikušie tauki un piens no trauka sienām ir sajaukušies ar paraugu. Noslēdz trauku. Ja saturs nav viendabīgs, uzsilda trauku ūdens peldē līdz 40 °C. Spēcīgi sakrata reizi 15 minūtēs. Pēc divām stundām izņem trauku no ūdens peldes un ļauj tam atdzist līdz apkārtējai temperatūrai. Atver vāku un rūpīgi samaisa trauka saturu ar karoti vai lāpstiņu (ja ir atdalījušies tauki, paraugu nepārbauda). Uzglabā vēsā vietā.

1.2. **Saldināts iebiezināts piens**.

Saldināts iebiezināts piens ar pazemināu tauku saturu.

Saldināts iebiezināts vājpiens.

Trauki: silda noslēgtu trauku ūdens peldē 30–40 °C temperatūrā apmēram 30 minūtes. Atver trauku un rūpīgi samaisa tā saturu ar lāpstiņu vai karoti uz augšu, uz leju un ar apļveida kustībām, lai iegūtu pilnīgu augšējo un apakšējo slāņu sajaukumu ar pārējo saturu. Nodrošina to, ka paraugā iekļauj atlikušo pienu, kas palicis pie trauka sienām. Ciktāl iespējams, ielej trauka saturu citā traukā, kam ir hermētiski noslēdzams vāks. Noslēdz trauku un uzglabā to vēsā vietā.

Tūbiņas: Atgriež galu un ielej saturu traukā, kam ir hermētiski noslēdzams vāks. Pēc tam pārgriež tūbiņu gareniski. Izkasa visu, kas pieķēries tūbiņas iekšienei, un rūpīgi sajauc to ar pārējo saturu. Trauku uzglabā vēsā vietā.

1.3. Sausais piens ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulveris.

Sausais pilnpiens vai pilnpiena pulveris.

Sausais piens ar pazemināu tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulveris.

Sausais vājpiens vai vājpiena pulveris.

Ieber piena pulveri tīrā, sausā traukā (ar hermētiski noslēdzamu vāku), kura tilpums ir divreiz lielāks nekā pulvera daudzums. Nekavējoties noslēdz trauku un rūpīgi samaisa piena pulveri, atkārtoti sakratot trauku un apgriežot to otrādi. Parauga sagatavošanas laikā ciktāl iespējams jāizvairās no piena pulvera pakļaušanas atmosfēras iedarbībai, lai samazinātu mitruma uzsūkšanu.

2. REAĢENTI

2.1. **Ūdens.**

2.1.1. Ja šķīdināšanai, atšķaidīšanai vai mazgāšanai ir minēts ūdens, izmanto destilētu vai demineralizētu ūdeni ar vismaz tikpat lielu tīrības pakāpi.

2.1.2. Ja bez tālākas norādes ir atsauce uz "šķīdināšanu", "šķīdumu" vai "atšķaidīšanu", tas nozīmē "šķīdumu ūdenī" un "atšķaidīšanu ar ūdeni".

2.2. **Ķimikālijas.**

Visām izmantotajām ķimikālijām jābūt analītiskā reaģenta kvalitātei, ja nav noteikts citādi.

3. APRĪKOJUMS

3.1. **Aprīkojuma saraksti.**

Aprīkojuma sarakstos ietver tikai specializētas lietošanas priekšmetus un priekšmetus ar īpašu specifikāciju.

3.2. **Analītiskie svari.**

Analītiskie svari ir tādi svari, ar kuriem var nosvērt vismaz 0,1 mg.

4. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

4.1. **Procentu aprēķināšana.**

Ja nav noteikts citādi, rezultātus aprēķina procentos no laboratorijā saņemtā parauga masas.

4.2. **Svarīgo skaitļu skaits.**

Rezultātos neietver vairāk svarīgo skaitļu, nekā nepieciešams izmantotās analīzes metodes precizitātei.

5. TESTA ZIŅOJUMS

Testa ziņojumā norāda izmantoto analīzes metodi, kā arī iegūtos rezultātus. Tajā arī atzīmē visas sīkākās ziņas par procedūru, kas nav konkretizētas analīzes metodē vai kas nav obligātas, kā arī apstākļus, kas būtu varējuši ietekmēt iegūtos rezultātus.

Testa ziņojumā norāda visu informāciju, kas vajadzīga pilnīgai parauga identifikācijai.

1. METODE: SAUSNAS SATURA NOTEIKŠANA

(žāvēšanas skapis – 99 °C)

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi nosaka sausnas saturu:

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar augstu tauku saturu,

— nesaldinātā iebiezinātā pienā,

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu,

— nesaldinātā iebiezinātā vājpienā,

— saldinātā iebiezinātā pienā,

— saldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu,

— saldinātā iebiezinātā vājpienā.

2. DEFINĪCIJA

Sausnas saturs kondensētā pienā: sausnas saturs, kas noteikts ar norādīto metodi.

3. PRINCIPS

Zināmu parauga daudzumu atšķaida ar ūdeni, sajauc ar smiltīm un žāvē 99 ± 1 °C temperatūrā. Masa pēc žāvēšanas ir sausnas masa, un to aprēķina procentos no parauga svara.

4. REAĢENTI

Kvarca smiltis vai jūras smiltis, kas apstrādātas ar sālsskābi (graudu lielums: 0,18–0,5 mm, kas iet cauri 500 mikronu sietam, bet paliek 180 mikronu sietā). Tiem jāatbilst šādai pārbaudei:

apmēram 25 g smilšu divas stundas karsē žāvēšanas skapī (5.3.), kā aprakstīts 6.1. līdz 6.3. punktā. Pievieno 5 ml ūdens, atkal karsē žāvēšanas skapī divas stundas, atdzesē un sver no jauna. Starpībai starp abām masām nevajadzētu pārsniegt 0,5 mg.

Ja vajadzīgs, smiltis trīs dienas apstrādā ar 25 % sālsskābes šķīdumu, laiku pa laikam samaisot. Mazgā ar ūdeni, kamēr pazūd skābes reakcija vai ūdenī vairs nav hlorīda. Žāvē 160 °C temperatūrā un pārbauda no jauna, kā minēts iepriekš.

5. IEKĀRTA

5.1. Analītiskie svari.

5.2. Metāla trauki, vēlams niķeļa, alumīnija vai nerūsējošā tērauda. Traukiem jābūt ar vākiem, kas cieši pieguļ, bet kurus var viegli noņemt. Vēlamie izmēri ir šādi: diametrs – 60 līdz 80 mm, dziļums – apmēram 25 mm.

5.3. Atmosfēras spiediena žāvēšanas skapis, kas ir labi vēdināms, ar termostatu un temperatūru, kas noregulēta uz 99 ± 1 °C. Temperatūrai jābūt vienādai visā skapī.

5.4. Eksikators, kurā ir svaigi aktivizēts silikagels ar ūdens satura indikatoru vai ekvivalents atūdeņotājs.

5.5. Vienā galā saplacinātas stikla nūjiņas, kas ir tādā garumā, ka tās var ielikt metāla traukos (5.2.).

5.6. Verdoša ūdens vanna.

6. PROCEDŪRA

6.1. Traukā (5.2.) ievieto apmēram 25 g smilšu (4. punkts) un īsu stikla nūjiņu (5.5.).

6.2. Nenoslēdzot trauku un tā saturu ar vāku, ieliek trauku, tā saturu un vāku žāvēšanas skapī (5.3.) un karsē divas stundas.

6.3. Uzliek vāku un ieliek trauku eksikatorā (5.4.). Ļauj atdzist līdz apkārtējai temperatūrai un nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg (M_0).

6.4. Sasverot trauku uz vienu pusi, sakrata tajā smiltis. Tukšajā vietā ielej apmēram 1,5 mg no saldināta iebiezināta piena parauga un 3,0 g no nesaldināta iebiezināta piena parauga. Uzliek atpakaļ vāku un nosver ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg (M_1).

6.5. Noņem vāku, pievieno 5 ml ūdens un ar stikla nūjiņas palīdzību sajauc šķidrumus, bet pēc tam smiltis ar šķidrumu. Stikla nūjiņu atstāj maisījumā.

6.6. Ieliek trauku verdoša ūdens peldē (5.6.), kamēr ūdens izgaro; parasti tas aizņem 20 minūtes. Laiku pa laikam samaisa maisījumu ar nūjiņu, lai masai viegli piekļūtu gaiss un lai tā sausa neliptu. Nūjiņu atstāj traukā.

6.7. Trauku un vāku ieliek žāvēšanas skapī uz pusotru stundu.

6.8. Uzliek vāku, pārnes trauku uz eksikatoru (5.4.), ļauj tam atdzist līdz apkārtējai temperatūrai un nosver ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg.

6.9. No jauna ieliek trauku un vāku žāvēšanas skapī, trauku nenoslēdz un karsē to kopā ar vāku vēl vienu stundu.

6.10. Atkārto 6.8. punktā aprakstīto procesu.

6.11. Atkārto 6.9. un 6.10. punktā aprakstītos procesus, kamēr masas starpība divos secīgos svērumos ir mazāka par 0,5 mg vai kamēr masa palielinās. Ja novērojama masas palielināšanās, izmanto aprēķinos (7.1.) iegūto mazāko masu. Galīgais svars jāreģistrē gramos kā M_2.

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. **Aprēķināšanas metode.**

Sausnas saturu, ko aprēķina procentos no parauga masas, iegūst šādi:

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

kur:

M_0 = trauka, vāka un smilšu masa pēc 6.3. punkta procesa (g),

M_1 = trauka, vāka un smilšu masa pēc 6.4. punkta procesa (g),

M = trauka, vāka, smilšu un žāvētā parauga masa pēc 6.11. punkta procesa (g).

7.2. **Atkārtojamība.**

Rezultātu starpība divās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 0,2 g sausnas uz 100 g produkta.

8. KOPĒJA SAUSNAS SATURA UN BEZTAUKU SAUSNAS SATURA APRĒĶINĀŠANA

8.1. **Kopējo saldināta iebiezināta piena** sausnas saturu norāda:

kopējā sausna (kas iegūta ar 1. metodi II pielikumā), saharoze (kas iegūta ar 5. metodi II pielikumā).

8.2. **Kopējo saldināta iebiezināta piena beztauku** sausnas saturu norāda:

kopējā sausna (kas iegūta ar 1. metodi II pielikumā), saharoze (kas iegūta ar 5. metodi II pielikumā) un tauku saturs (kas iegūts ar 3. metodi II pielikumā).

8.3. **Kopējo nesaldināta iebiezināta piena beztauku** sausnas saturu norāda:

kopējā sausna (kas iegūta ar 1. metodi II pielikumā), tauku saturs (kas iegūts ar 3. metodi II pielikumā).

2. METODE: MITRUMA NOTEIKŠANA

(žāvēšanas skapis – 102 °C)

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi nosaka masas zudumus žāvēšanas rezultātā šādiem piena veidiem:

— sausais piens ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulveris,

— sausais pilnpiens vai pilnpiena pulveris,

— sausais piens ar pazemināt u tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulveris,

— sausais vājpiens vai vājpiena pulveris.

2. DEFINĪCIJA

Mitruma saturs: masas zudums žāvēšanas rezultātā, ko nosaka ar izmantoto metodi.

3. PRINCIPS

Testa porcijas atlikuma masu nosaka pēc žāvēšanas atmosfēras spiedienā žāvēšanas skapī 102 ± 1 °C temperatūrā līdz konstantas masas iegūšanai. Masas zudumu aprēķina procentos no parauga masas.

4. IEKĀRTA

4.1. Analītiskie svari.

4.2. Trauki, vēlams niķeļa, alumīnija, nerūsējošā tērauda vai stikla. Traukiem jābūt ar vākiem, kuri cieši pieguļ, bet kurus var viegli noņemt. Vēlamie izmēri ir šādi: diametrs – 60 līdz 80 mm, dziļums – apmēram 25 mm.

4.3. Atmosfēras spiediena žāvēšanas skapis, kas ir labi vēdināms, ar regulējamu temperatūru (102 ± 1 °C). Temperatūrai jābūt vienādai visā žāvēšanas skapī.

4.4. Eksikators, kurā ir svaigi aktivizēts silikagels ar ūdens satura indikatoru vai ekvivalents atūdeņotājs.

5. PROCEDŪRA

5.1. Noņem trauka vāku (4.2.) un ieliek trauku un tā vāku žāvēšanas skapī (4.3.), un karsē apmēram stundu.

5.2. Traukam uzliek vāku un ieliek aizvākoto trauku eksikatorā (4.4.) Ļauj atdzist līdz apkārtējai temperatūrai un nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg (M_0).

5.3. Traukā ievieto apmēram 2g sausā piena parauga, traukam uzliek vāku un noslēgto trauku cik ātri vien iespējams nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg (M_1).

5.4. Traukam noņem vāku un to kopā ar vāku ieliek žāvēšanas skapī uz divām stundām.

5.5. Uzliek vāku, pārnes aizvākoto trauku uz eksikatoru, ļauj tam atdzist līdz apkārtējai temperatūrai un cik ātri vien iespējams nosver ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg.

5.6. Traukam noņem vāku un žāvēšanas skapī karsē to kopā ar vāku vienu stundu.

5.7. Atkārto 5.5. punkta procesu.

5.8. Atkārto 5.6. un 5.5. punkta procesus, kamēr masas starpība divos secīgos svērumos nepārsniedz 0,5 mg vai kamēr masa palielinās. Ja novērojama masas palielināšanās, izmanto aprēķinos (6.1.) iegūto mazāko masu. Galīgais svars jāreģistrē gramos kā M_2.

6. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

6.1. Aprēķināšanas metode.

Parauga masas zudumu pēc žāvēšanas, ko izsaka procentos no masas, aprēķina pēc šādas formulas:

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

kur:

M_0 = trauka un vāka masa pēc 5.2. punktā aprakstītā procesa (g),

M_1 = trauka, vāka un parauga masa pēc 5.3. punktā aprakstītā procesa (g),

M_2 = trauka, vāka un žāvētā parauga masa pēc 5.5. punktā aprakstītā procesa (g).

6.2. Atkārtojamība.

Rezultātu starpība divās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 0,1 g mitruma uz 100 g produkta.

3. METODE: TAUKU SATURA NOTEIKŠANA IEBIEZINĀTA PIENA VEIDOS (ROZA-GOTLĪBA METODE)

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi nosaka tauku saturu:

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar augstu tauku saturu,

— nesaldinātā iebiezinātā pienā,

— nesaldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu,

— nesaldinātā iebiezinātā vājpienā,

— saldinātā iebiezinātā pienā,

— saldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu,

— saldinātā iebiezinātā vājpienā.

2. DEFINĪCIJA

Tauku saturs kondensētā pienā: tauku saturs, kas noteikts ar norādīto metodi.

3. PRINCIPS

Tauku saturu nosaka, ekstrahējot taukus no parauga amonjakāla spirta šķīduma ar dietilēteri un petrolēteri, kam seko šķīdinātāju iztvaikošana, atlikuma svēršana un parauga masas procentu aprēķināšana saskaņā ar Roza-Gotlība principu.

4. REAĢENTI

Visiem reaģentiem jāatbilst tukšajā mērījumā (6.1.) noteiktajām prasībām. Ja vajadzīgs, reaģentus var destilēt no jauna kopā ar apmēram 1 g piena tauku uz 100 ml šķīdinātāja.

4.1. Amonjaka šķīdums, apmēram 25 % (m/m) NH_3 (blīvums 20 °C temperatūrā – apmēram 0,91 g/ml), vai stiprāks zināmas koncentrācijas šķīdums.

4.2. Etanols, 96 ± 2 % (V/V) vai, ja tas nav pieejams, ar metanolu denaturēts etanols, etilmetilketons vai petrolēteris.

4.3. Dietilēteris bez peroksīda.

1. piezīme:
Lai veiktu peroksīdu testu, 10 ml ētera mazā stikla cilindrā ar aizbāzni, kas iepriekš izskalots ar ēteri, pievieno 1 ml svaigi sagatavota 10 % kālija jodīda šķīduma. Sakrata un ļauj nostāvēties vienu minūti. Nevienā slānī nedrīkst parādīties dzeltena krāsa.

2. piezīme:
Dietilēteri var saglabāt bez peroksīdiem, pievienojot mitru cinka foliju, kas bijusi pilnīgi iegremdēta atšķaidītā, paskābinātā vara sulfāta šķīdumā vienu minūti un pēc tam nomazgāta ūdenī. Uz litru izmanto apmēram 8 000 mm^2 cinka folijas; to sagriež plāksnēs, kas ir pietiekoši garas, lai sasniegtu pusi trauka dziļuma.

4.4. Petrolēteris ar vārīšanās temperatūru diapazonā starp 30 un 60 °C.

4.5. Šķīdinātāju maisījums, kas ir sagatavots īsi pirms lietošanas, sajaucot vienādus dietilētera (4.3.) un petrolētera (4.4.) daudzumus (ja norādīts, ka jāizmanto šķīdinātāju maisījums, to var aizvietot vai nu tikai ar dietilēteri, vai petrolēteri).

5. IEKĀRTA

5.1. Analītiskie svari.

5.2. Piemērotas ekstrakcijas mēģenes vai kolbas ar slīpēta stikla aizbāžņiem vai citiem noslēgšanas līdzekļiem, ko neietekmē izmantotie šķīdinātāji.

5.3. Kolbas ar plānām sieniņām un plakanu pamatni ar 150 līdz 250 ml tilpumu.

5.4. Atmosfēras spiediena žāvēšanas skapis, kas ir labi vēdināms, aprīkots ar termostatu (pielāgots darbam 102 ± 1 °C temperatūrā).

5.5. Vārīšanos veicinošas granulas bez taukiem vai porām, lietošanas laikā nedrūp, piem., stikla pērlītes vai silīcija karbīda daļiņas (šo materiālu izmantošana nav obligāta; sk. 6.2.1. punkta noteikumu).

5.6. Sifons, kas der ekstrakcijas mēģenēm.

5.7. Centrifūga (nav obligāta).

6. PROCEDŪRA

6.1. Tukšais mērījums.

Vienlaicīgi ar tauku satura noteikšanu paraugā, veic tukšo mērījumu ar 10 ml ūdens, izmantojot to pašu ekstrahēšanas trauku, tos pašus reaģentus un tos pašus apjomus un procedūru, kas aprakstīta tālāk tekstā, izņemot 6.2.2. punkta noteikumu. Ja tukšais mērījums pārsniedz 0,5 mg, pārbauda reaģentus un netīro reaģentu vai reaģentus attīra vai aizvieto ar citiem.

6.2. Noteikšana.

6.2.1. Kolbu žāvē (5.3.) (ja vajadzīgs, kopā ar dažām vārīšanos veicinošām granulām (5.5.), lai veicinātu nelielu vārīšanos šķīdinātāju iztvaikošanas laikā) žāvēšanas skapī (5.4.) 30 līdz 60 minūtes. Ļauj tai atdzist līdz svaru telpas temperatūrai un nosver to ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg.

6.2.2. Samaisa sagatavoto paraugu un nekavējoties nosver ar precizitāti līdz tuvākajam 1 mg 2–2,5 mg parauga, ja tas ir saldināts, un 4–5 mg parauga, ja tas nav saldināts, tieši ekstrakcijas traukā (5.2.) vai pa daļām. Pievieno ūdeni līdz 10,5 ml un viegli saskalina, nedaudz uzsildot (40–50 °C), kamēr produkts ir pilnībā izšķīdis. Paraugam jābūt pilnībā izšķīdušam, citādi noteikšana jāatkārto.

6.2.3. Pievieno 1,5 ml amonjaka (25 %) (4.1.) vai atbilstošu stiprāka šķīduma daudzumu un labi sajauc.

6.2.4. Pievieno 10 ml etanola (4.2.) un viegli, bet rūpīgi samaisa šķidrumus nenoslēgtā ekstrakcijas traukā.

6.2.5. Pievieno 25 ml dietilētera (4.3.). Atdzesē tekošā ūdenī. Noslēdz trauku un vienu minūti spēcīgi krata, vairākas reizes apgriežot otrādi.

6.2.6. Uzmanīgi izņem aizbāzni un pievieno 25 ml petrolētera (4.4.), izmantojot dažus pirmos mililitrus aizbāžņa un trauka kakliņa noskalošanai no iekšpuses, ļaujot šķidrumam ietecēt traukā. No jauna noslēdz ar aizbāzni un 30 sekundes krata, vairākas reizes apgriežot otrādi. Nekratīt pārāk spēcīgi, ja 6.2.7. punktā neizmanto centrifūgu!

6.2.7. Ļauj traukam nostāvēties, kamēr šķidruma augšējais slānis kļuvis skaidrs un redzami nodalījies no zemākā ūdeņainā slāņa. Alternatīvi atdalīšanu veic, izmantojot piemērotu centrifūgu (5.7.).

Piezīme:

Ja izmanto centrifūgu, ko nedarbina trīsfāžu motors, var izcelties dzirksteles, un tādēļ jāpievērš uzmanība, lai nenotiktu sprādziens vai neizceltos ugunsgrēks no ētera tvaikiem, kas varētu nākt, piemēram, no saplīsušas mēģenes.

6.2.8. Noņem aizbāzni, noskalo to un trauka kakliņa iekšpusi ar dažiem mililitriem jauktā šķīdinātāja (4.5.) un ļauj tam ietecēt atpakaļ traukā. Uzmanīgi pārnes cik daudz iespējams no augšējā slāņa ar dekantēšanu vai ar sifona (5.6.) palīdzību sagatavotā kolbā (6.2.1.).

Piezīme:

Ja pārnešanai neizmanto sifonu, var būt vajadzīgs pieliet nedaudz ūdens, lai labāk diferencētu abus slāņus un tādējādi atvieglotu dekantēšanu.

6.2.9. Noskalo trauka kakliņa iekšpusi un ārpusi vai sifona galu un zemāko daļu ar dažiem mililitriem jauktā šķīdinātāja (4.5.). Ļauj šķidrumam no trauka ārpuses ietecēt kolbā un šķidrumam no trauka kakliņa iekšienes un sifona – atpakaļ ekstrakcijas traukā.

6.2.10. Veic otru ekstrakciju, atkārtojot 6.2.5. līdz 6.2.9. punkta (ieskaitot) procedūru, bet izmantojot tikai 15 ml dietilētera un 15 ml petrolētera.

6.2.11. Veic trešo ekstrakciju, atkārtojot 6.2.10. punkta procedūru, bet izlaižot pēdējo skalošanu (6.2.9.).

Piezīme:
Nav obligāti veikt trešo ekstrakciju, analizējot nesaldināta iebiezināta vājpiena un saldināta iebiezināta vājpiena paraugus.

6.2.12. Rūpīgi iztvaicē vai destilē cik vien iespējams daudz šķīdinātāja (ieskaitot etanolu). Ja kolbai ir maza ietilpība, šādā ceļā jāatbrīvojas no daļas šķīdinātāja pēc katras ekstrakcijas.

6.2.13. Kad vairs nav sajūtama šķīdinātāja smarža, novieto kolbu žāvēšanas skapī uz sāniem un karsē vienu stundu.

6.2.14. Izņem kolbu no žāvēšanas skapja, ļauj tai atdzist līdz svaru telpas temperatūrai un nosver to ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg.

6.2.15. Atkārto 6.2.13. un 6.2.14. punkta procesus, karsējot 30 līdz 60 minūšu intervālā, kamēr starpība starp divu secīgu svērumu masām ir mazāka par 0,5 mg vai kamēr masa palielinās. Ja novērojama masas palielināšanās, izmanto aprēķinos (7.1.) iegūto mazāko masu. Galīgais svars jāreģistrē gramos kā M_1.

6.2.16. Pievieno 15 līdz 25 ml petrolētera, lai pārliecinātos, ka ekstrahētā viela ir pilnībā šķīstoša. Nedaudz uzsilda un maisa šķīdinātāju, līdz visi tauki ir izšķīduši.

6.2.16.1. Ja ekstrahētā viela pilnībā šķīst petrolēterī, tauku masa ir starpība starp tiem svariem, kas noteikti 6.2.1. un 6.2.15. punktā.

6.2.16.2. Ja novērojama kāda nešķīstoša viela vai šaubu gadījumā pilnībā ekstrahē taukus no kolbām, atkārtoti mazgājot ar siltu petrolēteri un ļaujot neizšķīdušajai vielai nostāties pirms katras dekantēšanas. Trīs reizes noskalo kolbas kakliņa ārpusi. Kolbu, kas novietota uz sāniem, žāvēšanas skapī karsē vienu stundu, ļauj atdzist līdz svaru telpas temperatūrai tāpat kā iepriekš (6.2.1.) un nosver ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg. Tauku masa ir starpība starp masu, kas iegūta saskaņā ar 6.2.15. punktu un šo galīgo masu.

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. Aprēķināšana.

Masa, izteikta ekstrahēto tauku gramos, ir:

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

un parauga tauku saturs, izteikts procentos, ir:

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

kur:

M_1 = kolbas M masa g ar taukiem saskaņā ar punktu 6.2.15,

M_2 = kolbas M masa g saskaņā ar 6.2.1. punktu vai, ja novērojama neizšķīdusi viela vai šaubu gadījumā, saskaņā ar 6.2.16.2. punktu,

B_1 = tukšā mērījuma kolbas B masa g saskaņā ar 6.2.15. punktu,

B_2 = kolbas B masa g saskaņā ar 6.2.1. punktu vai, ja novērojama neizšķīdusi viela vai šaubu gadījumā, saskaņā ar 6.2.16.2. punktu,

S = izmantotā parauga masa g.

7.2. Atkārtojamība.

Rezultātu starpība divās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 0,05 g tauku uz 100 g produkta.

4. METODE: TAUKU SATURA NOTEIKŠANA SAUSĀ PIENA VEIDOS (ROZA-GOTLĪBA METODE)

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi nosaka tauku saturu:

— sausajā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī,

— sausajā pilnpienā vai pilnpiena pulverī,

— sausajā pienā ar pazemināt tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī,

— sausajā vājpienā vai vājpiena pulverī.

2. DEFINĪCIJA

Tauku saturs sausā piena veidos: tauku saturs, kas noteikts ar norādīto metodi.

3. PRINCIPS

Tauku saturu nosaka, ekstrahējot taukus no parauga amonjakāla spirta šķīduma ar dietilēteri un petrolēteri, kam seko šķīdinātāju iztvaikošana, atlikuma svēršana un aprēķināšana procentos no parauga masas saskaņā ar Roza-Gotlība principu.

4. REAĢENTI

Visiem reaģentiem jāatbilst tukšajā mērījumā (6.1.) noteiktajām prasībām. Ja vajadzīgs, reaģentus var destilēt no jauna kopā ar apmēram 1 g piena tauku uz 100 ml šķīdinātāja.

4.1. Amonjaka šķīdums, apmēram 25 % (m/m) NH_3 (blīvums 20 °C temperatūrā – apmēram 0,91 g/ml), vai stiprāks zināmas koncentrācijas šķīdums.

4.2. Etanols, 96 ± 2 % (V/V) vai, ja tas nav pieejams, ar metanolu denaturēts etanols, etilmetilketons vai petrolēteris.

4.3. Dietilēteris bez peroksīdiem.

1. piezīme:
Lai veiktu peroksīdu testu, 10 ml ētera mazā, aizkorķējamā stikla cilindrā, kas iepriekš izskalots ar ēteri, pievieno 1 ml svaigi sagatavota 10 % kālija jodīda šķīduma. Sakrata un ļauj nostāvēties vienu minūti. Nevienā slānī nedrīkst parādīties dzeltena krāsa.

2. piezīme:
Dietilēteri var saglabāt brīvu no peroksīdiem, pievienojot mitru cinka foliju, kas bijusi pilnīgi iegremdēta atšķaidītā, paskābinātā vara sulfāta šķīdumā vienu minūti un pēc tam nomazgāta ūdenī. Uz litru izmanto apmēram 8 000 mm^2 cinka folijas, to sagriež plāksnēs, kas ir pietiekoši garas, lai sniegtos līdz pusei no trauka dziļuma.

4.4. Petrolēteris ar vārīšanās temperatūru diapazonā starp 30 un 60 °C.

4.5. Šķīdinātāju maisījums, kas ir sagatavots īsi pirms lietošanas, sajaucot vienādus dietilētera (4.3.) un petrolētera (4.4.) daudzumus (ja norādīts, ka jāizmanto šķīdinātāju maisījums, to var aizvietot vai nu tikai ar dietilēteri, vai petrolēteri).

5. IEKĀRTA

5.1. Analītiskie svari.

5.2. Piemērotas ekstrakcijas mēģenes vai kolbas ar slīpēta stikla vai cita veida aizbāžņiem, uz ko neiedarbojas izmantotie šķīdinātāji.

5.3. Kolbas ar plānām sieniņām un plakanu pamatni ar 150 līdz 250 ml tilpumu.

5.4. Atmosfēras spiediena žāvēšanas skapis, kas ir labi vēdināms, aprīkots ar termostatu (pielāgots darbībai 102 ± 1 °C temperatūrā).

5.5. Vārīšanos veicinošas granulas bez taukiem vai porām, kas lietošanā nedrūp, piem., stikla pērlītes vai silīcija karbīda daļiņas (šo materiālu izmantošana nav obligāta; sk. 6.2.1. punkta noteikumu).

5.6. Ūdens vanna, 60 līdz 70 °C.

5.7. Sifons, kas der ekstrakcijas mēģenēm.

5.8. Centrifūga (nav obligāta).

6. PROCEDŪRA

6.1. **Tukšais mērījums.**

Vienlaicīgi ar tauku satura noteikšanu paraugā veic tukšo mērījumu ar 10 ml ūdens, izmantojot to pašu ekstrahēšanas trauku, tos pašus reaģentus un tos pašus apjomus un procedūru, kas aprakstīta tālāk tekstā, izņemot 6.2.2. punkta noteikumu. Ja tukšā mērījumā iegūtais lielums pārsniedz 0,5 mg, pārbauda reaģentus un netīro reaģentu vai reaģentus attīra vai aizvieto ar citiem.

6.2. **Noteikšana.**

6.2.1. Kolbu žāvē (5.3.) (ja vajadzīgs, kopā ar dažām vārīšanos veicinošām granulām (5.5.), lai veicinātu nelielu vārīšanos šķīdinātāju iztvaikošanas laikā) žāvēšanas skapī (5.4.) 30 līdz 60 minūtes. Ļauj kolbai atdzist līdz svaru telpas temperatūrai un nosver atdzesēto kolbu ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg.

6.2.2. Precīzi līdz tuvākajam 0,1 mg tieši vai pa daļām ekstrakcijas traukā (5.2.) nosver apmēram 1 g pilnpiena pulvera vai apmēram 1,5 g pazemināta tauku satura vai vājpiena pulvera. Pievieno 10 ml ūdens un viegli saskalina, līdz piena pulveris ir pilnīgi izšķīdis (dažiem paraugiem var būt vajadzīga sildīšana).

6.2.3. Pievieno 1,5 ml amonjaka (25 %) (4.1.) vai atbilstošu stiprāka šķīduma daudzumu un 15 minūtes silda ūdens peldē (5.6.) 60 līdz 70 °C temperatūrā. Atdzesē, piemēram, tekošā ūdenī.

6.2.4. Pievieno 10 ml etanola (4.2.) un viegli, bet rūpīgi samaisa šķidrumus nenoslēgtā ekstrakcijas traukā.

6.2.5. Pievieno 25 ml dietilētera (4.3.). Tekošā ūdenī atdzesē. Noslēdz trauku, vienu minūti spēcīgi krata, vairākas reizes apgriežot otrādi.

6.2.6. Uzmanīgi izņem aizbāzni un pievieno 25 ml petrolētera (4.4.), izmantojot pašus pirmos mililitrus aizbāžņa un trauka kakliņa noskalošanai no iekšpuses, ļaujot šķidrumam ietecēt traukā. No jauna noslēdz ar aizbāzni, 30 sekundes krata, vairākas reizes apgriežot otrādi. Nekrata pārāk spēcīgi, ja saskaņā ar 6.2.7. punktu neizmanto centrifūgu.

6.2.7. Ļauj traukam nostāvēties, kamēr kļuvis skaidrs šķidruma augšējais slānis un skaidri nodalījies no zemākā ūdeņainā slāņa. Alternatīvi atdalīšanu veic, izmantojot piemērotu centrifūgu (5.8.).

Piezīme:

Ja izmanto centrifūgu, ko nedarbina trīsfāžu motors, var izcelties dzirksteles, un tādēļ jāpievērš uzmanība, lai nenotiktu sprādziens vai neizceltos ugunsgrēks no ētera tvaikiem, kas varētu nākt, piemēram, no saplēstas mēģenes.

6.2.8. Noņem aizbāzni, noskalo to un trauka kakliņa iekšpusi ar dažiem mililitriem jauktā šķīdinātāja (4.5.) un ļauj tam ietecēt atpakaļ traukā. Uzmanīgi pārnes cik daudz iespējams no augšējā slāņa ar dekantēšanu vai ar sifona (5.7.) palīdzību sagatavotā kolbā (6.2.1.).

Piezīme:

Ja pārnešanai neizmanto sifonu, var būt vajadzīgs pieliet nedaudz ūdens, lai labāk diferencētu abus slāņus un tādējādi atvieglotu dekantēšanu.

6.2.9. Noskalo trauka kakliņa iekšpusi un ārpusi vai sifona galu un zemāko daļu ar dažiem jauktā šķīdinātāja mililitriem. Ļauj šķidrumam no trauka ārpuses ietecēt kolbā un šķidrumam no trauka kakliņa iekšpuses un sifona – atpakaļ ekstrakcijas traukā.

6.2.10. Veic otru ekstrakciju, atkārtojot 6.2.5. līdz 6.2.9. punkta (ieskaitot) procedūru, bet izmantojot tikai 15 ml dietilētera un 15 ml petrolētera.

6.2.11. Veic trešo ekstrakciju, atkārtojot 6.2.10. punkta procedūru, bet izlaižot pēdējo skalošanu (6.2.9.).

Piezīme:
Analizējot sausā vājpiena paraugus, nav obligāti veikt trešo ekstrakciju.

6.2.12. Rūpīgi iztvaicē vai destilē cik vien iespējams daudz šķīdinātāja (ieskaitot etanolu). Ja kolbai ir maza ietilpība, šādā ceļā jāatbrīvojas no daļas šķīdinātāja pēc katras ekstrakcijas.

6.2.13. Kad vairs nav sajūtama šķīdinātāja smarža, novieto kolbu žāvēšanas skapī uz sāniem un karsē vienu stundu.

6.2.14. Izņem kolbu no žāvēšanas skapja, ļauj tai atdzist līdz svaru telpas temperatūrai kā iepriekš (6.2.1.) un nosver to ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg.

6.2.15. Atkārto 6.2.13. un 6.2.14. punkta procesus, karsējot ar 30 līdz 60 minūšu intervālu, kamēr masu starpība divos secīgos svērumos ir mazāka par 0,5 mg vai kamēr masa palielinās. Ja novērojama masas palielināšanās, izmanto aprēķinos (7.1.) iegūto mazāko masu. Galīgais svars jāreģistrē gramos kā M_1.

6.2.16. Pievieno 15 līdz 25 ml petrolētera, lai pārliecinātos, ka ekstrahētā viela ir pilnībā šķīstoša. Nedaudz uzsilda un maisa šķīdinātāju, līdz visi tauki ir izšķīduši.

6.2.16.1. Ja ekstrahētā viela pilnībā šķīst petrolēterī, tauku masa ir starpība starp tiem svariem, kas noteikti saskaņā ar 6.2.1. un 6.2.15. punktu.

6.2.16.2. Ja novērojama kāda nešķīstoša viela vai šaubu gadījumā, pilnīgi ekstrahē taukus no kolbām, atkārtoti mazgājot ar siltu petrolēteri un ļaujot neizšķīdušajai vielai nostāties pirms katras dekantēšanas. Trīsreiz noskalo kolbas kakliņa ārpusi.

Kolbu, kas novietota uz sāniem, žāvēšanas skapī karsē vienu stundu, ļauj atdzist līdz svaru telpas temperatūrai tāpat kā iepriekš (6.2.1.) un nosver ar precizitāti līdz tuvākajam 0,1 mg. Tauku masa ir starpība starp masu, kas iegūta saskaņā ar 6.2.15. punktu, un šo galīgo masu.

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. **Aprēķināšana.**

Masa, izteikta ekstrahēto tauku gramos, ir:

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

un parauga tauku saturs, izteikts procentos, ir:

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

kur:

M_1 = kolbas M masa g ar taukiem saskaņā ar punktu 6.2.15,

M_2 = kolbas M masa g saskaņā ar 6.2.1. punktu vai, ja novērojama neizšķīdusi viela vai šaubu gadījumā, saskaņā ar 6.2.16.2. punktu,

B_1 = tukšā mērījuma kolbas B masa g saskaņā ar 6.2.15. punktu,

B_2 = kolbas B masa g saskaņā ar 6.2.1. punktu vai, ja novērojama neizšķīdusi viela vai šaubu gadījumā, saskaņā ar 6.2.16.2. punktu,

S = izmantotā parauga masa g.

7.2. **Atkārtojamība.**

Rezultātu starpība divās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 0,2 g tauku uz 100 g produkta, izņemot vājpiena pulveri, kam starpība nedrīkst pārsniegt 0,1 g tauku uz 100 g produkta.

5. METODE: SAHAROZES SATURA NOTEIKŠANA (POLARIMETRISKĀ METODE)

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi nosaka saharozes saturu:

— saldinātā iebiezinātā pienā,

— saldinātā iebiezinātā pienā ar pazeminātu tauku saturu,

— saldinātā iebiezinātā vājpienā.

Paraugu sastāvā nedrīkst būt invertcukurs.

2. DEFINĪCIJA

Saharozes saturs saldināta kondensēta piena veidos: saharozes saturs, kas noteikts ar norādīto metodi.

3. PRINCIPS

Metode pamatojas uz Klergē (*Clerget*) inversijas principu, vieglu parauga apstrādi ar skābi, kas izraisa pilnīgu saharozes hidrolīzi, bet pilnīgi neiedarbojas uz laktozi un citiem cukuriem. Saharozes saturu nosaka pēc šķīduma griešanas spējas izmaiņas.

Sagatavo tīru parauga filtrātu bez laktozes izraisītas optiskās aktivitātes izmaiņas, apstrādājot šķīdumu ar amonjaku, kam seko neitralizācija un tīrīšana, pievienojot cinka acetāta un kālija heksacinoferāta (II) šķīdumus.

Daļā filtrāta saharozi hidrolizē noteiktā veidā.

No filtrāta griešanas pirms un pēc inversijas aprēķina saharozes saturu, izmantojot attiecīgās formulas.

4. REAĢENTI

4.1. Cinka acetāta šķīdums, 1 M: izšķīdina 21,9 g kristalizēta cinka acetāta dihidrāta $Zn(C_2H_30_2)_2 \cdot 2H_2O$ un 3 ml ledusetiķskābes ūdenī un papildina ar ūdeni līdz 100 ml.

4.2. Kālija heksacianoferāta (II) šķīdums, 0,25 M: izšķīdina 10,6 g kristalizēta kālija heksacianoferāta (II) trihidrāta $K_4[Fe\ (CN)\ _6] \cdot 3H_2O$ ūdenī un pielej ūdeni līdz 100 ml.

4.3. Sālsskābes šķīdums, 6,35 ± 0,20 M (20–22 %) vai 5,0 ± 0,2 M (16–18 %).

4.4. Amonjaka šķīdums, 2,0 ± 0,2 M (3,5 %).

4.5. Etiķskābes šķīdums, 2,0 ± 0,2 M (12 %).

4.6. Bromtimolzilā indikators, 1 % (m/V) šķīdums etanolā.

5. IEKĀRTA

5.1. Svari ar jutīgumu līdz 10 mg.

5.2. Polarimetra caurulīte, 2 dm, ar precīzi graduētu garumu.

5.3. Polarimetrs vai saharimetrs:

a) polarimetrs ar nātrija gaismu vai dzīvsudraba zaļo gaismu (dzīvsudraba tvaiku lampa ar prizmu vai īpašo Vrotena (*Wratten*) ekrānu Nr. 77 A), ar ko var veikt nolasījumus ar precizitāti līdz vismaz 0,05 leņķa grādiem;

b) saharimetrs ar starptautisku cukura skalu, kur izmanto baltu gaismu, kas iet caur 15 mm biezu 6 % kālija bihromāta šķīduma filtru, vai nātrija gaismu, ko uz starptautiskās cukura skalas var nolasīt ar precizitāti līdz vismaz 0,1.

5.4. Ūdens vanna, kas noregulēta uz 60 ± 1 °C.

6. PROCEDŪRA

6.1. **Kontrolmērījums.**

Lai standartizētu procedūru, reaģentus un iekārtu, veic atkārtotu kontrolmērījumu, kā aprakstīts tālāk tekstā, izmantojot 100 g piena un 18 g tīras saharozes maisījumu vai 110 g vājpiena un 18 g tīras saharozes maisījumu, kas katrs atbilst 40 g iebiezināta piena, kurš satur 45 % saharozes. Aprēķina saharozes saturu, izmantojot 7. punktā norādītās formulas, M, F un P pirmajā formulā aizvietojot attiecīgi ar izmantotā piena daudzumu, šā piena taukus un proteīna saturu, bet otrajā formulā M aizvieto ar 40 g. Iegūtie vidējie lielumi neatšķiras par vairāk nekā 0,2 % no 45 %.

6.2. **Noteikšana.**

6.2.1. 100 ml stikla vārglāzē ar precizitāti līdz 10 mg iesver apmēram 40 g labi samaisīta parauga. Pievieno 50 ml karsta ūdens (80–90 °C) un labi samaisa.

6.2.2. Kvantitatīvi pārnes maisījumu uz 200 ml mērkolbu, vairākas reizes izskalojot vārglāzi ar ūdeni, kura temperatūra ir 60 °C, kamēr kopējais tilpums ir starp 120 un 150 ml. Sajauc un atdzesē līdz apkārtējai temperatūrai.

6.2.3. Pievieno 5 ml atšķaidīta amonjaka šķīduma (4.4.). Atkal sajauc un tad ļauj nostāvēties 15 minūtes.

6.2.4. Neitralizē amonjaku, pievienojot līdzvērtīgu atšķaidītas etiķskābes daudzumu (4.5.). Precīzu ml daudzumu nosaka iepriekš, titrējot amonjaka šķīdumu un izmantojot bromtimolzilo kā indikatoru (4.6.). Samaisa.

6.2.5. Pieliektu kolbu ar rotācijas kustībām viegli maisot, pievieno 12,5 ml cinka acetāta šķīduma (4.1.).

6.2.6. Pievieno 12,5 ml kālija heksacianoferāta (II) šķīduma (4.2.) tāpat kā acetāta šķīdumu.

6.2.7. Panāk kolbas satura temperatūru 20 °C un līdz 200 ml papildina ar ūdeni, kura temperatūra ir 20 °C.

Piezīme:

Jebkurā no līdz šim aprakstītajiem posmiem visas ūdens vai reaģentu pievienošanas jāveic tā, lai izvairītos no gaisa burbuļu rašanās, tādēļ maisīšanu izdara, grozot kolbu, nevis sakratot. Ja pirms ūdens pieliešanas līdz 200 ml novērojami gaisa burbuļi, tos var novērst, īslaicīgi pievienojot kolbu vakuumsūknim un grozot kolbu.

6.2.8. Noslēdz kolbu ar sausu aizbāzni un pamatīgi samaisa, spēcīgi sakratot.

6.2.9. Ļauj dažas minūtes nostāvēties un tad filtrē caur sausu filtrpapīru, izlejot pirmos 25 ml filtrāta.

6.2.10. Tieša polarizācija: nosaka filtrāta optisko griešanu 20 ± 1 °C temperatūrā.

6.2.11. Inversija: iepipetē 40 ml iepriekšminētā iegūtā filtrāta 50 ml mērkolbā. Pievieno 6,0 ml 6,35 M sālsskābes vai 7,5 ml 5,0 M sālsskābes (4.3.).

Uz 15 minūtēm novieto kolbu ūdens peldē 60 °C temperatūrā, nodrošinot to, ka ir iegremdēta visa kolbas izliekuma daļa. Pirmās piecas minūtes ar rotācijas kustību samaisa, un šajā laikā kolbas saturam vajadzētu būt sasniegušam ūdens peldes temperatūru. Atdzesē līdz 20 °C un papildina līdz līmenim ar ūdeni 20 °C temperatūrā. Samaisa un ļauj nostāvēties šajā temperatūrā vienu stundu.

6.2.12. *Invertētā šķīduma polarizācija.*

Nosaka invertētā šķīduma griešanu 20 ± 0,2 °C temperatūrā (tomēr, ja šķidruma temperatūra T polarizācijas caurulītē mērījuma laikā atšķiras par 0,2 °C, jāpiemēro 7.2. punktā minētā temperatūras korekcija).

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. **Aprēķināšanas metode.**

Saharozes saturu aprēķina ar šādu formulu palīdzību:

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

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

kur:

S = saharozes saturs,

M = nosvērtā parauga masa g,

F = parauga tauku saturs procentos,

P = parauga proteīna saturs (N x 6,38) procentos,

V = daudzums ml, kurā paraugu atšķaida pirms filtrācijas,

v = korekcija ml attiecībā uz to nogulšņu daudzumu, kas radušās dzidrināšanas laikā,

D = tiešais polarimetra rādījums (polarizācija pirms inversijas),

I = polarimetra rādījums pēc inversijas,

L = polarimetra caurulītes garums dm,

Q = inversijas koeficients, kura lielumi ir doti tālāk tekstā.

Piezīmes:

a) ja iesver tieši 40 g iebiezināta piena un izmanto polarimetru ar nātrija gaismu, ar leņķa grādiem un 2 dm polarimetra caurulīti 20,0 ± 1 °C temperatūrā, parasta iebiezināta piena saharozes saturu (C = 9) var aprēķināt ar šādu formulu:

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

b) ja invertētā šķīduma polarizāciju mēra temperatūrā, kas nav 20 °C, skaitļus reizina ar:

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

7.2. **Inversijas koeficienta Q lielumi.**

Šādas formulas sniedz precīzus Q lielumus dažādiem gaismas avotiem ar korekcijām attiecībā uz koncentrāciju un temperatūru:

Nātrija gaisma un polarimetrs ar leņķa grādiem:
Q = 0,8825 + 0,0006 (C – 9) – 0,0033 (T – 20).

Dzīvsudraba zaļā gaisma un polarimetrs ar leņķa grādiem:
Q = 1,0392 + 0,0007 (C – 9) – 0,0039 (T – 20).

Balta gaisma ar dihromāta filtru un saharimetru ar starptautiskās cukura skalas grādiem:
Q = 2,549 + 0,0017 (C – 9) – 0,0095 (T – 20).

Iepriekšnorādītajās formulās:

C = kopējo cukuru daudzums procentos invertētajā šķīdumā pēc polarimetra rādījuma,

T = invertētā šķīduma temperatūra polarimetriskajā rādījumā.

1. piezīme:
Kopējo cukuru C daudzumu procentos invertētajā šķīdumā var aprēķināt no tiešā rādījuma un no izmaiņām pēc inversijas parastajā veidā, izmantojot saharozes, laktozes un invertcukura griešanas parastos specifiskos lielumus.

Korekcija – 0,0006 (C – 9) utt. – ir precīza tikai tad, ja C ir apmēram 9; attiecībā uz parastu iebiezinātu pienu šo korekciju var neievērot, jo C ir tuvu 9.

2. piezīme:

Temperatūras izmaiņas par 1 °C uz 20 °C tikai ļoti nedaudz ietekmē tiešo rādījumu, bet izmaiņām par vairāk nekā 0,2 °C pie rādījuma pēc inversijas vajadzīga korekcija. Korekcija – 0,0033 (T – 20) utt. – ir precīza tikai temperatūrā starp 18 un 22 °C.

7.3. **Atkārtojamība.**

Rezultātu starpība divās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 0,3 g saharozes uz 100 g iebiezināta piena.

6. METODE: PIENSKĀBES UN LAKTĀTU SATURA NOTEIKŠANA

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi nosaka pienskābes un laktātu, kas izteikti kā pienskābe, saturu:

— sausajā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī,

— sausajā pilnpienā vai pilnpiena pulverī,

— sausajā pienā ar pazeminātu tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī,

— sausajā vājpienā vai vājpiena pulverī.

2. DEFINĪCIJA

Pienskābes un laktātu daudzums sausā piena veidos: pienskābe un laktāti, kas izteikti kā pienskābe, ko nosaka ar konkrēto metodi.

3. PRINCIPS

Taukus, olbaltumvielas un laktozi vienlaicīgi no parauga šķīduma aizvāc, pievienojot vara sulfātu un kalcija hidroksīdu un tad filtrējot.

Pienskābi un laktātus filtrātā pārvērš acetaldehīdā ar koncentrētu sērskābi vara (II) sulfāta klātbūtnē.

Pienskābes saturu nosaka kolorimetriski, izmantojot p-hidroksidifenilu.

Pienskābes un laktātu saturu izsaka pienskābes mg uz 100 g sausnas.

4. REAĢENTI

4.1. Vara (II) sulfāta šķīdums: izšķīdina 250 g vara (II) sulfāta ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ūdenī un atšķaida ar ūdeni līdz 1 000 ml.

4.2. Kalcija hidroksīda suspensija.

4.2.1. Samaļ 300 g kalcija hidroksīda ($Ca(OH)_2$) masā ar ūdeni, kopā izmantojot 900 ml. Suspensiju pagatavo tieši pirms lietošanas.

4.2.2. Kalcija hidroksīda suspensija: samaļ 300 g kalcija hidroksīda ($Ca(OH)_2$) masā ar ūdeni, kopā izmantojot 1 000 ml. Suspensiju pagatavo tieši pirms lietošanas.

4.3. Sērskābes un vara (II) sulfāta šķīdums: 300 ml sērskābes 95,9–97 % (m/m) H_2SO_4, pievieno 0,5 ml vara (II) sulfāta šķīduma (4.1.).

4.4. p-hidroksidifenila ($C_6H_5C_6H_4OH$) šķīdums: izšķīdina, saskalinot un nedaudz uzsildot 0,75 g p-hidroksidifenila 5 ml nātrija hidroksīda šķīduma ūdenī, kas satur 5 g NaOH uz 100 ml. Mērkolbā atšķaida ar ūdeni līdz 50 ml. Šķīdumu tur brūna stikla pudelē tumšā un vēsā vietā. Neizmanto, ja mainās tā krāsa vai tas kļūst nedzidrs. To var uzglabāt, ilgākais, 72 stundas.

4.5. Pienskābes standartšķīdums: īsi pirms izmantošanas ūdenī izšķīdina 0,1067 g litija laktāta ($CH_3CHOHCOOLi$) un mērkolbā atšķaida līdz 1 000 ml. 1 ml šā šķīduma atbilst 0,1 mg pienskābes.

4.6. Atjaunots standartpiens: iepriekš analizē vairākus augstas kvalitātes sausā piena paraugus. Kalibrācijas līknes sagatavošanai izvēlas paraugu, kam ir viszemākais pienskābes saturs un kas satur ne vairāk kā 30 mg pienskābes uz 100 g beztauku sausnas. Seko 6.2.1. un 6.2.2. punktā aprakstītajai procedūrai.

5. IEKĀRTA

5.1. Analītiskie svari.

5.2. Spektrofotometrs, ar ko var nolasīt viļņu garumu 570 nm.

5.3. Ūdens vanna ar 30 ± 2 °C temperatūru.

5.4. Miezeris un piesta.

5.5. Filtrpapīrs (Šlaihers un Šulls 595, Vatmans 1 vai līdzvērtīgs).

5.6. Mēģenes, *Pyrex* stikla vai līdzvērtīgas (izmēri 25 x 150 mm).

Piezīme:
Visiem stikla traukiem un rīkiem jābūt pilnīgi tīriem un paredzētiem izmantošanai tikai šai noteikšanai. Stikla traukus un rīkus, uz kā ir nosēdumi, pirms mazgāšanas izskalo ar koncentrētu sālsskābi.

6. PROCEDŪRA

6.1. **Tukšais mērījums.**

Tukšo mērījumu veic, ielejot 30 ml ūdens 50 ml graduētā mēģenē un veicot 6.2.4. līdz 6.2.11. (ieskaitot) punktā norādītās darbības. Ja tukšajā mērījumā iegūtie rezultāti attiecībā pret mērījumiem ar ūdeni pārsniedz 20 mg pienskābes uz 100 mg beztauku sausnas ekvivalentu, reaģenti jāpārbauda un netīrie reaģenti vai reaģenti jāaizvieto. Tukšo mērījumu veic vienā laikā ar parauga analīzi.

6.2. **Noteikšana.**

Piezīme:

Jāizvairās no piesārņošanas, jo īpaši ar siekalām un sviedriem.

6.2.1. Parauga beztauku sausnas saturu (a) gramos nosaka, atņemot tauku saturu (kas iegūts ar 4. metodi) un mitruma saturu (kas iegūts ar 2. metodi) no 100.

6.2.2. Iesver $\frac{1000}{(a - 10)}$ g parauga ar precizitāti līdz tuvākajiem 0,1 g. Pievieno šim parauga daudzumam 100 ml ūdens un rūpīgi samaisa.

6.2.3. Iepipetē 5 ml iegūtā šķīduma 50 ml graduētā mēģenē un atšķaida ar ūdeni līdz apmēram 30 ml.

6.2.4. Skalinot lēni pievieno 5 ml vara (II) sulfāta šķīduma (4.1.) un ļauj nostāvēties 10 minūtes.

6.2.5. Skalinot lēni pievieno 5 ml kalcija hidroksīda suspensijas (4.2.1.) vai 10 ml kalcija hidroksīda suspensijas (4.2.2.)

6.2.6. Atšķaida ar ūdeni līdz 50 ml, spēcīgi saskalina, ļauj nostāvēties 10 minūtes, tad filtrē. Pirmos filtrāta pilienus neizmanto.

6.2.7. 1 ml filtrāta iepipetē mēģenē (5.6.).

6.2.8. Ar biretes vai graduētas pipetes palīdzību caurulītē iepilina 6,0 ml sērskābes un vara (II) sulfāta šķīdumu (4.3.). Samaisa.

6.2.9. Karsē verdoša ūdens peldē piecas minūtes. Tekošā ūdenī atdzesē līdz apkārtējai temperatūrai.

6.2.10. Pievieno divus pilienus p-hidroksidifenila reaģenta (4.4.) un spēcīgi saskalina, lai reaģents izdalītos visā šķidrumā. Ieliek mēģeni ūdens peldē 30 ± 2 °C temperatūrā. Atstāj tur 15 minūtes, laiku pa laikam saskalinot.

6.2.11. Ieliek mēģeni verdoša ūdens peldē 90 sekundes. Tekošā ūdenī atdzesē līdz apkārtējai temperatūrai.

6.2.12. Izmēra optisko blīvumu, salīdzinot ar tukšo mērījumu (6.1.) trīs stundās 5.2. punktā norādītajā viļņa garumā.

6.2.13. Ja optiskais blīvums pārsniedz standartlīknes augstāko punktu, testu atkārto, izmantojot atbilstīgu tā filtrāta šķīdumu, kas iegūts saskaņā ar 6.2.6. punktu.

6.3. **Standartlīknes sagatavošana.**

6.3.1. Iepipetē 5 ml atjaunotā piena (4.6.) piecās graduētās 50 ml mēģenēs. Iepilina šajās mēģenēs attiecīgi 0, 1, 2, 3 un 4 ml standartšķīduma (4.5.), lai iegūtu standartu diapazonu, kas atbilst 0, 20, 40, 60 un 80 mg pievienotas pienskābes uz 100 g sausā piena beztauku sausnas.

6.3.2. Atšķaida ar ūdeni līdz apmēram 30 ml un izpilda 6.2.4. līdz 6.2.11. punktā norādīto.

6.3.3. Izmēra standartu optisko blīvumu (6.3.1.), salīdzinot ar tukšo mērījumu (6.1.) 5.2. punktā norādītajā viļņa garumā. Diagrammā iezīmē optiskos blīvumus attiecībā pret 6.3.1. punktā norādītajiem pienskābes daudzumiem, t. i., 0, 20, 40, 60 un 80 mg uz 100 mg beztauku sausnas. Caur šiem punktiem novelk pēc iespējas taisnu līniju un izveido standartlīkni, paralēli pārbīdot šo līniju tā, ka tā iet caur koordinātu sākumpunktu.

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. **Aprēķināšanas metode.**

Pārvērš 6.2.12. vai 6.2.13. punktā izmērīto optisko blīvumu mg pienskābes uz 100 g beztauku sausnas paraugā, ievērojot šo standartlīkni. Šo rezultātu reizina ar atšķaidījuma koeficientu, ja filtrāts ir atšķaidīts atbilstīgi 6.2.13. punktam.

7.2. **Atkārtojamība.**

Rezultātu starpība divās paralēlās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 8 mg pienskābes uz 100 g beztauku sausnas daudzumos līdz 80 mg. Augstākiem lielumiem šī starpība nedrīkst pārsniegt 10 % no zemākā lieluma.

7. METODE: FOSFATĀZES AKTIVITĀTES NOTEIKŠANA (MODIFICĒTA SANDERSA UN ZĀGERA METODE)

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi nosaka fosfatāzes aktivitāti:

— sausajā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī,

— sausajā pilnpienā vai pilnpiena pulverī,

— sausajā pienā ar pazeminātu tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī,

— sausajā vājpienā vai vājpiena pulverī.

2. DEFINĪCIJA

Sausā piena veidu fosfatāzes aktivitāti mēra ar aktīvās sārmainas fosfatāzes daudzumu. To izsaka kā 1 ml atjaunotā piena atbrīvotā fenola daudzumu mg, kas noteikts tālāk tekstā aprakstītajā kārtībā.

3. PRINCIPS

Sausā piena veidu fosfatāzes aktivitāti nosaka pēc fosfatāzes spējas atbrīvot fenolu no dinātrija fenilfosfāta. Atbrīvotā fenola daudzumu noteiktajos apstākļos nosaka, veicot spektrofotometrisku mērījumu krāsai, kas attīstās ar Gibsa (*Gibb*) reaģentu.

4. REAĢENTI

4.1. **Šķīdums A:**

Bārija borāta hidroksīda buferšķīdums: pH 10,6 ± 0,1 20 °C temperatūrā.

Šķīdina 25,0 g bārija hidroksīda ($Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$) ūdenī un atšķaida līdz 500 ml.

Šķīdina 11,0 g borskābes (H_3BO_3) ūdenī un atšķaida līdz 500 ml.

Uzsilda abus šķīdumus līdz 50 °C un sajauc.

Saskalo un atdzesē maisījumu līdz apkārtējai temperatūrai.

Pielāgo pH līdz 10,6 ± 0,1 ar bārija hidroksīda šķīdumu un filtrē.

Šķīdumu uzglabā cieši noslēgtā traukā.

Pirms lietošanas buferšķīdumu atšķaida ar tādu pašu ūdens daudzumu.

4.2. **Šķīdums B:**

Krāsas attīstīšanas buferšķīdums.

Šķīdina 6,0 g nātrija metaborāta ($NaBO_2$) (vai 12,6 g $NaBO_2 \cdot 4H_2O$) un 20,0 g nātrija hlorīda (NaCl) ūdenī un atšķaida ar ūdeni līdz 1 000 ml.

4.3. **Šķīdums C:**

Bufersubstrāta šķīdums.

4.3.1. Šķīdina 0,5 g dinātrija fenilfosfāta ($Na_2C_6H_5PO_4 \cdot 2H_2O$) 4,5 ml šķīduma B (4.2.). Pievieno 2 pilienus šķīduma E (4.5.) un ļauj nostāvēties 30 minūtes. Ekstrahē krāsu ar 2,5 ml butanola (4.10.). Ja vajadzīgs, krāsas ektrahēšanu atkārto. Pēc atdalīšanas butanolu izmet. Šo šķīdumu ledusskapī var uzglabāt vairākas dienas. Pirms lietošanas vēl vienu reizi attīsta un ekstrahē krāsu.

4.3.2. Iepipetē 1 ml šā šķīduma 100 ml mērkolbā un uzpilda līdz vajadzīgajam tilpumam ar šķīdumu A. Buferšķīdumu sagatavo īsi pirms lietošanas.

4.4. **Šķīdums D:**

Nogulsnētājs.

Šķīdina 3,0 g cinka sulfāta ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) un 0,6 g vara sulfāta ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ūdenī un pielej ūdeni līdz 100 ml.

4.5. **Šķīdums E:**

Gibsa reaģents.

Šķīdina 0,040 g 2,6-dibromhinona 1,4 hlorīda ($O \cdot C_6H_2Br_2 \cdot NC1$) 10 ml 96 % etanola. Šķīdumu uzglabā ledusskapī tumša stikla pudelē. Šo reaģentu izmet, kad tas kļuvis bezkrāsains.

4.6. Buferšķīdums krāsas atšķaidīšanai.

Atšķaida 10 ml šķīduma B (4.2.), krāsas attīstīšanas buferšķīdumu, līdz 100 ml ar ūdeni.

4.7. Vara sulfāta šķīdums.

Izšķīdina 0,05 g vara (II) sulfāta ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ūdenī un atšķaida ar ūdeni līdz 100 ml.

4.8. Fenola standartšķīdums.

Mērkolbā ūdenī izšķīdina 0,200 ± 0,001 g tīra fenola un pielej ūdeni līdz 100 ml. Šo šķīdumu ledusskapī var uzglabāt vairākus mēnešus. 10 ml šā šķīduma ar ūdeni atšķaida līdz 100 ml. 1ml šā atšķaidītā šķīduma satur 200 mg fenola, un to var izmantot vēl vairāk atšķaidītu šķīdumu sagatavošanai.

4.9. Vārīts destilēts ūdens.

4.10. N-butanols.

5. IEKĀRTA

5.1. Analītiskie svari.

5.2. Ūdens vanna ar 37 ± 1°C temperatūru, ko kontrolē ar termostatu.

5.3. Spektrofotometrs, ar ko var nolasīt viļņu garumu 610 nm.

5.4. Filtrpapīrs (Šlaihers un Šulls 597, Vatmans 42 vai līdzvērtīgs).

5.5. Verdoša ūdens vanna.

5.6. Alumīnija folija.

6. PROCEDŪRA

Piesardzības pasākumi:

1) Jāizvairās no tiešas saules staru iedarbības.

2) Visiem stikla instrumentiem un traukiem, aizbāžņiem un pārvietošanas materiāliem jābūt pilnīgi tīriem. Ieteicams tos skalot un vārīt ūdenī vai apstrādāt ar tvaiku.

3) Jāizvairās no plastmasas materiālu (piemēram, aizbāžņu) izmantošanas, jo tie var saturēt fenolus.

4) Siekalās ir fosfatāze, tādēļ rūpīgi jāizvairās no piesārņošanas ar siekalām.

6.1. **Analīzes parauga sagatavošana.**

6.1.1. Līdz 0,1 g precizitātei iesver 10 g parauga un izšķīdina 90 ml ūdens. Pulvera šķīdināšanas temperatūra nekādā gadījumā nedrīkst pārsniegt 35 °C.

6.2. **Noteikšana.**

6.2.1. Katrā no divām mēģenēm ielej 1 ml atjaunotā piena, kas sagatavots pēc 6.1.1. punktā dotā apraksta.

6.2.2. Vienu no mēģenēm divas minūtes karsē verdošā ūdenī. Mēģeni un ūdens vannu (5.5.) vai, piemēram, vārglāzi apklāj ar alumīnija foliju (5.6.), lai nodrošinātu to, ka sasilst visa mēģene. Aukstā ūdenī atdzesē līdz apkārtējai temperatūrai. Šo mēģeni izmanto tukšajam mērījumam. Tālāk ar abām mēģenēm veic vienādas darbības.

6.2.3. Pievieno 10 ml šķīduma C (4.3.2.). Sajauc un ievieto mēģeni ūdens peldē ar 37 °C temperatūru (5.2.).

6.2.4. Ūdens peldē to tur 60 minūtes, laiku pa laikam saskalinot.

6.2.5. Mēģenes tūlīt ieliek verdoša ūdens peldē (5.5.) un karsē divas minūtes; aukstā ūdenī atdzesē līdz apkārtējai temperatūrai.

6.2.6. Pievieno 1 ml šķīduma D (4.4.), sajauc un filtrē caur sausu filtrpapīru; pirmos filtrātus neizmanto, kamēr neiegūst dzidru šķidrumu.

6.2.7. Ielej 5 ml katra filtrāta mēģenēs, pievieno 5 ml šķīduma B (4.2.) un 0,1 ml šķīduma E (4.5.). Sajauc.

6.2.8. Istabas temperatūrā, izvairoties no tiešas saules staru iedarbības, 30 minūtes ļauj attīstīties krāsai.

6.2.9. Izmēra parauga optisko blīvumu attiecībā pret tukšo mērījumu 5.3. punktā norādītajā viļņa garumā.

6.2.10. Noteikšanu atkārto, ja šķīduma optiskais blīvums ir augstāks par standartparauga blīvumu ar 20 mg fenola, kas sagatavots atbilstīgi 7. punktam.

Ja šī robeža ir pārsniegta, atšķaida atbilstīgu daudzumu atjaunotā piena saskaņā ar 6.1.1. punktu ar piemērotu šā piena daudzumu, kas uzmanīgi uzvārīts, kā norādīts 6.2.2. punktā, lai dezaktivētu tajā esošo fosfatāzi.

7. STANDARTLĪKNES SAGATAVOŠANA

7.1. Četrās 100 ml mērkolbās iepipetē 1, 3, 5 un 10 ml standartšķīduma, kas atšķaidīts saskaņā ar 4.8. punktu, un pielej ūdeni līdz vajadzīgajam tilpumam. Šie šķīdumi satur attiecīgi 2, 6, 10 un 20 µg fenola uz ml.

7.2. Iepipetē 1 ml ūdens vai 1 ml katra standartšķīduma (7.1.) mēģenēs, lai iegūtu paraugu virkni, kas satur 0 (tukšā mērījuma lielums, izmantojot 1 ml ūdens), 2, 6, 10 un 20 µg fenola.

7.3. Iepipetē katrā mēģenē vienu pēc otras 1 ml vara (II) sulfāta šķīduma (4.7.), 5 ml buferšķīduma krāsas atšķaidīšanai (4.6.), 3 ml ūdens un 0,1 ml šķīduma E (4.5.). Sajauc.

7.4. Atstāj mēģenes 30 minūtes istabas temperatūrā, nepakļaujot tiešai saules staru iedarbībai.

7.5. Izmēra šķīdumu optisko blīvumu katrā mēģenē, salīdzinot ar tukšo mērījumu 5.3. punktā norādītajā viļņa garumā.

7.6. Sagatavo standartlīkni, iezīmējot absorbcijas lielumus pret fenola daudzumiem mg, kā norādīts 7.2. punktā.

8. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

8.1. **Aprēķināšana.**

8.1.1. Atsaucoties uz standartlīkni, skaitļus pārvērš fenola µg, kā noteikts saskaņā ar 6.2.9. punktu.

8.1.2. Aprēķina fosfatāzes aktivitāti, kas izteikta fenola mg uz ml atjaunota piena, atbilstoši šādai formulai:

Fosfatāzes aktivitāte = 2,4 x P,

kur P = fenola daudzums mg saskaņā ar 8.1.1. punktu.

8.1.3. Ja bijusi vajadzība atšķaidīt saskaņā ar 6.2.10. punktu, 8.1.2. punktā iegūto rezultātu reizina ar atšķaidījuma koeficientu.

8.2. **Atkārtojamība.**

Rezultātu starpība divās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 2 mg fenola, ko atbrīvo 1 ml atjaunotā piena.

8. METODE: FOSFATĀZES AKTIVITĀTES NOTEIKŠANA (AŠHĀFENBURGA UN MULLENA METODE)

1. **PIEMĒROŠANAS JOMA**

Ar šo metodi nosaka fosfatāzes aktivitāti:

— sausajā pienā ar augstu tauku saturu vai augsta tauku satura piena pulverī,

— sausajā pilnpienā vai pilnpiena pulverī,

— sausajā pienā ar pazemināt tauku saturu vai pazemināta tauku satura piena pulverī,

— sausajā vājpienā vai vājpiena pulverī.

2. DEFINĪCIJA

Sausā piena veidu fosfatāzes aktivitāti nosaka ar aktīvas sārmainas fosfatāzes daudzumu produktā. To izsaka kā p-nitrofenola daudzumu mikrogramos, ko atbrīvo 1 ml atjaunotā parauga aprakstītajos apstākļos.

3. PRINCIPS

Atjaunoto paraugu atšķaida ar bufersubstrātu pie pH 10,2 un divas stundas inkubē 37 °C temperatūrā. Paraugā esošā sārmainā fosfatāze šajos apstākļos atbrīvos p-nitrofenolu no pievienotā dinātrija p-nitrofenilfosfāta. Atbrīvoto p-nitrofenolu nosaka, tieši salīdzinot ar standartkrāsas stikliem vienkāršā salīdzināšanas ierīcē, izmantojot atstaroto gaismu.

4. REAĢENTI

4.1. Nātrija karbonāta-bikarbonāta buferšķīdums.

Mērkolbā ūdenī izšķīdina 3,5 g bezūdens nātrija karbonāta un 1,5 g nātrija bikarbonāta un atšķaida ar ūdeni līdz 1 000 ml.

4.2. Bufersubstrāts.

Izšķīdina 1,5 g dinātrija p-nitrofenilfosfāta nātrija karbonāta-bikarbonāta buferšķīdumā (4.1.) un mērkolbā atšķaida ar buferšķīdumu līdz 1 000 ml.

Šis šķīdums ir stabils vienu mēnesi, ja to uzglabā ledusskapī (≤ 4 °C), taču šādi uzglabātiem šķīdumiem jāveic krāsas kontrolpārbaude: sk. 6. punktu, 3. piesardzības pasākumu.

4.3. Dzidrināšanas šķīdumi.

4.3.1. Cinka sulfāta šķīdums.

Izšķīdina 30,0 g cinka sulfāta ($ZnSO_4$) ūdenī un mērkolbā ar ūdeni atšķaida līdz 100 ml.

4.3.2. Kālija heksacianoferāta (II) šķīdums.

Izšķīdina 17,2 g kālija heksacianoferāta (II) trihidrāta ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) un mērkolbā ar ūdeni atšķaida līdz 100 ml.

5. IEKĀRTA

5.1. Analītiskie svari.

5.2. Ūdens vanna, kurā ar termostatu uztur 37 ± 1°C temperatūru.

5.3. Salīdzināšanas ierīce ar īpašu disku, kas satur standartkrāsu stiklus, kas ir kalibrēti mg p-nitrofenola uz ml piena, un 2 x 25 mm kivetes.

6. PROCEDŪRA

Piesardzības pasākumi:

1) Pēc lietošanas mēģenes jāiztukšo, jāizskalo ar ūdeni, jāizmazgā ar karstu ūdeni, kam pievienots sārmains mazgāšanas līdzeklis, pēc kā tās rūpīgi jāizmazgā tīrā, karstā krāna ūdenī. Visbeidzot tās jāizskalo ūdenī un pirms lietošanas jāizžāvē.

   Pipetes tūlīt pēc lietošanas rūpīgi jāizskalo tīrā, aukstā krāna ūdenī, pēc tam ar ūdeni jāskalo vēlreiz un pirms lietošanas jānožāvē.

2) Mēģeņu aizbāžņi tūlīt pēc lietošanas rūpīgi jānoskalo karstā krāna ūdenī, pēc tam divas minūtes ūdenī jāvāra.

3) Bufersubstrāta šķīdumam (4.2.) būtu jāpaliek stabilam vismaz vienu mēnesi, ja to uzglabā ledusskapī 4 °C vai zemākā temperatūrā. Uz nestabilitāti norāda dzeltenas krāsas parādīšanās. Lai gan testa rezultātus vienmēr lasa, salīdzinot ar tāda vārīta produkta pārbaudi, kas satur to pašu bufersubstrātu, ieteicams šķīdumu neizmantot, ja tā krāsas rādījums pārsniedz 10 mg, to nolasot salīdzināšanas ierīcē 25 mm kivetē, izmantojot destilētu ūdeni otrā 25 mm kivetē.

4) Katram paraugam izmanto citu pipeti un izvairās no tās piesārņošanas ar siekalām.

5) Testu nekad nepakļauj tiešai saules staru iedarbībai.

6.1. **Parauga sagatavošana.**

Izšķīdina 10 g pulvera 90 ml ūdens. Pulvera šķīdināšanas temperatūra nedrīkst pārsniegt 35 °C.

6.2. **Noteikšana.**

6.2.1. Tīrā un sausā mēģenē iepilina 15 ml bufersubstrāta (4.2.) un 2 ml testējamā atjaunotā parauga (6.1.). Mēģeni aizkorķē, sajauc, apgriežot to otrādi, un ievieto ūdens peldē 37 °C temperatūrā (5.2.).

6.2.2. Tajā pašā laikā ūdens peldē ievieto kontrolmēģeni, kurā ir 15 ml bufersubstrāta un 2 ml vārīta atjaunotā parauga, kas līdzīgs testējamajam paraugam.

6.2.3. Pēc divām stundām abas mēģenes izņem no ūdens peldes, pievieno 0,5 ml cinka sulfāta nogulsnētāja (4.3.1.), atkal aizkorķē, spēcīgi saskalina un ļauj nostāvēties trīs minūtes. Pievieno 0,5 ml kālija heksacianoferāta (II) nogulsnētāja (4.3.2.), rūpīgi sajauc un filtrē caur gofrētu filtru (5.4.) un savāc dzidro filtrātu tīrā mēģenē.

6.2.4. Pārnes filtrātu uz 25 mm kiveti un salīdzināšanas ierīcē salīdzina ar vārītā parauga filtrātu, izmantojot īpašo disku (5.3.).

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. **Aprēķināšana.**

Tiešo rādījumu, kas iegūts saskaņā ar 6.2.4. punktu, reģistrē kā mg p-nitrofenola uz ml parauga vai uz ml atjaunotā parauga.

7.2. **Atkārtojamība.**

Rezultātu starpība divās noteikšanās, ko viena un tā pati persona vienādos apstākļos veic vienlaicīgi vai ātri vienu pēc otras ar vienu un to pašu paraugu, nepārsniedz 2 mg *p*-nitrofenola, ko atbrīvo 1 ml atjaunotā piena.