31992D0608

1992.12.31. *AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK HIVATALOS LAPJA* L 407/29

A TANÁCS HATÁROZATA

(1992. november 14.)

a közvetlen emberi fogyasztásra szánt hőkezelt tej elemzési és vizsgálati módszereinek megállapításáról

(92/608/EGK)

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK TANÁCSA,

tekintettel az Európai Gazdasági Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a hőkezelt tej Közösségen belüli kereskedelmét érintő köz- és állat-egészségügyi problémákról szóló, 1985. augusztus 5-i 85/397/EGK tanácsi irányelvre [1] és különösen annak 11. cikke (6) bekezdésére,

tekintettel a Bizottság javaslatára,

mivel a 85/397/EGK irányelv 11. cikke (6) bekezdésének értelmében a Tanács feladata, hogy a 11. cikk (2) bekezdésében meghatározott ellenőrzésekhez részletes intézkedéseket dolgozzon ki; mivel az ilyen jellegű, a hivatalos hatóság felügyelete és időszakos ellenőrzése alatt álló és hatáskörébe tartozó létesítmények által végzett ellenőrzések célja az, hogy biztosítsa a 85/397/EGK irányelv követelményeinek, különösen annak 3. cikke A. bekezdésének 3. pontjában foglaltak betartását;

mivel az ellenőrzési eljárások megállapítása magában foglalja a végrehajtásukhoz szükséges módszerek meghatározását is;

mivel módszereket kell meghatározni a közvetlen emberi fogyasztásra szánt hőkezelt tej szárazanyag-tartalmának, zsírtartalmának, zsírmentes szárazanyag-tartalmának, összes nitrogéntartalmának, fehérjetartalmának valamint sűrűségének meghatározására;

mivel technikai okok miatt elsősorban elemzési és vizsgálati referenciamódszerek meghatározásával kell biztosítani a 85/397/EGK irányelv 3. cikke A. bekezdésének 3. pontjában előírt követelmények betartatását; mivel különösen az elemzési és vizsgálati rutinmódszerek végrehajtási feltételeit kell megvizsgálni; mivel e vizsgálat eredményétől függően az illetékes hatóságok feladata annak ellenőrzése, hogy a megfelelő rutinmódszereket alkalmazzák-e a fent említett követelmények betartatása érdekében;

mivel a fent említett módszerek meghatározása az eredmények egységes értékelésének biztosítása végett magában foglalja különösen az elemzési eljárások, valamint a pontossági követelmények meghatározását is,

ELFOGADTA EZT A HATÁROZATOT:

1. cikk

A közvetlen emberi fogyasztásra szánt hőkezelt tej elemzésére és vizsgálatára alkalmazott módszerek a következők:

– szárazanyag-tartalom meghatározása,

– zsírtartalom meghatározása,

– zsírmentes szárazanyag-tartalom meghatározása,

– összes nitrogéntartalom meghatározása,

– fehérjetartalom meghatározása,

– sűrűség meghatározása.

[1] HL L 226., 1985.8.24., 13. o. Legutóbb a 89/662/EGK irányelvvel (HL L 395., 1989.12.30., 13. o.) módosított irányelv.

2. cikk

Az elemzési és vizsgálati referenciamódszerek végrehajtását, a pontossági követelmények, valamint a mintavétel meghatározását az I. mellékletben előírt szabályokkal összhangban kell elvégezni.

3. cikk

Az 1. cikkben említett módszereket a II. melléklet tartalmazza.

4. cikk

Ennek a határozatnak a tagállamok a címzettjei.

Kelt Brüsszelben, 1992. november 14-én.

a Tanács részéről

az elnök

J. GUMMER

I. MELLÉKLET

I. ÁLTALÁNOS RENDELKEZÉSEK

1. BEVEZETÉS

Ez a rész a reagensekre, az eszközökre, az eredmények kifejezésére, a pontosságra, valamint a vizsgálati jegyzőkönyvre vonatkozó általános rendelkezéseket tartalmazza. A tagállamok illetékes hatóságainak és a tej mintavételével és a minták elemzésével megbízott ellenőrző laboratóriumoknak be kell tartaniuk ezeket a rendelkezéseket.

2. REAGENSEK

2.1. **Víz**

2.1.1. Amikor víznek oldási, hígítási, illetve mosási célú felhasználásáról történik említés, – eltérő rendelkezés hiányában – mindig desztillált vizet, illetve azonos tisztaságú ioncserélt vizet vagy sótalanított vizet kell használni.

2.1.2. Eltérő rendelkezés hiányában „oldáson", illetve „hígításon", „vízben történő oldást", illetve „vízzel hígítást" kell érteni.

2.2. **Vegyszerek**

Eltérő rendelkezés hiányában valamennyi felhasznált vegyszernek elismert analitikai reagens minőségűnek kell lennie.

3. ESZKÖZÖK

3.1. **Az eszközök jegyzéke**

A különböző referenciamódszerek leírásában megadott eszközök jegyzéke csak azokat a tartozékokat tartalmazza, amelyek speciálisak vagy különleges használatra szolgálnak.

3.2. **Analitikai mérleg**

Az analitikai mérleg olyan mérleg, amely legalább 0,1 mg pontosságú mérésre alkalmas.

4. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

4.1. **Eredmények**

Eltérő rendelkezés hiányában a vizsgálati jegyzőkönyvben (6.) szereplő eredmények két – az adott módszerre megállapított ismételhetőségi követelménynek (5.1.1.) megfelelő – vizsgálatból származó eredmény számtani átlaga. Amennyiben a vizsgálati eredmény az ismételhetőségi követelménynek nem felel meg, a vizsgálatot lehetőség szerint meg kell ismételni vagy az eredményt érvénytelennek kell tekinteni.

4.2. **A százalékérték kiszámítása**

Eltérő rendelkezés hiányában az eredményt tömegszázalékban kell megadni.

5. PONTOSSÁGI KÖVETELMÉNYEK: ISMÉTELHETŐSÉG ÉS ÖSSZEHASONLÍTHATÓSÁG

5.1. Az egyes módszerekhez megadott pontossági követelmények meghatározása az alábbiak szerint történik:

5.1.1. Az *ismételhetőség (r)* akkor teljesül, ha ugyanolyan eljárással, ugyanolyan vizsgálati anyagból, ugyanolyan feltételek mellett (azonos vizsgáló személy, azonos eszközök, azonos laboratórium, és rövid időközön belül) végzett két, egymást követő vizsgálat eredményének abszolút különbsége nem haladja meg a megállapított határértéket.

5.1.2. Az *összehasonlíthatóság (R)* akkor teljesül, ha ugyanolyan eljárással, ugyanolyan vizsgálati anyagból, de eltérő feltételek mellett (különböző vizsgáló személy, különböző eszközök, különböző laboratórium és/vagy eltérő időközön belül) végzett két vizsgálat eredményének abszolút különbsége nem haladja meg a megállapított határértéket.

5.1.3. Eltérő rendelkezés hiányában, az ismételhetőségi és összehasonlíthatósági határértékek az egyes eljárásokban az ISO 5725:1986, 2. kiadásában meghatározott 95 %-os valószínűségre vonatkozó követelményei az irányadók.

5.1.4. A szükséges körvizsgálatokat és tanulmányokat a nemzetközi iránymutatásokkal összhangban kell megtervezni és végrehajtani.

6. VIZSGÁLATI JEGYZŐKÖNYV

A vizsgálati jegyzőkönyvben meg kell adni az elemzésre használt módszert és a kapott eredményeket. Ezen felül részletesen le kell írni minden olyan eljárást, amely az elemzési módszer leírásában nem szerepel, vagy, amely nem kötelező, és bármely egyéb körülményt, amely a kapott eredményeket befolyásolhatta. A vizsgálati jegyzőkönyvnek tartalmaznia kell a minta egyértelmű azonosításához szükséges valamennyi adatot.

II. A HŐKEZELT TEJ MINTAVÉTELE

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezen eljárás a hőkezelt tej mintavételének, szállításának és tárolásának referenciamódszerét határozza meg.

2. ÁLTALÁNOS RENDELKEZÉSEK

A tartályokban stb. található hőkezelt tej mintavételét csak olyan szakképzett személy végezheti, aki a mintavétel elvégzését megelőzően megfelelő oktatásban részesült.

Amennyiben az illetékes hatóságok vagy a vizsgálatokat végző laboratórium ezt helyesnek véli, a mintavételt végző személyzetet utasíthatja a mintavétel technikájára vonatkozóan annak érdekében, hogy a minta az egész tételre nézve reprezentatív és azzal megegyező legyen.

Amennyiben az illetékes hatóságok vagy a vizsgálatokat végző laboratórium ezt helyesnek véli, a mintavételt végző személyzetet utasíthatja a minta megjelölésére vonatkozóan annak érdekében, hogy a minta egyértelműen azonosítható legyen.

3. MINTAVEVŐ ESZKÖZÖK

3.1. **Általános rendelkezések**

A mintavevő eszköznek rozsdamentes acélból vagy egyéb, megfelelő szilárdságú anyagból kell készülnie, és kialakításának meg kell felelnie az elvégezni szándékozott műveletek (keverés, mintázás stb.) céljainak. A tároló-edényben lévő folyadékok keverésére szolgáló keverőt úgy kell méretezni, hogy elősegítse a termék kielégítő keveredését anélkül, hogy a zsír avasodását váltaná ki. A mintavevő nyelének merevnek, hosszának pedig megfelelőnek kell lennie ahhoz, hogy az a tartály bármely szintjéről származó minta kivételét lehetővé tegye. A mintavevő űrtartalma 50 ml-nél nem lehet kisebb.

A mintatároló edénynek és fedelének üvegből, megfelelő fémből vagy műanyagból kell készülnie.

A mintavevő eszközök anyaga (beleértve az edényeket és azok fedelét) nem okozhat olyan elváltozást a mintában, amely befolyással lehet a vizsgálat eredményére. A mintavevő eszközök és a mintatárolók teljes felületének tisztának, száraznak, simának és karcmentesnek, valamint a sarkainak lekerekítettnek kell lennie.

4. MINTAVÉTELI TECHNIKA

4.1. **Általános rendelkezések**

Az elvégzendő vizsgálat jellegétől függetlenül a tejet a mintavétel előtt – kézzel vagy géppel – alaposan el kell keverni.

A mintát közvetlenül a keverést követően kell venni, addig, amíg a tej mozgásban van.

A minta mennyiségének igazodnia kell a vizsgálati követelményekhez. A mintavevő edény térfogatát oly módon kell kiválasztani, hogy azt a minta majdnem teljesen kitöltse, lehetővé téve a minta vizsgálat előtti alapos elkeverését, de kizárva a szállítás során történő kiköpülődést.

4.2. **Mintavétel**

4.2.1. *Arányos minta vétele*

Amennyiben a mintavételre kijelölt tejmennyiség egynél több tartályban található, minden tartályból reprezentatív mennyiséget kell venni és az egyes minták alapjául szolgáló tejmennyiséget jegyzőkönyvezni kell. Amennyiben a tartályokból származó mintákat nem egyenként vizsgálják, a reprezentatív mintákat az egyes tartályok térfogatának arányában kell összekeverni. Az összekeverés után ezekből az egybeöntött részarányos mennyiségekből történik az arányos minta vétele.

4.2.2. *Mintavétel nagy tartályokból – tárolótankok, vasúti és közúti szállítótartályok*

4.2.2.1. Mintavétel előtt a megfelelő eljárással elkeverik a tejet.

A nagy tartályok, tárolótankok, vasúti vagy közúti szállítótartályok tartalmát mechanikus keverővel kell elkeverni (4.2.2.2.).

A keverés mértékének arányban kell lennie a tej állási időtartamával. Az alkalmazott keverési eljárás hatékonyságának minden körülmény között meg kell felelnie az elvégzendő vizsgálat céljainak; a keverés hatékonysága lényeges feltétele azon vizsgálati eredmények összehasonlíthatóságának, amelyeket vagy a szállítmányok különböző részéből, vagy az ürítés során időszakosan, a kifolyócsapon át vett mintákból kapunk. A tej elkeverését akkor kell megfelelőnek tekinteni, ha két, azonos körülmény között vett minta zsírtartalma közti különbség kevesebb, mint 0,1 %.

A fenékürítéses nagy tartályokban előfordulhat, hogy az ürítési nyíláson vett kis mennyiségű tejminta még a teljes tartalom keverése után sem tekinthető reprezentatívnak. A mintákat ezért kívánatos ilyen esetben egy búvónyíláson keresztül venni. Amennyiben a mintát mégis az ürítési nyílásnál veszik, előbb megfelelő mennyiségű tejet le kell engedni ahhoz, hogy a minta a tartály tartalmára nézve reprezentatív legyen.

4.2.2.2. A nagy tartályok, tárolótankok, vasúti vagy közúti szállítótartályok tartalmának keverését az alábbi módszerekkel lehet elvégezni:

– beépített, villanymotor-hajtású mechanikus keverő,

– a búvónyíláson keresztül és a tejbe lógó, villanymotor-hajtású propelleres vagy egyéb keverő,

– vasúti vagy közúti szállítótartályok esetében a tej ürítőszivattyúra erősített és a búvónyílásba vezetett ürítőtömlőn keresztül történő visszakeringetése,

– tiszta, szűrt, sűrített levegővel. Ez esetben a lehető legkisebb légnyomást és levegőmennyiséget kell alkalmazni az avas íz képződésének elkerülése céljából.

4.3. **Fogyasztói kiszerelésű, közvetlen fogyasztásra szánt hőkezelt tej mintavétele**

Fogyasztói kiszerelésű, közvetlen fogyasztásra szánt hőkezelt tejből történő mintavétel esetén a zárt kiszerelési egységet tekintjük mintának. Lehetőség szerint a mintát közvetlenül a feldolgozás után – pasztőrözött tej esetében a feldolgozás napján – a csomagoló gépről vagy a tejfeldolgozó létesítmény hűtőhelyiségéből kell venni.

A mintákat az illetékes hatóságok, illetve a vizsgálatokat végző laboratórium utasításainak betartásával és olyan módon kell venni, hogy számuk valamennyi hőkezelt – pasztőrözött, ultrapasztőrözött és sterilizált – tej esetében megfeleljen az elvégzendő vizsgálatok számának.

5. A MINTA AZONOSÍTÁSA

A mintát az illetékes hatóságok, illetve a vizsgálatokat végző laboratórium utasításainak megfelelően azonosító kóddal kell megjelölni úgy, hogy az könnyen azonosítható legyen.

6. A MINTÁK TARTÓSÍTÁSA, SZÁLLÍTÁSA ÉS TÁROLÁSA

A tejminták tartósításával (vegyszer, hőmérséklet), szállításával és tárolásával kapcsolatos utasításokat, valamint a mintavétel és az elemzés közötti időtartamot – a vizsgált tej típusától és az alkalmazandó vizsgálati módszertől függően – a vizsgálatokat végző laboratórium az illetékes nemzeti hatósággal egyetértésben határozza meg.

Az utasítások közé a következő pontot fel kell venni:

– Szállítás és tárolás alatt – idegen szagok és közvetlen napfény elleni – megelőző óvintézkedéseket kell hozni. Ha a mintákhoz használt tárolóedény átlátszó, a mintát sötét helyen kell tárolni.

II. MELLÉKLET

I. A SZÁRAZANYAG-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezen eljárás a tej szárazanyag-tartalma meghatározásának referenciamódszerét határozza meg.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

„Szárazanyag-tartalom": a meghatározott szárítási eljárás befejezése után visszamaradt anyag tömegszázalékban kifejezett tömege.

3. A MÓDSZER ELVE

A vizet elpárologtatják a mintavételből szárítószekrényben, 102 ± 2 °C hőmérsékleten.

4. ESZKÖZÖK ÉS ÜVEGEDÉNYEK

A szokásos laboratóriumi felszerelés, különösen:

4.1. **Analitikai mérleg**

4.2. **Exszikkátor**, hatékony nedvszívó anyaggal felszerelten (ilyen például a frissen szárított és nedvességjelző indikátorral ellátott szilikagél).

4.3. **Szárítószekrény**, szellőztethető, termosztáttal vezérelt és a munkatér teljes területén 102 ± 2 °C hőmérsékletűre szabályozott.

4.4. **Lapos fenekű edények**, amelyek 20–25 mm magasak, 50–75 mm átmérőjűek, a megfelelő anyagból készültek és jól záró, könnyen eltávolítható fedővel vannak ellátva.

4.5. **Vízfürdő**

4.6. **Homogenizátor**

5. A VIZSGÁLATI MINTA ELŐKÉSZÍTÉSE

A tejmintát 20 °C és 25 °C közötti hőmérsékletre melegítjük. Alaposan elkeverjük, hogy biztosítani tudjuk a zsírtartalom egyenletes eloszlását a minta egészében. A túl heves rázást – a tej felhabzását, illetve a tejzsír kiköpülését megakadályozandó – kerülni kell. Ha nehéznek bizonyul a zsírréteg eloszlatása, a mintát lassan tovább melegítjük 25 °C és 40 °C hőmérséklet közé, és óvatos keverés mellett beleoldjuk az edény falára rakódott összes zsírt. Gyorsan visszahűtjük a mintát 20–25 °C-ra.

Ha szükséges, homogenizátort is alkalmazhatunk a zsír eloszlatásának megkönnyítésére.

Nem várható pontos eredmény, ha a mintában folyékony zsír különült el, vagy a mintában az edény falához tapadt, különálló, szabálytalan alakú fehér részecskék találhatók.

6. VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

6.1. **Az edény előkészítése**

Egy edényt (4.4.) a mellé helyezett fedővel együtt legalább harminc percen át melegítjük a 102 ± 2 °C hőmérsékletre állított szárítószekrényben (4.3.). A fedőt az edényre helyezzük, az edényt pedig azonnal áthelyezzük az exszikkátorba (4.2.), majd hagyjuk, hogy szobahőmérsékletre hűljön vissza (legalább harminc percig), és 0,1 mg pontossággal megmérjük.

6.2. **Bemérés**

Az előkészített vizsgálati mintából (5.) azonnal kimérünk 0,1 mg-os pontossággal 3 és 5 g közötti mennyiséget az előkészített edénybe (6.1.).

6.3. **Meghatározás**

6.3.1. Az edényt forrásban levő vízfürdőbe (4.5.) helyezve és ott 30 percen át melegítve előszárítjuk.

6.3.2. Az edényt a mellé helyezett fedővel együtt két órán keresztül melegítjük a 102 ± 2 °C-ra állított szárítószekrényben (4.3.). A fedőt az edényre helyezzük, és kivesszük a szárítószekrényből.

6.3.3. Az edényt az exszikkátorban (4.2.) hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni (legalább harminc percig), és 0,1 mg pontossággal megmérjük.

6.3.4. Az edényt a mellé helyezett fedővel együtt ismét további egy órán keresztül melegítjük a szárítószekrényben. A fedőt az edényre helyezzük, és kivesszük a szárítószekrényből. Az edényt az exszikkátorban hagyjuk megközelítőleg harminc percen át szobahőmérsékletre hűlni, és 0,1 mg pontossággal megmérjük.

6.3.5. Megismételjük a 6.3.4. pontban leírt műveleteket egészen addig, amíg két egymást követő mérésnél a tömegkülönbség nem haladja meg a 0,5 mg-ot.

7. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

7.1. **Számítás és képlet**

Az összes szárazanyag-tartalmat tömegszázalékban az alábbi módon számítjuk ki:

$$W_T = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

ahol

W_T = az összes szárazanyag-tartalom, g/100 g,

m_0 = az edény és a fedő tömege (lásd 6.1.), g,

m_1 = az edény, a fedő és a vizsgálati anyag tömege (lásd 6.2.), g,

m_2 = az edény, a fedő és a vizsgálati anyag tömege (lásd 6.3.5.) szárítás után, g.

Az eredményt 0,01 tömegszázalékra kerekítve kell megadni.

7.2. **Pontosság**

7.2.1. *Ismételhetőség (r)*: 0,10 g szárazanyag/100 g termék.

7.2.2. *Összehasonlíthatóság (R)*: 0,20 g szárazanyag/100 g termék.

II. **A ZSÍRTARTALOM MEGHATÁROZÁSA**

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezen eljárás a nyerstej, a teljes tej, a részben fölözött tej és a fölözött tej zsírtartalma meghatározásának referenciamódszerét határozza meg.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

„*A tej zsírtartalma*”: valamennyi, a megadott módszerrel meghatározott anyag tömegszázalékban kifejezve.

3. A MÓDSZER ELVE

A vizsgálati minta ammóniás etil-alkoholos oldatát dietil-éterrel és petroléterrel extraháljuk, majd az oldószereket desztillálással vagy párologtatással eltávolítjuk, és a petroléterben oldható extrahált anyag tömegét meghatározzuk. (Az eljárást általában Röse-Gottlieb módszer néven ismerik.)

4. REAGENSEK

Minden felhasznált reagensnek elismert analitikai reagens minőségűnek kell lennie, és a vakpróbában nem hagyhat értékelhető mennyiségű maradékot.

A reagens minőségének ellenőrzését a 6.3. pontban leírt meghatározással kell elvégezni. A beméréshez egy kitárázott, a 6.4. pontban leírtaknak megfelelően előkészített üres lombikot, főzőpoharat vagy fémedényt (5.8.) használunk (lehetővé téve a légköri viszonyokban bekövetkező változások mérési eredményre gyakorolt hatásának korrekcióját). Amennyiben a táratömeg látszólagos változásával korrigált visszamaradó anyag tömege nagyobb, mint 2,5 mg, meghatározzuk a maradékanyagot és az oldószert külön-külön oly módon, hogy elpárologtatunk 100 ml dietil-étert (4.4.) illetve 100 ml petrolétert (4.5.). Bemérés előtt ez esetben is meg kell határozni a táratömeget. Ha a maradék anyag több, mint 2,5 mg, az oldószert desztillálással kell megtisztítani, vagy ki kell cserélni.

4.1. **Ammóniaoldat**, megközelítőleg 25 % (m/m) NH_3 tartalommal. Ennél töményebb ammóniaoldatot is lehet használni (lásd 6.5.1. és A.1.5.1.).

4.2. **Etil-alkohol**, legalább 94 térfogatszázalékos. Metil alkohollal denaturált etil-alkohol is használható, feltéve, hogy a meghatározás eredményét ez bizonyosan nem befolyásolja.

4.3. **Kongóvörös vagy krezolvörös indikátoroldat**

1 g kongóvörös vagy krezolvörös indikátoroldatot oldunk fel, és felhígítjuk vízzel 100 ml-re.

Megjegyzés: Ezen oldat használata lehetővé teszi az oldószer és a vizes fázis közötti határfelület pontosabb megállapítását (lásd 6.5.2.). Használata nem kötelező. Egyéb vízoldható színezékeket is lehet használni, ha az nem befolyásolja a meghatározás eredményét.

4.4. **Dietil-éter**, peroxidmentes, 2 mg/kg antioxidánsnál többet nem tartalmazhat, és ki kell elégítenie a vakpróbánál leírt követelményeket (6.3.).

4.5. **Petroléter**, forrási tartomány 30–60 °C.

4.6. **Oldószerkeverék**, amelyet közvetlenül használat előtt készítenek azonos mennyiségű dietil-éter (4.4.) és petroléter (4.5.) összekeverésével.

5. ESZKÖZÖK ÉS ÜVEGEDÉNYEK

Figyelmeztetés:
Miután a meghatározás illékony, gyúlékony oldószerek használatával jár, csak olyan elektromos berendezés alkalmazható, amely az ilyen oldószerek használatával kapcsolatos előírásoknak megfelel.

A szokásos laboratóriumi eszközök, és az alábbiak:

5.1. **Analitikai mérleg**

5.2. **Centrifuga**, amelyben a zsírextraháló lombikok vagy kémcsövek (5.6.) percenként 500–600-as fordulatszámmal pörgethetők, amely a lombikok és kémcsövek külső végénél 80 és 90 g közötti nehézkedési erőt eredményez.

Megjegyzés: A centrifuga használata nem kötelező (6.5.5.).

5.3. **Desztilláló vagy lepárló készülék**, amely lehetővé teszi az oldószerek és az etil-alkohol kidesztillálását a lombikokból, illetve elpárologtatásukat a főzőpoharakból és edényekből (lásd a 6.5.12. és 6.5.15. pontot) legfeljebb 100 °C hőmérsékleten.

5.4. **Szárítószekrény**, elektromos fűtéssel, teljesen nyitott szellőzőnyílásokkal ellátva, amely a teljes munkatérben 102 ± 2 °C hőmérséklet tartására alkalmas. A szárítószekrényt megfelelő hőmérővel kell ellátni.

5.5. **Vízfürdő**, 35–40 °C hőmérséklet tartására alkalmas.

5.6. **Mojonnier-féle extraháló lombik**

*Megjegyzés: Használható szifon- vagy mosópalack-cs*őszerelvénnyel ellátott extraháló cső is, de ekkor az eljárás – a függelékben meghatározottak szerint – módosul.

A lombikokat (vagy csöveket) csiszolt üvegdugóval vagy jó minőségű parafadugóval vagy egyéb, a használt reagenseknek ellenálló dugóval kell ellátni. A parafadugókat dietil-éterrel kell extrahálni (4.4.), majd legalább 60 °C -os vízben kell tartani legalább 15 percen át, és a vízben kihűlni hagyni, hogy amikor használatukra sor kerül, telítettek legyenek.

5.7. **Állvány**, az extraháló lombikok (vagy csövek) tartására (lásd az 5.6. pontot).

5.8. **Mosópalack**, az oldószerkeverék használatához alkalmas (4.6.). Műanyag mosópalack nem használható.

5.9. **Zsírgyűjtő edény**, például forralólombik (lapos fenekű), vagy Erlenmeyer lombik, 125–250 ml űrtartalommal, illetve fémedények. Amennyiben fémedényeket használunk, azoknak lehetőleg rozsdamentes acélból kell készülniük, lapos fenekűeknek kell lenniük, lehetőség szerint kiöntőcsőrrel, átmérőjüknek 80 és 100 mm közöttinek, magasságuknak megközelítőleg 50 mm-nek kell lenniük.

5.10. **Forrást elősegítő anyagok**, zsírmentes, nem porózus, porcelán vagy szilikonkarbif, illetve üveggyöngyök (fémedényeknél nem kötelező).

5.11. **Mérőhenger**, 5 és 25 ml űrtartalommal.

5.12. **Pipetta**, beosztással, 10 ml űrtartalommal.

5.13. **Fogó**, fémből, lombikok, főzőpoharak és edények megfogására is alkalmas.

6. VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

Megjegyzés: A szifonnal ellátott extrahálócsöves alternatív eljárást (lásd az 5.6. ponthoz fűzött megjegyzést) a függelék tartalmazza.

6.1. **A vizsgálati minta előkészítése**

Beállítjuk a laboratóriumi minta hőmérsékletét 35–40 °C-ra megközelítőleg 15 percen keresztül, szükség esetén vízfürdő segítségével. Alaposan, de óvatosan elkeverjük a mintát az azt tartalmazó edény átforgatásával anélkül, hogy habzást vagy kiköpülődést idéznénk elő, majd gyorsan visszahűtjük körülbelül 20 °C hőmérsékletűre.

6.2. **Bemérés**

Felkeverjük a vizsgálati mintát (6.1.) a palack három-négyszeri átforgatásával, és azonnal kimérünk 1 mg pontossággal közvetlenül vagy visszaméréssel egy extraháló lombikba (5.6.) 10–11 g-ot a vizsgálati mintából.

A bemért vizsgálati mintát a lehető legteljesebb mértékben kell az extraháló lombik alsó (kis) gömbrészébe juttatni.

6.3. **Vakpróba**

A meghatározással egyidejűleg – ugyanazzal az eljárással és ugyanazon vegyszerek felhasználásával – elvégezzük a vakpróbát is 10–11 ml vízzel helyettesítve a vizsgálati anyagot.

A zsírgyűjtő edény látszólagos tömegvesztesége – a kontrolledény tömegének látszólagos veszteségével korrigáltan – nem haladhatja meg a 2,5 mg-ot.

6.4. **A zsírgyűjtő edény előkészítése**

Egy edényt (5.9.) kiszárítunk – néhány forralást elősegítő anyaggal (5.10.) együtt, amelyek az oldószerek későbbiek során történő eltávolításakor az egyenletes, gyenge forrást segítik elő – a szárítószekrényben (5.4.) egy órán keresztül. Az edényt hagyjuk lehűlni – portól védett helyen, de nem exszikkátorban – a mérlegszoba hőmérsékletére, üvegedények esetében legalább egy órán keresztül hagyjuk hűlni, fémedényeknél legalább harminc percen át. Arra kell ügyelni, hogy elkerüljük a hőmérséklet ingadozásait, és a fogó segítségével az edényt a mérlegre helyezzük, majd 0,1 mg pontossággal megmérjük.

6.5. **Meghatározás**

6.5.1. 2 ml-t az ammónia oldatból (4.1.) vagy annak megfelelő mennyiségű erősebb oldatot hozzáadunk a mintához, és alaposan összekeverjük a vizsgálati anyaggal a lombik kis gömbrészében. Az ammónia hozzáadása után késlekedés nélkül elvégezzük a meghatározást.

6.5.2. A mintához 10 ml etil-alkoholt (4.2.) adunk, és óvatosan, de alaposan összekeverjük a folyadékokat úgy, hogy a lombik tartalmát előre és hátra folyatjuk a két gömb között; lehetőleg kerüljük el, hogy a folyadék a palack nyakához túl közel kerüljön. Amennyiben szükséges, két csepp kongóvörös vagy krezolvörös indikátoroldatot is hozzáadhatunk (4.3.).

6.5.3. A mintához 25 ml dietil-étert (4.4.) adunk, lezárjuk a lombikot a vízzel telített parafadugóval vagy a vízzel megnedvesített dugóval (lásd 5.6.), és egy percen keresztül rázzuk óvatosan, de nem túl hevesen – a tartós emulzió kialakulásának elkerülése érdekében – úgy, hogy a lombik vízszintes helyzetben legyen, a kis gömbrész pedig felfelé mutasson. Időközönként a folyadéknak a nagy gömbből a kis gömbbe kell átfolynia. Amennyiben szükséges, a lombikot folyó víz alatt lehűtjük, majd gondosan eltávolítjuk a parafa- vagy üvegdugót, és leöblítjük egy kevés oldószerkeverékkel (4.6.) a mosópalack segítségével (5.8.) úgy, hogy az oldószerkeverék a lombikba csorogjon.

6.5.4. A mintához 25 ml petrolétert (4.5.) adunk, lezárjuk a lombikot a vízzel újratelített parafadugóval vagy a vízzel újra megnedvesített csiszolt üvegdugóval (vízbe mártva), és óvatosan rázzuk a lombikot 30 másodpercen át, a 6.5.3. pontban leírtaknak megfelelően.

6.5.5. A lezárt lombikot egy és öt perc közötti időtartamon keresztül centrifugáljuk percenkénti 500 és 600 közötti fordulatszámon (5.2.). Amennyiben centrifuga nem áll rendelkezésünkre (5.2.), a lezárt lombikot legalább 30 percen át állni hagyjuk a lombikállványon (5.7.), míg a felszínen úszó réteg ki nem tisztul, és világosan el nem különül a vizes fázistól. Szükség esetén folyó víz alatt hűtjük a lombikot.

6.5.6. Óvatosan kihúzzuk a dugót, és az oldószerkeverék (4.6.) néhány milliliterével leöblítjük a dugót és a lombik nyakát, és hagyjuk, hogy az oldószerkeverék a lombikba csorogjon.

Ha a két réteg határfelülete a lombik nyakának alját nem éri el, szükségessé válhat egy kevés víz az üveg nyaka mentén lecsorgatva történő óvatos hozzáadása annak érdekében, hogy kissé felemeljük a réteghatárt, hogy az oldószer leönthető (dekantálható) legyen.

6.5.7. Óvatosan átöntünk a felső fázisból – az extraháló készüléket a kis gömbnél megfogva – annyit, amennyit csak tudunk az előkészített zsírgyűjtő edénybe (6.4.), amelybe lombik használata esetén néhány forrást elősegítő anyagot (5.10.) is tettünk (fémedényeknél nem kötelező), s arra kell ügyelni, hogy a vizes fázisból ne kerüljön anyag a zsírgyűjtő edénybe.

6.5.8. Egy kevés oldószerkeverékkel (4.6.) leöblítjük a készülék nyakának külső oldalát úgy, hogy az öblítésre használt oldat a zsírgyűjtő edénybe jusson, és vigyázunk, hogy az oldószerkeverék ne terjedjen szét az extraháló lombik külső részén.

Szükség esetén az oldószert vagy az oldószer egy részét az edényből desztillálással vagy párologtatással a 6.5.12. pontban leírtak szerint el lehet távolítani.

6.5.9. Az extraháló lombik tartalmához 5 ml etil-alkoholt (4.2.) adunk és az alkohol felhasználásával leöblítjük a lombik nyakának belső oldalát, majd a 6.5.2. pontban leírtak szerint összekeverjük.

6.5.10. A 6.5.3–6.5.8. pontnál leírt műveletek megismétlésével elvégezzük a második extrahálást, de csak 15 ml dietil-étert (4.4.) és 15 ml petrolétert (4.5.) használunk fel; eközben az éterrel leöblítjük az extraháló lombik nyakának belső oldalát. Szükség esetén megemeljük a két réteg határfelületét a lombik nyakának feléig, hogy az oldószer végleges leöntését a lehető legalaposabban el tudjuk végezni.

6.5.11. A 6.5.3–6.5.8. pontnál leírt műveletek megismétlésével elvégezzük a harmadik extrahálást, de csak 15 ml dietil-étert (4.4.) és 15 ml petrolétert (4.5.) használunk fel; eközben az éterrel leöblítjük az extraháló lombik nyakának belső oldalát. Szükség esetén megemeljük a két réteg határfelületét a lombik nyakának feléig, hogy az oldószer végleges leöntését a lehető legalaposabban el tudjuk végezni.

A harmadik extrahálás fölözött tej esetében elhagyható.

6.5.12. Az oldószereket (beleértve az etil-alkoholt is) desztillálással a lehető legtökéletesebben eltávolítjuk a lombikból, vagy párologtatással a főzőpohárból illetve edényből (5.3.). A desztillálás előtt a lombik nyakának belső felületét kevés oldószerkeverékkel (4.6.) leöblítjük.

6.5.13. A zsírgyűjtő edényt egy órán keresztül melegítjük – az oldalára fektetve, hogy elősegítsük az oldószer elpárolgását – a szárítószekrényben (5.4.). Kivesszük a zsírgyűjtő edényt a szárítószekrényből, – portól védett helyen, de nem exszikkátorban – hagyjuk kihűlni a mérlegszoba hőmérsékletére (üvegedények esetében legalább egy órán keresztül hagyjuk hűlni, fémedényeknél legalább harminc percen át), majd 0,1 mg pontossággal megmérjük.

Közvetlenül a mérés előtt nem töröljük meg az edényt. Fogóval a mérlegre helyezzük, és elkerüljük a hőmérséklet-ingadozásokat.

6.5.14. A 6.5.13. pontban leírt műveleteket addig ismételjük meg, amíg a zsírgyűjtő edény egymás után mért, két tömege között az eltérés legkisebb 0,5 mg. A zsírgyűjtő edény és a kivont anyag együttes tömegének a legkisebb mért értéket tekintjük.

6.5.15. 25 ml petrolétert adunk a zsírgyűjtő edényhez annak eldöntésére, hogy a kivont anyag teljes mértékben oldható vagy sem. Enyhén melegítjük és lötyögtetjük az oldószert, amíg a zsír teljesen fel nem oldódik.

Amennyiben a kivont anyag petroléterben teljesen oldható, a zsír tömege a kivont anyagot tartalmazó zsírfogó edény tömege (6.5.14.) és az edény kiindulási tömege (6.4.) közötti különbség lesz.

6.5.16. Amennyiben a kivont anyag nem teljes egészében oldható, vagy felmerül ennek a lehetősége, meleg petroléterrel való ismételt kimosással a zsírt teljes mértékben kivonjuk a lombikból.

Hagyjuk, hogy a nem oldódó anyag maradéka leülepedjen, és a petrolétert óvatosan dekantáljuk az oldhatatlan anyag eltávolítása nélkül. A műveletet háromszor ismételjük meg úgy, hogy az edény nyakát belülről petroléterrel leöblítjük.

Végezetül az edény felső, külső oldalát oldószerkeverékkel leöblítjük úgy, hogy az oldószer ne terjedjen szét az edény külső felületén. Az edényt egy órán keresztül melegítjük a szárítószekrényben a petroléter eltávolítása érdekében, majd hagyjuk hogy a 6.5.13. pontban leírtaknak megfelelően visszahűljön, s a 6.5.14. pontban leírtak szerint megmérjük.

A zsír tömege a 6.5.14. pont szerint meghatározott tömeg és a legutolsó mért tömeg közötti különbség lesz.

7. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

7.1. **Számítás és képlet**

A zsírtartalmat tömegszázalékban az alábbi képlettel számítjuk ki:

$$F = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100$$

ahol

F = a zsírtartalom, g/100 g,

m_0 = a vizsgálati anyag tömege (6.2.), g,

m_1 = a zsírgyűjtő edény és a 6.5.14. pontban meghatározott kivont anyag tömege, g,

m_2 = az előkészített zsírgyűjtő edény, illetve nem oldódó anyag esetén a zsírgyűjtő edény és a 6.5.16. pontban meghatározott oldhatatlan anyag együttes tömege, g,

m_3 = a vakpróbához (6.3.) használt zsírgyűjtő edény tömege és a 6.5.14. pontban meghatározott kivont anyag tömege, g,

m_4 = a vakpróbához (6.3.) használt előkészített zsírgyűjtő edény tömege (lásd a 6.4. pontot), illetve nem oldódó anyag esetén, a zsírgyűjtő edény és a 6.5.16. pontban meghatározott oldhatatlan maradékot is tartalmazó zsírgyűjtő edény együttes tömege, g.

Az eredményeket 0,01 %-os pontossággal kell megadni.

7.2. **Pontosság**

7.2.1. *Ismételhetőség (r)*:

– teljes tejnél és részben fölözött tejnél: 0,02 g zsír/100 g termék,

– fölözött tejnél: 0,01 g zsír/100 g termék.

7.2.2. *Összehasonlíthatóság (R)*:

– teljes tejnél: 0,04 g zsír/100 g termék,

– részben fölözött tejnél: 0,03 g zsír/100 g termék,

– fölözött tejnél: 0,025 g zsír/100 g termék.

III. A ZSÍRMENTES SZÁRAZANYAG-TARTALOM MEGHATÁROZÁSA

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezen eljárás a hőkezelt tej összes zsírmentes szárazanyag-tartalma meghatározásának referenciamódszerét határozza meg.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS ÉS SZÁMÍTÁS

A zsírmentes szárazanyag-tartalmat tömegszázalékban kell kifejezni.

„Zsírmentes szárazanyag-tartalom”:

a szárazanyag-tartalom (lásd az I. szakaszt) és a zsírtartalom (lásd a II. szakaszt) különbsége.

IV. AZ ÖSSZES NITROGÉNTARTALOM MEGHATÁROZÁSA

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezen eljárás a nyerstej, teljes tej, részben fölözött tej és fölözött tej összes nitrogéntartalma meghatározásának referenciamódszerét határozza meg.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

„A tej összes nitrogéntartalma”: a megadott Kjeldahl-módszerrel kapott nitrogéntartalom tömegszázalékban kifejezve.

3. A MÓDSZER ELVE

A bemért tejmintát tömény kénsavval roncsoljuk kálium-szulfát és réz-(II)-szulfát katalizátor jelenlétében, hogy a szerves vegyületekben található nitrogén ammónium-szulfáttá alakuljon át. Az ammóniát nátrium-hidroxid hozzáadásával felszabadítjuk, majd bórsav-oldatban desztilláljuk át és elnyeletjük. Ez utóbbit savmérőoldattal titráljuk.

4. REAGENSEK

4.1. **Kálium-szulfát (K_2SO_4)**.

4.2. **Rézszulfátoldat**. Vízben 5,0 g kristályos réz-(II)-szulfátot ($CuSO_4$, $5H_2O$) oldunk fel és mérőlombikban felhígítjuk 100 ml-re (20 °C-on).

4.3. **Kénsav**, legalább 98,0 % (m/m) töménységű H_2SO_4.

4.4. **Nátrium-hidroxid oldat, 47 % (m/m)-os 704 g NaOH/l (20 °C-on)**.

Megjegyzés: Kisebb töménységű nátrium-hidroxid oldat is használható, például: 40 % (m/m)-ost 572 g/l, 20 °C-on; vagy 30 % (m/m)-ost 399 g/l, 20 °C-on.

4.5. **Bórsav-oldat**. 40 g bórsavat (H_3BO_3) feloldunk egy liter forró vízben, hagyjuk lehűlni, és bórszilikát üvegben tároljuk.

4.6. **Indikátoroldat**. 100 ml etil-alkoholban 0,01 g metilvöröst, 0,02 g brómtimolkéket és 0,06 g brómkrezolzöldet oldunk fel. Az oldatot zárt barna üvegben, hűvös, sötét helyen tároljuk.

4.7. **Mérőoldat**

c (½ H_2SO_4) vagy c (HCl) = 0,1 mol/l töménységű oldat 0,0001 mol/l pontossággal.

4.8. **Nitrogénmentes répacukor**.

4.9. **Ammóniumsó**, tiszta, például ammónium-oxalát $(NH_4)_2C_2O_4H_2O$ vagy ammónium-szulfát $(NH_4)_2SO_4$.

4.10. **Triptofán** ($C_{11}H_{12}N_2O_2$), **fenacetin** ($C_{10}H_7CH_2CONH_2$) vagy lizin mono- vagy di-hidroklorid ($C_6H_{14}N_2O_2{\cdot}HCl$ vagy $C_6H_{14}N_2O_2{\cdot}2HCl$).

Megjegyzés: A 4.9. és 4.10. pontban megadott reagensek tisztasága meg kell hogy haladja az analitikai szintet. Ha hozzáférhető, akkor bizonylattal ellátott ammóniumsó-oldatot (4.9.) kell használni.

5. ESZKÖZÖK ÉS ÜVEGEDÉNYEK

A szokásos laboratóriumi eszközök és az alábbiak:

5.1. **Kjeldahl lombik**, 500 ml űrtartalommal.

5.2. **Megfelelő forrást elősegítő anyag**, például megközelítőleg 5 mm átmérőjű üveggyöngyök, pl. Hengar szemcsék vagy habkő.

5.3. **Büretta vagy automatikus pipetta**, 1,0 ml beméréséhez.

5.4. **Osztott mérőhenger**, üveg, 50, 100 és 250 ml űrtartalommal.

5.5. **Roncsoló készülék**, megközelítőleg 45 °-os szögben tartja a roncsolólombikot, elektromos fűtéssel vagy gázfűtőberendezéssel ellátott, amely a lombikot nem melegíti a tartalmának szintje fölött, és rendelkezik füstelszívó rendszerrel.

5.6. **Desztilláló készülék**, bórszilikát üvegből, amelyre Kjeldahl-lombik (5.1.) szerelhető, és amely hatékony desztilláló feltétből, hozzá kapcsolódó egyenes, belső csöves, hatékony hűtőből és az alsó részén egyenes kifolyócsőből áll; a csatlakozó tömlőknek és az üvegdugóknak szorosan kell tömíteniük, és lehetőleg neopréngumiból kell lenniük.

5.7. **Pipetta vagy automata pipetta**, 0,10 ml kiméréséhez.

5.8. **Erlenmeyer-lombik**, 500 ml űrtartalommal, és 200 ml-nél jelöléssel.

5.9. **Büretta**, 50 ml űrtartalommal, 0,1 ml-es fokbeosztással, hibahatár ± 0,05 ml.

5.10. **Nagyító**, a büretta (5.9.) leolvasásához.

5.11. **pH-mérő**

5.12. **Automata büretta**.

6. VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

6.1. A Kjeldahl lombikba (5.1.) forrást elősegítő anyagot (5.2.) (például három üveggyöngyöt), 15 g kálium-szulfátot (4.1.), 1,0 ml réz-szulfát oldatot (4.2.), megközelítőleg 5 g tejmintát (0,001 g pontossággal bemérve) és 25 ml kénsavat (4.3.) rakunk. A savval lemossuk a lombik nyakán esetleg megmaradt rézszulfát oldatot, kálium-szulfátot, illetve tejet, és óvatosan összekeverjük a lombik tartalmát.

Megjegyzés: Tekintettel arra, hogy a szerves anyag forralás alatt felveszi a kénsavat, 30 ml H_2SO_4-t (4.3.) vegyünk a feltáráshoz 25 ml helyett akkor, ha a tejben a zsírtartalom nagyobb, mint 5,0 % (m/m).Ugyanígy kell eljárni a vakpróbánál is.

6.2. A Kjeldahl lombikokat nagyon óvatosan a roncsoló berendezésen (5.5.) melegítjük úgy, hogy a fekete hab a gömbrészen belül maradjon. Amikor a kezdeti habképződés megszűnt, és bőséges fehér gőz jelenik meg, erőteljesen forraljuk – a savgőz a lombik nyakán félúton kondenzálódik – addig, amíg már nem marad semmilyen fekete részecske, és amíg a feltárt anyag tiszta halvány kékessárga színű nem lesz. Ekkor óvatosan forraljuk tovább legalább másfél órán keresztül. Az alábbi követelményeket figyelembe kell venni:

a) A feltárt anyag kitisztulása nem vehet 1 óránál hosszabb időt igénybe, és a teljes roncsolás ideje legfeljebb 2,5 óra. Ha a feltisztuláshoz egy óránál hosszabb időre van szükség, a teljes roncsolást is annak megfelelően kell meghosszabbítani.

b) A hozzáadott kálium-szulfát elősegíti a roncsolást, mivel emeli a keverék forráspontját. Amennyiben a roncsolási idő végén a kénsav visszamaradó mennyisége kevesebb, mint megközelítőleg 15 ml, az azt jelenti, hogy a túl erős melegítés következtében nitrogénveszteség léphetett fel. Amennyiben a melegítés gázzal történik, a lombikot hőszigetelő anyaggal ellátott lapon helyezzük el, amelyet akkora kör alakú nyílással láttak el, hogy a nyílt gázláng csak a lombiknak azt a részét érje, amely a folyadékszint alatt helyezkedik el (5.5.).

c) Amennyiben elszenesedett részek kerülnek a lombik nyakára, és azt nem lehet az első erőteljes forralási időszakban lecsapódó savval maradéktalanul lemosni a gömbbe – a lemosást a lombik mozgatásával lehet megkönnyíteni –, a lombikot hagyjuk kellő hőmérsékletűre visszahűlni, és lemossuk az anyagot minimális mennyiségű vízzel. Ezután folytatjuk a roncsolást a fentebb leírtak szerint.

6.3. Amikor a Kjeldahl lombik lehűlt, mindegyikhez 300 ml vizet adunk (lásd a megjegyzést), hogy a lombik nyakára tapadt anyagot gondosan a lombikba mossuk, és elkeverjük a tartalmat alaposan, hogy a kivált kristályok biztosan feloldódjanak. Kevés forrást elősegítő anyagot (5.2.) adunk hozzá az egyenletes forrás biztosítására. Ezután minden lombikhoz adunk még 70 ml nátrium-hidroxid oldatot (4.4.) (lásd a megjegyzést) olyképpen, hogy az oldatot a lombik megdöntött nyaka mentén a gömb aljára rétegezzük, hogy a nátrium-hidroxid oldat alsó réteget képezzen; a nyak felső részét nem éri a nátrium-hidroxid oldat.

Megjegyzés: Szükséges, hogy a víz és nátrium-hidroxid oldat együttes térfogata 370 ml-t adjon ki annak érdekében, hogy lehetővé váljon megközelítőleg 150 ml desztillátum összegyűjtése, mielőtt még a késleltetett forrás (lökdösődés) bekövetkezne (6.4.). Vagyis, ha 47 % (m/m) töménységű nátrium-hidroxidnál hígabb oldatot adunk hozzá megfelelően nagyobb mennyiségben, a hozzáadott víz mennyiségét ennek megfelelően kell csökkenteni. Ha például 85 ml 40 % (m/m)-os vagy 125 ml 30 % (m/m)-os nátrium-hidroxidot adunk hozzá, akkor a kiegészítő vízmennyiségnek 285 illetve 245 ml-nek kell lennie.

6.4. Azonnal minden Kjeldahl lombikot egy desztilláló készülékhez (5.6.) csatlakoztatunk. Meggyőződünk arról, hogy a hűtő kivezető csöve éppen belemerüljön az 50 ml térfogatú bórsav-oldatba (4.5.), amelyet 0,20 ml (5–6 csepp) indikátoroldattal (4.6.) együtt egy Erlenmeyer lombik tartalmaz (5.8.). Alaposan minden Kjeldahl lombik tartalmát megkeverjük, majd forraljuk, de először csak enyhén, hogy elkerüljük a túlságosan erős habzást. Amikor már összegyűlt mintegy 100–125 ml desztillátum, lesüllyesztjük az Erlenmeyer lombikot úgy, hogy a hűtő kivezető csöve mintegy 40 mm-rel a 200 ml-es szintjelzés fölött legyen. Addig folytatjuk a desztillálást, amíg a forrás késleltetett nem lesz (lökdösődés), majd ekkor azonnal megszakítjuk a melegítést. Levesszük a Kjeldahl lombikot, kevés vízzel leöblítjük a kondenzátor kifolyócsövének végét, és az öblítőfolyadékot az Erlenmeyer lombikban fogjuk fel. Az alábbi követelményeket figyelembe kell venni:

a) A desztillálást olyan ütemben végezzük, hogy megközelítőleg 150 ml desztillátum összegyűljön, mire a késleltetett forrás (lökdösődés) fellép, ekkor ugyanis minden Erlenmeyer lombik tartalmának térfogata megközelítőleg 200 ml lesz.

b) A hűtést úgy kell szabályozni, hogy a desztillálás ideje alatt egyetlen Erlenmeyer lombik tartalma se melegedjen 25 °C fölé.

6.5. Egy pH-mérő, vagy tetszés szerint automata büretta segítségével minden desztillátumot mérőoldattal titrálunk (4.7.), amíg a pH-érték el nem éri a 4,6 ± 0,1 értéket. Indikátor hozzáadása segít annak megítélésében, hogy a titrálás helyesen folyik-e. A bürettán látható eredményt 0,01 ml pontossággal, nagyító (5.10.) segítségével olvassuk le, hogy lehetőleg elkerüljük a parallaxishibát.

A titrálást el lehet végezni pusztán az indikátorral is. Addig kell titrálni, amíg a desztillátum színe meg nem egyezik a frissen, 150 ml vízhez 50 ml bórsav-oldat és 0,20 ml indikátor hozzáadásával készített, Erlenmeyer lombikban (5.8) tárolt oldatéval.

6.6. Vakpróbát végzünk a 6.1–6.5. pontban leírt műveletekkel. A vakpróbához 5 ml desztillált vizet és – tejminta helyett – 0,1 g répacukrot (4.8.) használunk.

Megjegyzés: A vakpróba titrálása csak igen csekély mennyiségű mérőoldatot igényel (4.7.).

6.7. Az eljárás pontosságát rendszeresen ellenőrizzük a 6.1–6.5. pontban leírt eljárással végzett két visszanyerési vizsgálattal.

6.7.1. Ellenőrizzük, hogy a desztillálás során nem történt-e nitrogénveszteség túlságosan erős melegítés vagy a csatlakozások szivárgása miatt. Ehhez 0,15 g ammónium-oxalát (4.9.) vagy –szulfát vizsgálati anyagot használhatunk, amelybe 0,001 g pontossággal mérünk be 0,1 g répacukorral (4.8.).

A visszanyert nitrogén százalékos értékének 99,0 és 100,0 % között kell lennie.

Ennél alacsonyabb vagy magasabb értékek az eljárás hibáit és/vagy a mérőoldat (4.7.) helytelen töménységét jelzik.

6.7.2. Ellenőrizzük, hogy a roncsolási eljárás elegendő volt-e az összes nitrogén felszabadítására. Ehhez 0,20 g tiszta triptofán, 0,35 g fenacetin vagy 0,20 g lizin hidroklorid (4.10.) szükséges. Valamennyi súlymérést 0,001 g pontossággal kell végezni. A nitrogénnek legalább 98–99 %-át vissza kell nyerni.

7. MUNKAVÉDELMI RENDELKEZÉSEK

Amikor tömény kénsavval és nátrium-hidroxiddal dolgozunk, valamint amikor a Kjeldahl lombikot kezeljük, mindig laboratóriumi köpenyt, biztonsági védőszemüveget és saválló kesztyűt kell viselni.

A desztillálás ideje alatt a Kjeldahl lombikot soha sem lehet felügyelet nélkül hagyni. A lehetséges veszély miatt a desztillálást azonnal abba kell hagyni, amikor a lombik tartalma túl intenzíven forr. Ha két-három percnél hosszabb ideig tartó áramkimaradás történik, a gyűjtőlombikokat eresszük le, hogy a hűtő kivezető csöve ne érjen a folyadékba.

8. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

8.1. **Számítás és képlet**

Az alábbi képlet alkalmazásával számítjuk ki 100 gramm termék grammban kifejezett nitrogéntartalmát (W_N):

$$\frac{W_N = 1{,}40\ (V - V_O)\ c}{m}$$

ahol:

W_N = a nitrogéntartalom, g/100 g,

V = a meghatározáshoz használt savmérőoldat térfogata, ml,

V_O = a vakpróbához használt savmérőoldat térfogata, ml,

c = a savmérőoldat (4.7.) töménysége, mol/liter,

m = a bemért vizsgálati anyag tömege, g.

Az eredményeket 0,001 g/100 g-ra kerekítve kell megadni.

8.2. **Pontosság**

8.2.1. *Ismételhetőség (r)*: 0,007 g/100 g.

8.2.2. *Összehasonlíthatóság (R)*: 0,015 g/100 g.

9. MÓDOSÍTOTT ELJÁRÁSOK

9.1. Blokk-roncsolókészüléket és megfelelő henger alakú roncsolóedényt használhatunk az 5.5. és 5.1. pontban leírt roncsoló készülék és Kjeldahl-lombik helyett. Ez esetben, az esetleges zavarok azonosítása érdekében minden pontot egyedileg kell ellenőrizni (6.7.).

9.2. A lombikok közvetlen melegítése helyett vízgőz-desztillálást (6.4.) alkalmazunk. Amennyiben a készülék nem teszi lehetővé desztillált víz alkalmazását, gondosan ügyelni kell rá, hogy a víz ne tartalmazzon illó savas vagy lúgos alkotórészt.

9.3. A 6.1. pontban megadott 5 g-nyi vizsgálati anyag helyett elegendő 1 g tej használata is (fél-makro Kjeldahl), feltéve, hogy:

– a mineralizációhoz (6.1.) alkalmazott reagensek (H_2SO_4, $CuSO_4$, $5H_2O$, K_2SO_4) mennyiségét is részarányosan (1/5) csökkentjük,

– a roncsolás teljes időtartamát (6.2.) 75 percre csökkentjük,

– a nátrium-hidroxid (6.3.) mennyiségét is azonos arányban (1/5) csökkentjük,

– alacsonyabb töménységben (0,02–0,03 mol/l) használjuk fel a savmérőoldatot (4.7.) is.

Megjegyzés: A fenti lehetőségek közül egynek vagy többnek az alkalmazása csak akkor engedhető meg, ha az ismételhetőségi érték (8.2.1.) és a két pontosság-vizsgálat eredménye (6.7.) megfelel az ezen módszerben megszabott követelményeknek.

V. A FEHÉRJETARTALOM MEGHATÁROZÁSA

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezen eljárás a hőkezelt tej fehérjetartalma meghatározásának referenciamódszerét határozza meg (85/397/EGK irányelv 3. cikke A. bekezdésének (3) pontja.)

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

Fehérjetartalom: a IV. szakasz 3. pontjában ismertetett módszerrel meghatározott és tömegszázalékban kifejezett összes nitrogéntartalom, valamint egy megfelelő tényező (lásd 3.) szorzata.

3. SZÁMÍTÁS

A tej fehérjetartalma tömegszázalékban kifejezve = 6,38 x a tej összes nitrogéntartalma %-ban.

VI. A SŰRŰSÉG MEGHATÁROZÁSA

1. TÁRGY ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ezen eljárás a nyerstej, teljes tej, részben fölözött tej és fölözött tej 20 °C-on érvényes sűrűsége meghatározásának referenciamódszerét határozza meg.

2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

A tej sűrűsége meghatározott térfogatú, 20 °C-os hőmérsékletű tej tömegének és azonos térfogatú 20 °C-os hőmérsékletű víz tömegének hányadosa.

3. A MÓDSZER ELVE

A 20 °C-on érvényes sűrűséget folyadéksűrűség-mérővel határozzuk meg.

4. ESZKÖZÖK ÉS ÜVEGEDÉNYEK

A szokásos laboratóriumi eszközök és az alábbiak:

4.1. **Sűrűségmérő**

A fajlagos gravitációs sűrűségmérő egy olyan műszer, amely egy üvegúszótestből áll, amely alsó fele széles és nehéz. Az üvegúszótest felső végéhez egy párhuzamos tengelyű hengeres üvegcső csatlakozik, amelynek felső vége zárt.

Az üvegúszótestben van a sűrűségmérő műszer tömegének beszabályozásához szükséges nehezék (ez lehet ólom, higany, stb.) Az üvegcsövön egy 1,025-tól 1,035 g/ml-ig terjedő beosztással ellátott skála található.

A sűrűségmérőt piknométeres módszerrel kell ellenőrizni, amihez egy megközelítőleg 100 ml űrtartalmú, precíziós hőmérővel ellátott sűrűségmérőt használunk.

4.2. **Hengerek** (üveg vagy rozsdamentes acél).

A legkisebb méretek a következők lehetnek:

– belső átmérő megközelítőleg 35 mm

– belső magasság megközelítőleg 225 mm.

4.3. **Vízfürdő**, 20 ± 0,1 °C-os.

4.4. **Vízfürdő**, 40 ± 2 °C-os.

4.5. **Hőmérő**, 0,5 °C-os beosztással.

5. VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

5.1. A zsír eloszlatása céljából a mintatartó edény átforgatásával elkeverjük a mintát és vízfürdőbe (4.4.) helyezzük. Hagyjuk, hogy a minta hőmérséklete elérje a 40 °C-ot, és ezt a hőmérsékleti értéket tartjuk fenn öt percen keresztül. Alaposan elkeverjük óvatos forgatással, biztosítva a zsír teljesen egyenletes eloszlását. Visszahűtjük 20 °C-ra a második vízfürdőben (4.3).

5.2. A mintát alaposan elkeverjük a mintatartó edény óvatos átforgatásával úgy, hogy levegő ne kerüljön bele. A tejet beleöntjük a hengerbe (4.2.), amelyet a habzás és buborékképződés elkerülése érdekében megdöntve tartunk. Elegendő mennyiségű tejet kell használni, hogy valamennyi kiömöljön a hengerből, amikor belehelyezzük a sűrűségmérőt (4.1.). Óvatosan beleeresztjük a sűrűségmérőt a tejbe, és engedjük, hogy szabadon lebegjen benne, amíg el nem éri az egyensúlyi helyzetét. A hengert függőlegesen kell tartani. A sűrűségmérőnek a folyadékoszlop közepén kell elhelyezkednie, és egyetlen ponton sem érhet hozzá az oldalfalhoz.

5.3. Mikor a sűrűségmérő elérte egyensúlyi helyzetét, a meniszkusz tetejénél leolvassuk a sűrűségértéket.

5.4. Közvetlenül a sűrűségmérő leolvasása után belehelyezzük a hőmérőt is a mintába (4.5.) és 0,5 °C-os pontossággal leolvassuk a hőmérsékletet. A hőmérséklet nem térhet el a 20 °C-tól ± 2 °C-nál többel.

6. HŐMÉRSÉKLET-KORREKCIÓ

6.1. Amennyiben a tejminta hőmérséklete a sűrűség leolvasásakor nem pontosan 20 °C, a sűrűségre kapott eredményt 20 °C-tól fölfelé Celsius fokonként 0,0002-vel kell megnövelni, míg a 20 °C alatti hőmérsékletnél Celsius fokonként 0,0002-t kell levonni. E korrekció csak akkor érvényes, ha a tej hőmérséklete nem tér el 5 °C-nál nagyobb mértékben a 20 °C-tól.

7. AZ EREDMÉNYEK KIFEJEZÉSE

A minta 20 °C-on érvényes sűrűségének kiszámítási módszerét és képletét a fölözött tej g/ml-ben kifejezve a következő összefüggés adja meg:

$$\frac{1000 \times mv - MG \times mv}{1000 - \frac{MG \times mv}{0{,}92}} = \frac{0{,}92\ mv\ (1000 - MG)}{920 - MG \times mv}$$

ahol

mv = a minta sűrűségmérőn (5.4) leolvasott fajlagos tömege, g/l,

MG = a minta zsírtartalma, g/l,

0,92 = a zsír sűrűsége.

8. PONTOSSÁG

8.1. **Ismételhetőség (r)**: 0,0003 g/ml.

8.2. **Összehasonlíthatóság (R)**: 0,0015 g/ml.

Függelék

(a II. melléklethez)

SZIFON- VAGY MOSÓPALACK-CSŐSZERELVÉNNYEL ELLÁTOTT ZSÍREXTRAHÁLÓ CSŐ HASZNÁLATÁRA VONATKOZÓ ALTERNATÍV ELJÁRÁS

A.1. VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

A.1.1. Bemérés

Lásd a 6.1. pontot

A.1.2. A vizsgálathoz szükséges minta mennyisége

A 6.2. pontban leírtaknak megfelelően kell eljárni, de használni kell a zsírextraháló csöveket (lásd 5.6.).

A bemért vizsgálati mintát a lehető legteljesebb mértékben kell az extraháló cső aljára bevinni.

A.1.3. Vakpróba

Lásd a 6.3. pontot

A.1.4. A zsírgyűjtő edény előkészítése

Lásd a 6.4. pontot

A.1.5. Meghatározás

A.1.5.1. 2 ml ammóniaoldatot (4.1.) vagy annak megfelelő mennyiségű töményebb ammóniaoldatot adunk a cső alján lévő vizsgálati anyaghoz, és az előkezelt vizsgálati mintával alaposan elkeverjük. Az ammónia hozzáadását követően a meghatározást haladéktalanul el kell végezni.

A.1.5.2. 10 ml etil-alkoholt (4.2.) adunk a vizsgálati mintához és óvatosan, de alaposan elkeverjük a cső alján. Szükség esetén adunk hozzá két csepp kongóvörös vagy krezolvörös indikátoroldatot (4.3.).

A.1.5.3. 25 ml dietil-étert (4.4.) adunk a vizsgálati anyaghoz, vízzel telített parafadugó vagy megnedvesített dugó segítségével lezárjuk a csövet (5.6.), és egy percig, ismételten átforgatva erőteljesen rázzuk, de nem túl hevesen (hogy elkerüljük a tartós emulzió kialakulását). Szükség esetén a csövet folyó víz alatt hűtjük, majd óvatosan eltávolítjuk a parafa- vagy üvegdugót, és a mosópalackba (5.8.) öntött kevés oldószerkeverékkel (4.6.) beleöblítjük a csőbe a dugót és a cső nyakát.

A.1.5.4. 25 ml petrolétert (4.5.) adunk hozzá, lezárjuk a csövet az ismételten megnedvesített (vízbe mártott) parafa- vagy üvegdugóval, és a csövet 30 másodpercig óvatosan, az A.1.5.3. pontban leírtak szerint rázzuk.

A.1.5.5. A lezárt csövet egy és öt perc közötti ideig 500 és 600 közötti percenkénti fordulatszámon (5.2.) centrifugáljuk. Amennyiben centrifuga nem áll rendelkezésre (lásd az 5.2. ponthoz fűzött megjegyzést), a lezárt csövet legalább 30 percig állni hagyjuk az állványon (5.7.), míg a felül keletkező réteg ki nem tisztul, és élesen el nem válik a vizes fázistól. Szükség esetén hűtsük a csövet folyó víz alatt.

A.1.5.6. Óvatosan kivesszük a parafa- vagy üvegdugót, és a mosópalackba öntött kevés oldószerkeverékkel beleöblítjük a csőbe a dugót és a cső nyakát.

A.1.5.7. A szifon- vagy mosópalack-csőszerelvényt az extrahálócsőbe helyezzük és a csatlakozás belső, hosszú részét annyira lenyomjuk, hogy a bemeneti nyílás a két réteg választóvonala fölött megközelítőleg 3 mm-re legyen. A csatlakozás belső részének az extraháló cső tengelyével párhuzamosnak kell lennie.

Gondosan átvisszük a felső réteget a csőből az előre elkészített zsírgyűjtő edénybe (6.4.), amelybe lombik használata esetén néhány forrást elősegítő anyagot (5.10.) is teszünk (fémedényeknél nem kötelező), vigyázva, nehogy a vizes fázisból is anyag kerüljön be. Egy kevés oldószerkeverékkel leöblítjük a csőszerelvény kimeneti nyílását úgy, hogy az öblítő folyadék a zsírgyűjtő edénybe kerüljön.

A.1.5.8. Meglazítjuk a csőszerelvényt a cső nyakánál, kicsit megemeljük, és a hosszú, belső részének az alját kevés oldószerkeverékkel leöblítjük. Visszaeresztjük, felhelyezzük a toldalékot, és az öblítőfolyadékot átvisszük a zsírgyűjtő edénybe.

Leöblítjük kevés oldószerkeverékkel a csőszerelvény kimeneti nyílását is, és a folyadékot az edénybe gyűjtjük. Szükség esetén az oldószert vagy annak egy részét az edényből desztillálással vagy párologtatással a 6.5.12. pontban leírtaknak megfelelően el lehet távolítani.

A.1.5.9. Ismételten meglazítjuk a csőszerelvényt a cső nyakánál, és kissé megemelve 5 ml etil-alkoholt adunk a cső tartalmához, leöblítjük a csőszerelvény hosszú, belső részét az etilalkohollal, és elkeverjük az A 1.5.2. pontban leírtaknak megfelelően.

A.1.5.10. Elvégezzük a *második extrahálást* az A.1.5.3. és A.1.5.8. pontok közötti műveletsor megismétlésével, de csak 15 ml dietil-étert (4.4.) és 15 ml petrolétert (4.5.) használjunk. Az előző extrahálás után, a csőből való kivételkor az éterrel leöblítjük a csőszerelvény hosszú, belső részét.

A.1.5.11. Elvégezzük a *harmadik extrahálást* az A.1.5.3. és A.1.5.8. pontok közötti műveletsor megismétlésével, de csak 15 ml dietil-étert és 15 ml petrolétert használjunk, és leöblítjük a csőszerelvény hosszú, belső részét az A.1.5.10. pontban leírtak szerint.

A harmadik extrahálás fölözött tej esetében elhagyható.

A.1.5.12. A következő lépéseket a 6.5.12–6.5.16. pontban leírt műveletsor szerint végezzük.