31992D0608

31.12.1992. *EIROPAS KOPIENU OFICIĀLAIS VĒSTNESIS* L 407/29

PADOMES LĒMUMS

(1992. gada 14. novembris),

ar ko nosaka tiešam patēriņam cilvēku pārtikā paredzēta termiski apstrādāta piena analīzes un pārbaudes metodes

(92/608/EEK)

EIROPAS KOPIENU PADOME,

ņemot vērā Eiropas Ekonomikas kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1985. gada 5. augusta Direktīvu 85/397/EEK par veselības un dzīvnieku veselības problēmām, kas ietekmē Kopienas iekšējo termiski apstrādāta piena tirgu [1], un jo īpaši tās 11. panta 6. punktu,

ņemot vērā Komisijas priekšlikumu,

tā kā, ievērojot Direktīvas 85/397/EEK 11. panta 6. punktu, Padomei jānosaka sīki izstrādāti pasākumi, lai īstenotu 11. panta 2. punktā paredzētās pārbaudes; tā kā mērķis šādām pārbaudēm, ko veic uzņēmumi, kuri atrodas valsts dienesta uzraudzībā un atbildībā un kurus valsts dienests regulāri pārbauda, ir nodrošināt atbilstību Direktīvas 85/397/EEK prasībām un jo īpaši prasībām, kas paredzētas tās 3. panta A daļas 3. punktā;

tā kā pārbaužu procedūru noteikšana iekļauj tādu metožu noteikšanu, kas jāizmanto pārbaužu veikšanā;

tā kā jāparedz metodes, ar kurām nosaka kopējo sausnas saturu, tauku saturu, beztauku sausnas saturu, kopējo slāpekļa saturu, proteīna saturu un blīvumu termiski apstrādātam pienam, kas paredzēts tiešam patēriņam cilvēku pārtikā;

tā kā tehnisku iemeslu dēļ sākotnējā prasība ir noteikt analīzes un pārbaudes standartmetodes, lai nodrošinātu Direktīvas 85/397/EEK 3. panta A daļas 3. punktā paredzēto standartu ievērošanu; tā kā īpaši svarīgi ir izpētīt apstākļus, kādos izmanto parastās analīzes un pārbaudes metodes; tā kā līdz minētā pētījuma pabeigšanai kompetentajām iestādēm jāraugās, lai tiktu izmantotas atbilstības parastās metodes, tādējādi nodrošinot minēto standartu ievērošanu;

tā kā iepriekšminēto metožu noteikšana jo īpaši iekļauj analīzes procedūru noteikšanu un ticamības kritēriju noteikšanu, lai nodrošinātu rezultātu vienādu interpretāciju,

IR PIEŅĒMUSI ŠO LĒMUMU.

1. pants

Termiski apstrādāta piena analīzes un pārbaudes metodes ir šādas:

— kopējā sausnas satura noteikšana,

— tauku satura noteikšana,

— kopējā beztauku sausnas satura noteikšana,

— kopējā slāpekļa satura noteikšana,

— proteīna satura noteikšana,

— blīvuma noteikšana.

[1] OV L 226, 24.8.1985., 13. lpp., kurā jaunākie grozījumi izdarīti ar Direktīvu 89/662/EEK (OV L 395, 30.12.1989., 13. lpp.).

2. pants

Analīzes un pārbaudes standartmetožu izmantošana, ticamības kritēriju noteikšana un paraugu atlase jāveic saskaņā ar I pielikumā izklāstītajiem noteikumiem.

3. pants

1. panta minētās metodes ir izklāstītas II pielikumā.

4. pants

Šis lēmums ir adresēts dalībvalstīm.

Briselē, 1992. gada 14. novembrī

Padomes vārdā—
priekšsēdētājs
J. GUMMER

I PIELIKUMS

I. VISPĀRĪGI NOTEIKUMI

1. IEVADS

Pielikumā ir izklāstīti vispārīgi noteikumi attiecībā uz reaģentiem, iekārtām, rezultātu izteikšanu, precizitāti un pārbaudes protokoliem. Šie noteikumi jāievēro dalībvalstu kompetentajām iestādēm un izpildes laboratorijām, kas nodarbojas ar paraugu ņemšanu un piena pārbaudi.

2. REAĢENTI

2.1. **Ūdens**

2.1.1. Ja tiek minēts ūdens šķīdināšanai, atšķaidīšanai vai skalošanai, lieto destilētu ūdeni, dejonizētu ūdeni vai demineralizētu ūdeni ar vismaz līdzvērtīgu tīrības pakāpi, ja nav norādīts citādi.

2.1.2. Ja ir atsauce uz "šķīdumu" vai "atšķaidījumu" bez sīkākas norādes, tas nozīme "šķīdumu ūdenī" vai "atšķaidīšanu ar ūdeni".

2.2. **Ķīmiskas vielas**

Visu izmantoto ķīmisko vielu kvalitāte ir atzīta par piemērotu analīžu veikšanai, izņemot gadījumus, kad ir norādīts citādi.

3. IEKĀRTAS

3.1. **Iekārtu saraksti**

Dažādajās standartmetodēs norādītie iekārtu saraksti iekļauj tikai īpaša pielietojuma iekārtas un iekārtas ar konkrētām specifikācijām.

3.2. **Analītiskie svari**

"Analītiskie svari" ir svari, ar kuriem iespējams veikt svēršanu ar precizitāti līdz 0,1 mg.

4. REZULTĀTU IZKLĀSTS

4.1. **Rezultāti**

Ja nav norādīts citādi, pārbaudes protokolā (6.) izklāstītie rezultāti ir divu tādu pārbaužu rezultātu vidējā aritmētiskā vērtība, kuras atbilst atkārtojamības kritērijam (5.1.1.), kas noteikts attiecīgajai metodei. Ja atkārtojamības kritērijs nav izpildīts, pārbaude ir jāatkārto, ja tas ir iespējams, vai arī rezultātu atzīst par nederīgu.

4.2. **Procentuālās izteiksmes aprēķināšana**

Ja nav noteikts citādi, rezultātu aprēķina parauga masas procentos.

5. PRECIZITĀTES KRITĒRIJI: ATKĀRTOJAMĪBA UN REPRODUCĒJAMĪBA

5.1. Precizitātes kritērijus, kas noteikti katrai metodei, definē šādi

5.1.1. *Atkārtojamība (r)* ir vērtība, zem kuras atrodas absolūtā starpība starp diviem testa rezultātiem, kas iegūti, izmantojot vienādu procedūru un identisku pārbaudes materiālu vienādos apstākļos (tas pats laborants, tā pati iekārta, tā pati laboratorija un īss laika intervāls).

5.1.2. *Reproducējamība (R)* ir vērtība, zem kuras atrodas absolūtā starpība starp diviem testa rezultātiem, kas iegūti, izmantojot vienādu procedūru un identisku pārbaudes materiālu dažādos apstākļos (cits laborants, cita iekārta, cita laboratorija un/vai atšķirīgs laika intervāls).

5.1.3. Ja katrai atsevišķajai metodei nav norādīts citādi, katras procedūras atkārtojamības un reproducējamības kritēriju vērtības atrodas 95 % ticamības intervālu robežās, kā definēts *ISO 5725: 2'ed. 1986*.

5.1.4. Vajadzīgie kopīgie eksperimenti un pētījumi jāplāno un jāveic saskaņā ar starptautiskajām pamatnostādnēm.

6. PĀRBAUDES PROTOKOLS

Pārbaudes protokolā norāda analīzē izmantoto metodi un iegūtos rezultātus. Turklāt tajā izklāsta visas lietotās procedūras detaļas, kas nav norādītas analīzes metodē vai ko izmanto pēc izvēles, kā arī visus citus apstākļus, kas varētu būt ietekmējuši iegūtos rezultātus. Pārbaudes protokolā sniedz visu informāciju, kas vajadzīga, lai pilnībā identificētu paraugu.

II. TERMISKI APSTRĀDĀTA PIENA PARAUGU ŅEMŠANA

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN NOZARE

Šī procedūra precizē termiski apstrādāta piena paraugu ņemšanas, paraugu transportēšanas un uzglabāšanas standartmetodi.

2. VISPĀRĪGI NOTEIKUMI

Termiski apstrādāta piena paraugu ņemšanu no tvertnēm u.c. veic kvalificēts darbinieks, kas pirms šīs nodarbes uzsākšanas ir piemēroti apmācīts.

Ja kompetentās iestādes vai pārbaudes laboratorijas to uzskata par lietderīgu, tās iepazīstina paraugu ņēmējus ar paraugu ņemšanas paņēmieniem, lai nodrošinātu to, ka paraugs ir reprezentatīvs un atbilst visai partijai.

Ja kompetentās iestādes vai pārbaudes laboratorijas to uzskata par lietderīgu, tās apmāca paraugu ņēmējus, kā marķēt paraugu, lai nodrošinātu parauga nepārprotamu identificēšanu.

3. PARAUGU ŅEMŠANAS IEKĀRTA

3.1. **Vispārīgi noteikumi**

Paraugu ņemšanas iekārtas izgatavo no nerūsējoša tērauda vai cita piemērota atbilstīgas izturības materiāla, un to konstrukcija atbilst paredzētajam mērķim (sajaukšana, paraugu ņemšana u.tml.). To lāpstiņu un kratītāju virsmas laukumam, ko izmanto šķidrumu sajaukšanai tvertnēs, jābūt pietiekamam, lai produktu atbilstīgi sajauktu, bet tiem nav jāizraisa sasmakuma veidošanās. Kausam jābūt ar cietu kātu, kura garums ir pietiekams, lai varētu paņemt paraugu no jebkura tvertnes līmeņa. Kausa tilpums nav mazāks par 50 mililitriem.

Paraugu traukiem un vākiem jābūt no stikla, piemērota metāla vai plastmasas.

Materiāli, no kā izgatavotas paraugu ņemšanas iekārtas (tajā skaitā trauki un vāki), nedrīkst radīt izmaiņas paraugā, kas varētu ietekmēt pārbaužu rezultātus. Visas paraugu ņemšanas iekārtas un paraugu trauki ir tīri un sausi, ar gludu virsmu, bez plaisām, ar noapaļotiem stūriem.

4. PARAUGU ŅEMŠANAS METODE

4.1. **Vispārīgi noteikumi**

Neatkarīgi no veicamajām pārbaudēm pienu pirms paraugu ņemšanas kārtīgi sajauc manuālā vai mehāniskā veidā.

Paraugu ņem tūlīt pēc sajaukšanas, kamēr piens vēl nav nostājies.

Parauga daudzums atbilst pārbaudes prasībām. Izmantoto paraugu trauku tilpums ir tāds, ka tie gandrīz pilnībā ir piepildīti ar paraugu, tādējādi ļaujot saturam pienācīgi sajaukties pirms pārbaudes, bet nepieļaujot sakulšanos sviestā transportēšanas laikā.

4.2. **Manuāla paraugu ņemšana**

4.2.1. *Paraugu ņemšana no piena vairākās tvertnēs*

Ja paraugam ņemamā piena daudzums ir atrodams vairāk nekā vienā tvertnē, ņem reprezentatīvu daudzumu no katras tvertnes un atzīmē to piena daudzumu, uz ko attiecas katrs paraugs. Ja no katras tvertnes ņemtie paraugi nav jāpārbauda atsevišķi, šo reprezentatīvo daudzumu daļas sajauc tādos daudzumos, kas ir proporcionāli daudzumam tvertnē, no kuras ņēma katru paraugu. Pēc sajaukšanas ņem paraugu (paraugus) no šiem piena proporcionālajiem daudzumiem.

4.2.2. *Paraugu ņemšana no lielām tvertnēm – uzglabāšanas tvertnes, cisternvagoni un autocisternas*

4.2.2.1. Pirms paraugu ņemšanas pienu sajauc, izmantojot atbilstīgu procedūru.

Lai sajauktu lielu tvertņu vai uzglabāšanas tvertņu, cisternvagonu vai autocisternu saturu, ieteicama mehāniska kratīšana (4.2.2.2.).

Sajaukšanas apmērs ir atkarīgs no tā, cik ilgi piens ir nostāvējis. Norāda konkrētos apstākļos piemērotas sajaukšanas procedūras efektivitāti, kas atbilst paredzētās analīzes mērķiem; sajaukšanas efektivitātes kritērijs jo īpaši ietekmē to analīzes rezultātu līdzīgumu, kas iegūti, pārbaudot paraugus, kuri ņemti vai nu no sūtījumu dažādām daļām vai arī ar starplaikiem no cisternas izplūdes atveres izkraušanas laikā. Piena (neapstrādāts piens vai pilnpiens) sajaukšanas procedūru uzskata par efektīvu, ja šādos apstākļos ņemtu divu paraugu tauku satura atšķirība ir mazāka par 0,1 %.

Lielā tvertnē, kurai izplūdes atvere ir apakšā, izkraušanas laikā var būt neliels daudzums piena, kas nereprezentē visu saturu pat pēc sajaukšanas. Tāpēc paraugus ir vēlams ņemt no lūkas. Ja paraugus ņem no atveres, jānotecina pietiekams daudzums piena, lai nodrošinātu to, ka paraugi reprezentē visu pienu.

4.2.2.2. Lielu tvertņu vai uzglabāšanas tvertņu, cisternvagonu vai autocisternu satura sajaukšanu var veikt

— ar mehānisku kratītāju, kas iebūvēts tvertnēs un ko darbina ar elektromotoru;

— ar maisītāju vai kratītāju, ko darbina ar elektromotoru un novieto virs lūkas, iegremdējot kratītāju pienā;

— cisternvagonos vai autocisternās – ar piena recirkulāciju pa pārneses šļūteni, kas piestiprināta cisternas izkraušanas sūkņiem un iegremdēta caur lūku;

— ar tīru filtrētu saspiestu gaisu. Tādā gadījumā jāizmanto minimāls gaisa spiediens un tilpums, lai nepieļautu sasmakuma veidošanos.

4.3. **Paraugu ņemšana no tiešam patēriņam paredzēta piena, kas fasēts mazumtirdzniecībai**

Paraugus no termiski apstrādāta piena, kas paredzēts tiešam patēriņam un fasēts mazumtirdzniecībai, ņem no neskartiem un neatvērtiem fasējumiem. Ja iespējams, paraugi jāņem tieši no apstrādes uzņēmuma fasēšanas iekārtas vai dzesēšanas telpas, un to dara, cik iespējams ātri pēc apstrādes (pasterizētam pienam – apstrādes dienā).

Paraugus ņem no visu veidu termiski apstrādāta piena (pasterizēts, ultrasterilizēts un sterilizēts piens) tādā skaitā, kas atbilst veicamo pārbaužu skaitam un saskaņā ar pārbaudes laboratorijas vai citas kompetentas iestādes instrukcijām.

5. PARAUGA IDENTIFIKĀCIJA

Paraugu marķē ar identifikācijas kodu, lai to var tūlīt identificēt, izmantojot pārbaudes laboratorijas vai kompetentās iestādes instrukcijas.

6. PARAUGU APSTRĀDE, TRANSPORTĒŠANA UN UZGLABĀŠANA

Saskaņā ar kompetento valsts iestādi pārbaudes laboratorija izstrādā instrukcijas, kas attiecas uz paraugu apstrādi (ķīmiskā un termiskā), transportēšanu, uzglabāšanu un laikposmu no parauga ņemšanas līdz piena analīzei, ņemot vērā piena veidu un izmantojamo analīzes veidu.

Instrukcijā iekļauj šādu punktu:

— transportēšanas un uzglabāšanas laikā paraugi jāsargā no kaitīgiem aromātiem un tiešas saules gaismas. Ja paraugus ievieto caurspīdīgā traukā, šo trauku uzglabā tumšā telpā.

II PIELIKUMS

I. KOPĒJĀ SAUSNAS SATURA NOTEIKŠANA

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN NOZARE

Šī procedūra precizē piena kopējā sausnas satura noteikšanas standartmetodi.

2. DEFINĪCIJA

Kopējais sausnas saturs: masa, ko iegūst pēc īpašas žāvēšanas procedūras un ko izsaka masas procentos.

3. PRINCIPS

Ūdens iztvaicēšana no analizējamā parauga žāvēšanas skapī 102 ± 2 °C temperatūrā.

4. IEKĀRTAS UN STIKLA TRAUKI

Parastais laboratoriju aprīkojums un jo īpaši turpmāk minētais aprīkojums.

4.1. **Analītiskie svari**

4.2. **Eksikators** ar efektīvu žāvējošu vielu (piemēram, svaigi žāvēts silikagels ar ūdens satura rādītāju).

4.3. **Žāvēšanas skapis** ar ventilāciju, kurā temperatūru 102 ± 2 °C robežās regulē visā darba vietā.

4.4. **Plakandibena trauki**, kuru augstums ir 20 līdz 25 mm, diametrs 50 līdz 75 mm, izgatavoti no piemērota materiāla ar labi piegulošiem un viegli noņemamiem vākiem.

4.5. **Verdoša ūdens vanna**

4.6. **Homogenizētājs**

5. ANALIZĒJAMĀ PARAUGA SAGATAVOŠANA

Piena parauga temperatūrai jābūt no 20 līdz 25 °C. Paraugu rūpīgi sajauc, lai visā paraugā būtu vienmērīgs tauku sadalījums. Jāizvairās no parauga spēcīgas sakratīšanas, lai piens nesāktu putot un tauki nesakultos. Ja ir grūti iemaisīt krējuma kārtiņu, pienu lēnām uzsilda līdz 25 – 40 °C un, rūpīgi sajaucot, iemaisa krējumu, kas pielipis pie trauka. Paraugu ātri atdzesē līdz 20 – 25 °C.

Ja vēlas, tauku iemaisīšanai var izmantot homogenizētāju.

Pārbaudē nevar iegūt pareizus rezultātus, ja paraugs atsevišķi satur šķidrus taukus vai atsevišķas saredzamas neregulāras formas baltas daļiņas, kas pielipušas trauka sieniņām.

6. PROCEDŪRA

6.1. **Trauka sagatavošana**

Vismaz 30 minūtes trauku (4.4) karsē žāvēšanas skapī (4.3.) 102 ± 2 °C temperatūrā, blakus novietojot trauka vāku. Traukam uzliek vāku un tūlīt ieliek eksikatorā (4.2.), ļauj atdzist līdz istabas temperatūrai (t.i., vismaz 30 minūtes) un nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg.

6.2. **Analizējamais paraugs**

Sagatavotajā traukā (6.1.) ar precizitāti līdz 0,1 mg tūlīt iesver 3 līdz 5 gramus sagatavotā analizējamā parauga (5.).

6.3. **Noteikšana**

6.3.1. 30 minūtes veic trauka priekšžāvēšanu, karsējot to verdoša ūdens vannā (4.5.).

6.3.2. Divas stundas trauku karsē žāvēšanas skapī (4.3.) 102 ± 2 °C temperatūrā, blakus novietojot vāku. Traukam uzliek vāku un izņem no žāvēšanas skapja.

6.3.3. Eksikatorā (4.2.) ļauj atdzist līdz istabas temperatūrai (, t.i., vismaz 30 minūtes) un nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg.

6.3.4. Trauku vēlreiz vienu stundu karsē žāvēšanas skapī, blakus novietojot vāku. Traukam uzliek vāku un izņem no žāvēšanas skapja. Eksikatorā ļauj atdzist aptuveni 30 minūtes un nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg.

6.3.5. Atkārto 6.3.4. punktā minētās darbības, līdz masas starpība, ko nosaka pēc divām secīgām svēršanām, nepārsniedz 0,5 mg. Reģistrē viszemāko masu.

7. REZULTĀTU APRAKSTĪŠANA

7.1. **Aprēķināšana un formula**

Kopējo sausnas saturu aprēķina masas procentos, izmantojot šādu formulu:

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

kur

W_T = kopējais sausnas saturs gramos uz 100 g,

m_0 = trauka un vāka (skatīt 6.1.) masa gramos,

m_1 = trauka, vāka un analizējamā parauga (skatīt 6.2.) masa gramos,

m_2 = trauka, vāka un žāvēta analizējamā parauga (skatīt 6.3.5.) masa gramos.

Iegūto vērtību noapaļo ar precizitāti līdz 0,01 % (procenti no masas).

7.2. **Precizitāte**

7.2.1. *Atkārtojamība (r)*: 0,10 g kopējā sausnas daudzuma uz 100 g produkta.

7.2.2. *Reproducējamība (R)*: 0,20 g kopējā sausnas daudzuma uz 100 g produkta.

II. TAUKU SATURA NOTEIKŠANA

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN NOZARE

Šī procedūra precizē svaigpiena un pilnpiena, daļēji nokrejota piena un vājpiena tauku satura noteikšanas standartmetodi.

2. DEFINĪCIJA

Piena tauku saturs: visa viela, ko nosaka ar norādīto metodi. To izsaka masas procentos.

3. PRINCIPS

Analizējamā parauga amonjaka spirta šķīdumu ekstrahē ar dietilēteri un petrolēteri, šķīdinātājus likvidē destilējot vai iztvaicējot un nosaka petrolēterī šķīstošā ekstrahētā materiāla masu. (Šo procedūru parasti pazīst kā Roza-Gotlība metodi).

4. REAĢENTI

Visu izmantoto ķīmisko vielu kvalitāte ir atzīta par piemērotu analīžu veikšanai, un pēc tukšās analīzes tās neatstāj ievērojamas nogulsnes.

Lai pārbaudītu reaģentu kvalitāti, veic 6.3. punktā minēto noteikšanu. Svēršanai kā atsvaru izmanto tukšu stikla kolbu, vārglāzi vai metāla trauku (5.8.), ko sagatavo, kā norādīts 6.4. punktā (lai varētu koriģēt svēršanas rezultātu, ņemot vērā atmosfēras apstākļu izmaiņas). Ja atliekas, ko koriģē, ņemot vērā acīmredzamās atsvara masas izmaiņas, pārsniedz 2,5 mg, atsevišķi nosaka šķīdinātāju atliekas, attiecīgi iztvaicējot 100 ml dietilētera (4.4.) un 100 ml petrolētera (4.5.). Svēršanā izmanto arī atsvaru. Ja atliekas pārsniedz 2,5 mg, šķīdinātāju attīra destilējot vai arī nomaina šķīdinātāju.

4.1. **Amonjaka šķīdums**, kurā ir aptuveni 25 % (m/m) NH3. Var izmantot arī koncentrētāku amonjaka šķīdumu (skatīt 6.5.1. un A.1.5.1.).

4.2. **Etanols**, vismaz 94 % (V/V). Var izmantot ar metanolu denaturētu etanolu – ar noteikumu, ka noteikti netiks ietekmēti satura noteikšanas rezultāti.

4.3. **Kongosarkanais vai krezolsarkanais šķīdums**

1 g kongosarkanā vai krezolsarkanā šķīduma izšķīdina ūdenī un atšķaida līdz 100 ml.

Piezīme: Šķīdumu, kas ļauj precīzāk noteikt šķīdinātāja un ūdens slāņu saskarni, izmanto pēc izvēles (skatīt 6.5.2.). Var izmantot citus ūdens krāsas šķīdumus, ar noteikumu, ka tie neietekmē satura noteikšanas rezultātus.

4.4. **Dietilēteris**, kurā nav peroksīdu un kurā nav vairāk par 2 mg/kg antoksidantu, un kurš atbilst tukšās analīzes prasībām (6.3.).

4.5. **Petrolēteris**, kura viršanas diapazons ir no 30 līdz 60°C.

4.6. **Šķīdinātāja maisījums**, ko sagatavo neilgi pirms lietošanas, vienādās daļās sajaucot dietilēteri (4.4.) un petrolēteri (4.5.).

5. IEKĀRTAS UN STIKLA TRAUKI

Brīdinājums:
Tā kā noteikšanā izmanto gaistošus uzliesmojošus šķīdinātājus, visām izmantotajam elektroiekārtām jāatbilst tiesību aktu prasībām, kas attiecas uz šo šķīdinātāju izmantošanu.

Parastais laboratoriju aprīkojums un jo īpaši turpmāk minētais aprīkojums.

5.1. **Analītiskie svari**

5.2. **Centrifūga**, kurā tauku ekstrakcijas kolbas vai mēģenes (5.6.) var centrēt ar rotācijas frekvenci no 500 līdz 600 apgr. min. $^{-1}$, lai kolbu vai mēģeņu ārējā galā radītu 80 līdz 90 g gravitācijas lauku.

Piezīme: *Centrifū*gu izmanto pēc izvēles (6.5.5.)

5.3. **Destilācijas vai iztvaicēšanas iekārta**, kas ļauj destilēt šķīdinātājus un etanolu no kolbām vai iztvaicēt no vārglāzēm un traukiem (6.5.12. un 6.5.15.) temperatūrā, kas nepārsniedz 100 °C.

5.4. Elektriskais **žāvēšanas skapis** ar pilnībā atvērtu ventilācijas lūku (lūkām), kurš ļauj visā darba telpā noregulēt 102 ± 2 °C temperatūru. Žāvēšanas skapi aprīko ar piemērotu termometru.

5.5. **Ūdens vanna**, kurā var uzturēt 35 līdz 40 °C temperatūru.

5.6. **Molonjēra tipa tauku ekstrakcijas kolbas**

Piezīme: *Iespē*jams izmantot arī tādas tauku ekstrakcijas mēģenes, kurām ir sifons vai skalotne, bet tādā gadījumā izmanto citu procedūru, kas ir precizēta papildinājumā.

Kolbas (vai mēģenes) aprīko ar šlifa vai labas kvalitātes korķozola korķiem vai citiem aizbāžņiem, kam izmantotie reaģenti nekaitē. Korķozola korķus ekstrahē ar dietilēteri (4.4.), tur ūdenī 60 °C vai augstākā temperatūrā vismaz 15 minūtes un pēc tam ļauj atdzist ūdenī, lai izmantošanas laikā tie būtu piesūcināti.

5.7. **Turētājs**, kurā ievieto tauku ekstrakcijas kolbas (vai mēģenes) (skatīt 5.6.).

5.8. **Skalotne**, ko var izmantot šķīdinātāja maisījumam (4.6.). Neizmanto plastmasas skalotni.

5.9. **Tauku savākšanas trauki**, piemēram, viršanas kolbas (plakandibena) vai Ērlenmeijera kolbas, kuru tilpums ir 125 – 250 ml, vai metāla traukus. Ja izmanto metāla traukus, vēlams, lai tie ir nerūsējoša tērauda plakandibena trauki, un vēlams ar snīpi, kuru diametrs ir 80 līdz 100 mm un augstums ir aptuveni 50 mm.

5.10. Beztauku **viršanas līdzekļi** no neporaina porcelāna vai silīcija karbīda vai stikla lodītēm (pēc izvēles, ja izmanto metāla traukus).

5.11. **Mērcilindri**, kuru tilpums ir 5 un 25 ml.

5.12. **Mērpipetes**, kuru tilpums ir 10 ml.

5.13. **Metāla standziņas**, kas piemērotas kolbu, vārglāžu vai trauku turēšanai.

6. PROCEDŪRA

Piezīme: Papildinājumā ir aprakstīta alternatīva procedūra, kurā izmanto tauku ekstrakcijas mēģenes ar sifonu vai skalotni (skatīt 5.6. piezīmi).

6.1. **Analizējamā parauga sagatavošana**

15 minūšu laikā noregulē analizējamā parauga temperatūru līdz aptuveni 35 – 40 °C, vajadzības gadījumā izmantojot ūdens vannu. Paraugu rūpīgi, bet lēnām sajauc, vairākkārt apgriežot pudeli ar paraugu, to nesaputojot vai nesakuļot, un ātri atdzesē līdz aptuveni 20 °C.

6.2. **Analizējamais paraugs**

Analizējamo paraugu (6.1.) sajauc, trīs līdz četras reizes lēni apgriežot pudeli, un tūlīt ar precizitāti līdz 1 mg vienā no ekstrakcijas kolbām (5.6.) tieši vai pa daļām iesver 10 līdz 11 g analizējamā parauga.

Pēc iespējas visu analizējamo paraugu salej ekstrakcijas kolbu apakšējā (mazajā) daļā.

6.3. **Tukšā analīze**

Vienlaikus veic tukšo analīzi ar noteikšanu, izmantojot to pašu procedūru un reaģentus, bet aizstājot analizējamo paraugu ar 10 līdz 11 ml ūdens.

Tauku savākšanas trauka acīmredzamās masas izmaiņām, ko koriģē, ņemot vērā kontroles trauka masas acīmredzamās izmaiņas, nav jāpārsniedz 2,5 mg.

6.4. **Tauku savākšanas trauka sagatavošana**

Trauku (5.9.) kopā ar dažiem viršanas līdzekļiem (5.10.) izžāvē, lai veicinātu lēnu viršanu vienu stundu žāvēšanas skapī, atbrīvojoties no šķīdinātāja. Traukam ļauj atdzist (neizmanto eksikatoru, bet pasargā no putekļiem) līdz svēršanas telpas temperatūrai (stikla traukus dzesē vismaz vienu stundu, metāla traukus – vismaz 30 minūtes). Lai nepieļautu temperatūras svārstības, trauku uz svariem noliek ar standziņām un nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg.

6.5. **Noteikšana**

6.5.1. Pievieno 2 ml amonjaka šķīduma (4.1.) vai ekvivalentu daudzumu mazāk koncentrēta amonjaka šķīduma un rūpīgi sajauc ar analizējamo paraugu kolbas mazajā nodalījumā. Pēc amonjaka pievienošanas nekavējoties veic noteikšanu.

6.5.2. Pievieno 10 ml etanola (4.2.) un lēni, bet rūpīgi sajauc, ļaujot kolbas saturam pārlīt no viena nodalījuma otrā; šķidrumam neļauj pietuvoties kolbas kaklam. Ja vēlas, pievieno divus pilienus kongosarkanā vai krezolsarkanā šķīduma (4.3.).

6.5.3. Pievieno 25 ml dietilētera (4.4.), kolbu noslēdz ar korķi, kas piesūcināts ar ūdeni, vai aizbāzni, kas samitrināts ar ūdeni (skatīt 5.6.), un vienu minūti kolbu spēcīgi krata, bet ne pārāk stipri (lai neveidotos noturīgas emulsijas), turot to horizontāli ar mazo nodalījumu uz augšu. Laiku pa laikam šķidrumam no lielā nodalījuma ļauj pārlīt mazajā nodalījumā. Ja vajadzīgs, kolbu atdzesē zem tekoša ūdens strūklas, pēc tam uzmanīgi noņem korķi vai aizbāzni un noskalo to un arī kolbas kaklu ar nelielu daudzumu šķīduma maisījuma (4.6.), izmantojot skalotni (5.8.), lai skalošanas šķidrums ietek kolbā.

6.5.4. Pievieno 25 ml petrolētera (4.5.), kolbu aizvāko ar atkārtoti samitrinātu korķi vai aizbāzni (atkārtoti samitrina, iemērcot ūdenī) un kolbu viegli krata 30 sekundes, kā aprakstīts 6.5.3. punktā.

6.5.5. Aizvākoto kolbu vienu līdz piecas minūtes ievieto centrifūgā, kur to griež ar rotācijas frekvenci 500 līdz 600 apgr. min. $^{-1}$ (5.2.). Ja centrifūga nav pieejama (skatīt 5.2. piezīmi), aizvākoto kolbu atstāj tureklī (5.7.) vismaz 30 minūtes, līdz centrifugāts ir dzidrs un pilnībā atdalās no ūdens slāņa. Vajadzības gadījumā kolbu atdzesē tekošā ūdenī.

6.5.6. Uzmanīgi noņem korķi vai aizbāzni un noskalo to, kā arī kolbas kakla iekšpusi ar nelielu daudzumu šķīduma sajaukuma (4.6.), lai skalošanas šķidrums ietek kolbā.

Ja saskarne ir zemāk par kolbas kakla apakšu, to papildina nedaudz virs šā līmeņa, uzmanīgi pielejot ūdeni gar kolbas malu, lai uzlabotu šķīduma dekantēšanu.

6.5.7. Turot kolbu aiz mazā nodalījuma, pēc iespējas vairāk centrifugāta dekantē sagatavotajā tauku savākšanas traukā (6.4.), kurā ir daži viršanas līdzekļi (5.10.), ja izmanto kolbu (pēc izvēles, ja izmanto metāla traukus), izvairoties dekantēt ūdens slāni.

6.5.8. Ekstrakcijas kolbas kakla ārpusi noskalo ar nelielu daudzumu šķīduma maisījuma (4.6.), skalošanas šķidrumu savācot tauku savākšanas traukā un uzmanot, lai šķīduma maisījums nenokļūst uz ekstrakcijas kolbas ārpuses.

Ja vēlas, šķīdinātāju vai daļu šķīdinātāja traukā var likvidēt destilējot vai iztvaicējot, kā aprakstīts 6.5.12. punktā.

6.5.9. Ekstrakcijas kolbas saturam pievieno 5 ml etanola (4.2.), izmantojot etanolu, lai izskalotu kolbas kakla iekšpusi, un sajauc, kā aprakstīts 6.5.2. punktā.

6.5.10. Veic otro ekstrakciju, atkārtojot no 6.5.3. līdz 6.5.8. punktam ieskaitot aprakstītās darbības, bet izmanto tikai 15 ml dietilētera (4.4.) un 15 ml petrolētera (4.5.); ēteri izmanto, lai izskalotu ekstrakcijas kolbas kaklu. Vajadzības gadījumā saskarni papildina līdz kolbas korpusa vidum, lai šķīdinātāja pēdējā dekantēšana būtu pēc iespējas pilnīgāka.

6.5.11. Veic trešo ekstrakciju, atkārtojot no 6.5.3. līdz 6.5.8. punktam ieskaitot aprakstītās darbības, bet izmanto tikai 15 ml dietilētera (4.4.) un 15 ml petrolētera (4.5.); ēteri izmanto, lai izskalotu ekstrakcijas kolbas kaklu. Vajadzības gadījumā saskarni papildina līdz kolbas kakla vidum, lai šķīdinātāja pēdējā dekantēšana būtu pēc iespējas pilnīgāka.

Attiecībā uz vājpienu trešo ekstrakciju var izlaist.

6.5.12. Kolbā ar destilēšanu vai vārglāzē vai traukā ar iztvaicēšanu (5.3.) pēc iespējas vairāk likvidē šķīdinātājus (tajā skaitā etanolu), pirms destilēšanas izskalo kolbas kakla iekšpusi ar nelielu daudzumu šķīdinātāja sajaukuma (4.6.).

6.5.13. Žāvēšanas skapī (5.4.) vienu stundu karsē tauku savākšanas trauku (blakus novieto kolbu šķīdinātāja tvaikiem). Tauku savākšanas trauku izņem no žāvēšanas skapja, ļauj atdzist (neizmanto eksikatoru, bet pasargā no putekļiem) līdz svēršanas telpas temperatūrai (stikla traukus dzesē vismaz vienu stundu, metāla traukus – vismaz 30 minūtes), un nosver ar precizitāti līdz 0,1 mg.

Tūlīt pirms svēršanas trauku neslauka. Trauku uz svariem novieto ar standziņām, jo īpaši nepieļaujot temperatūras svārstības.

6.5.14. Atkārto 6.5.13. punktā aprakstītās darbības, līdz pēc divām secīgām svēršanām konstatē tauku savākšanas trauka masas samazināšanos par 0,5 g vai mazāk. Mazāko konstatēto masu reģistrē kā tauku savākšanas trauka un ekstrahētās vielas masu.

6.5.15. Tauku savākšanas traukā ielej 25 ml petrolētera, lai pārbaudītu, vai ekstrahētā viela ir pilnībā šķīstoša. Nedaudz uzsilda un maisa šķīdinātāju, līdz visi tauki ir izšķīduši.

Ja ekstrahētā viela pilnībā izšķīst petrolēterī, tauku masa ir trauka, kas satur ekstrahēto vielu (6.5.14.), galīgās masas un šā trauka sākotnējās masas (6.4.) starpība.

6.5.16. Ja ekstrahētā viela petrolēterī neizšķīst pilnībā vai ja rodas šaubas, taukus pilnībā ekstrahē no trauka, atkārtoti skalojot ar siltu petrolēteri.

Ļauj nosēsties visām nešķīstošajām daļiņām un uzmanīgi dekantē petrolēteri, neizlejot nešķīstošās daļiņas. Šo darbību atkārto vēl trīs reizes, izmantojot petrolēteri, lai izskalotu trauka kakla iekšpusi.

Visbeidzot ar šķīduma maisījumu no ārpuses noskalo trauka virspusi, lai šķīdums nenokļūtu uz trauka virsmas. Trauku atbrīvo no petrolētera tvaikiem, karsējot trauku žāvējamajā skapī vienu stundu, ļauj atdzist un nosver, kā aprakstīts 6.5.13. un 6.5.14. punktā.

Tauku masa ir 6.5.14. punktā noteiktās masas un šīs galīgās masas starpība.

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

7.1. **Aprēķināšana un formula**

Tauku saturu aprēķina kā masas procentu, izmantojot šādu formulu:

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

kur:

F = tauku saturs,

m_0 = analizējamā parauga masa gramos (6.2.),

m_1 = 6.5.14. punktā noteiktā tauku savākšanas trauka un ekstrahētās vielas masa gramos,

m_2 = sagatavotā tauku savākšanas trauka vai – attiecībā uz neizšķīstošām vielām – tauku savākšanas trauka un nešķīstošo atlieku masa, kas noteikta 6.5.16. punktā,

m_3 = tukšajā analīzē (6.3.) izmantotā tauku savākšanas trauka un 6.5.14. punktā noteiktās ekstrahētās vielas masa gramos,

m_4 = tukšajā analīzē izmantotā sagatavotā tauku savākšanas trauka (skatīt 6.4.) vai – attiecībā uz neizšķīstošām vielām – 6.5.16. punktā noteiktā tauku savākšanas trauka un nešķīstošo atlieku masa.

Rezultātu reģistrē ar precizitāti līdz 0,01 %.

7.2. **Precizitāte**

7.2.1. *Atkārtojamība (r)*:

— pilnpienam un daļēji nokrejotam pienam: 0,02 g tauku uz 100 g produkta,

— vājpienam: 0,01 g tauku uz 100 g produkta.

7.2.2. *Reproducējamība (R)*:

— pilnpienam: 0,04 g tauku uz 100 g produkta,

— daļēji nokrejotam pienam: 0,03 g tauku uz 100 g produkta,

— vājpienam: 0,025 g tauku uz 100 g produkta.

III. **KOPĒJĀS BEZTAUKU SAUSNAS NOTEIKŠANA**

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN NOZARE

Šī procedūra precizē termiski apstrādāta piena kopējā beztauku sausnas satura noteikšanas standartmetodi.

2. DEFINĪCIJA UN APRĒĶINĀŠANA

Kopējais beztauku sausnas masas saturs jāizsaka masas procentos.

Beztauku sausnas saturs ir:

kopējās sausnas saturs (skatīt I iedaļu) mīnus tauku saturs (skatīt II iedaļu).

IV. **KOPĒJĀ SLĀPEKĻA SATURA NOTEIKŠANA**

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN NOZARE

Šī procedūra precizē svaigpiena un pilnpiena, daļēji nokrejota piena un vājpiena kopējā slāpekļa satura noteikšanas standartmetodi.

2. DEFINĪCIJA

Piena kopējais slāpekļa saturs: slāpekļa saturs, izteikts masas procentos, ko nosaka ar īpašu Kjeldāla metodi.

3. PRINCIPS

Svērta piena parauga daudzums reaģē ar koncentrētu sērskābi un kālija sulfātu un vara (II) sulfātu kā katalizatoru, lai pārvērstu organisko savienojumu slāpekli amonjaka sulfātā. Amonjaku atbrīvo, pievienojot nātrija hidroksīda šķīdumu, pēc tam to destilē un absorbē borskābes šķīdumā. To titrē ar skābju šķīdumu.

4. REAĢENTI.

4.1. **Kālija sulfāts** (K_2SO_4).

4.2. **Vara sulfāta šķīdums**. Ūdenī izšķīdina 5,0 g vara (II) sulfāta pentahidrātu ($CuSO_4$, $5H_2O$) un mērkolbā atšķaida līdz 100 ml (20 °C temperatūrā).

4.3. **Sērskābe**, vismaz 98,0 % (m/m) H_2SO_4.

4.4. **Nātrija hidroksīda šķīdums**, 47 % (m/m) 704 g NaOH/l (20 °C).

Piezīme: *Var izmantot, piem*ēram, mazāk koncentrētu nātrija hidroksīda šķīdumu. 40 % (m/m) 572 g/l, 20 °C; vai 30 % (m/m) 399 g/l, 20 °C;

4.5. **Borskābes šķīdums**. Vienā litrā karsta ūdens izšķīdina 40 g borskābes (H_3BO_3), ļauj atdzist un uzglabā borsilikātstikla pudelē.

4.6. **Indikatora šķīdums**. 0,01 g metilsarkanā, 0,02 g bromtimolzilā un 0,06 g bromkrezola zaļā izšķīdina 100 ml etanola. Šķīdumu uzglabā brūnā aizvākotā pudelē vēsā un tumšā vietā.

4.7. **Mēršķīdums**

c (1/2 H_2SO_4) vai c (HCl) = 0,1 mol/l standartizēts ar precizitāti līdz 0,0001 mol/l.

4.8. **Slāpekli nesaturoša saharoze**

4.9. Tīrs **amonija sāls**, piemēram, amonija oksalāts $(NH_4)_2C_2O_4$, H_2O vai amonija sulfāts $(NH_4)_2SO_4$.

4.10. **Triptofāns** ($C_{11}H_{12}N_2O_2$), **fenacetīns** ($C_{10}H_7CH_2CONH_2$) vai lizīna mono- vai di-hidrohlorīds ($C_6H_{14}N_2O_2$ HCl vai $C_6H_{14}N_2O_2$ $_2$HCl).

Piezīme: *4.9. un 4.10. punktā* minēto reaģentu tīrības kvalitātei jābūt augstākai par "analīzēm piemēroto kvalitāti". Jāizmanto sertificēta amonija sāls šķīdums (4.9.), ja tas ir pieejams.

5. IEKĀRTAS UN STIKLA TRAUKI

Parastais laboratoriju aprīkojums un jo īpaši turpmāk minētais aprīkojums.

5.1. **Kjeldāla kolbas**, kuru tilpums ir 500 ml.

5.2. **Piemēroti viršanas līdzekļi**, piemēram, stikla lodītes ar apmēram 5 mm diametru, Hengara granulas, pumeks.

5.3. **Birete vai automātiskā pipete**, lai dozētu 1,0 ml.

5.4. **Stikla mērcilindri**, kuru tilpums ir 50, 100 un 250 ml.

5.5. **Reakcijas iekārta** slīpā novietojumā (aptuveni 45 °leņķī) ar elektrisku sildierīci vai gāzes degli, kas nesakarsē kolbas virs tajās esošā satura līmeņa, un ar dūmu ekstrakcijas sistēmu.

5.6. **Destilācijas iekārta** no borsilikātstikla, kam var piestiprināt Kjeldāla kolbu (5.1.) un kas sastāv no efektīva pretšļakstes uzgaļa, kurš savienots ar efektīvu kondensatoru ar taisnu iekšējo cauruli, un izplūdes caurule ir pievienota tā apakšējam galam; savienotājcaurule un aizbāznis (aizbāžņi) ir cieši pieguļoši un vēlams no neoprēna gumijas.

5.7. **Birete vai automātiska pipete**, lai dozētu 0,10 ml.

5.8. **Koniskās kolbas**, kuru tilpums ir 500 ml, ar 200 ml iedaļām.

5.9. **Birete**, kuras tilpums ir 50 ml, ar 0,1 ml iedaļām, maksimālā kļūda ± 0,05 ml.

5.10. **Palielināmais stikls** biretes nolasīšanai (5.9.).

5.11. **pH mērierīce**

5.12. **Automātiskā birete**

6. PROCEDŪRA

6.1. Kjeldāla kolbā (5.1.) ieliek viršanas līdzekli (5.2.) (piemēram, trīs stikla lodītes), 15 g kālija sulfāta (4.1.), 1,0 ml vara sulfāta šķīduma (4.2.), aptuveni 5 g piena parauga (nosvērts ar precizitāti līdz 0,001 g) un 25 ml sērskābes (4.3.). Izmanto skābi, lai noskalotu vara sulfāta šķīdumu, kālija sulfātu vai pienu no kolbas kakla, un viegli sajauc kolbas saturu.

Piezīme: Tā kā vārīšanās laikā organiskās vielas patērē sērskābi, reakcijai izmanto 30 ml H_2SO_4 (4.3.) nevis 25 ml, ja piens satur vairāk nekā 5,0 % (m/m) tauku. To dara arī tukšajā analīzē.

6.2. Katru Kjeldāla kolbu uzkarsē reakcijas iekārtā (5.5.) – vispirms ļoti lēnām, lai visas melnās putas paliek kolbas nodalījumā. Kad sākotnējā putošana ir beigusies un parādās bagātīgs balta tvaika daudzums, vāra stipri (skābais tvaiks kondensēsies līdz kolbas kakla pusei), līdz pazūd visas melnās daļiņas reakcijas produkts kļūst dzidrs un bāli zilganzaļš. Pēc tam lēnām vāra vismaz 1,5 stundas. Ievēro šādas prasības:

a) reakcijas produktam jākļūst dzidram ne ilgāk kā vienas stundas laikā, un kopējais reakcijas laiks ir vismaz 2,5 stundas. Ja dzidrināšanai vajadzīga vairāk nekā viena stunda, attiecīgi pagarina kopējo reakcijas laiku;

b) pievienotais kālija sulfāts veicina reakciju, jo paaugstina maisījuma viršanas temperatūru. Ja reakcijas beigās H2SO4 atlieku tilpums ir mazāks par aptuveni 15 ml, pārliecīgas karsēšanas dēļ varētu būt zaudēts slāpeklis. Ja karsē ar gāzi, kolbu sakarsē uz siltumu izolējošas plāksnes, kurā ir vienīgi tik liela diametra apaļa atvere, ka vaļēja liesma skar tikai to kolbas daļu, kas atrodas zem šķidruma virsmas (5.5.);

c) ja melnās daļiņas iekļūst kolbas kaklā un skābe, kas attek spēcīgās vārīšanās posma sākumā, tās visas nenoskalo lejup kolbas nodalījumā (to var veicināt, rotējot kolbu), kolbai ļauj pietiekami atdzist un to uzmanīgi noskalo ar nelielu daudzumu ūdens. Pēc tam reakciju turpina, kā aprakstīts iepriekš.

6.3. Kad Kjeldāla kolbas ir atdzesētas, katrā ielej 300 ml ūdens (skatīt piezīmi), lai noskalotu kolbas kaklu, un rūpīgi sajauc saturu, lai izšķīdinātu izveidojušos kristālus. Pievieno dažus viršanas līdzekļus (5.6.), lai nodrošinātu viendabīgu viršanu. Pēc tam katrā kolbā ielej 70 ml nātrija hidroksīda šķīduma (4.4) (skatīt piezīmi), lēnām lejot šķīdumu lejup pa slīpo kolbas kaklu, lai kolbas nodalījumā izveidotu apakšējo slāni; kolbas kakla galu nesamitrina ar nātrija hidroksīda šķīdumu.

Piezīme: ūdens un nātrija hidroksīda šķīduma kopējam tilpumam jābūt 370 ml, lai tieši pirms neregulārās vārīšanās ("mutuļošana") sākuma (6.4.) varētu savākt aptuveni 150 ml destilāta. Tādējādi, ja pievieno vairāk ekvivalenta tilpuma nātrija hidroksīda šķīduma, kura koncentrācija ir mazāka par 47 % (m/m), attiecīgi samazina pievienojamā ūdens tilpumu. Piemēram, ja jāpievieno 85 ml 40 % (m/m) vai 125 ml 30 % (m/m) nātrija hidroksīda šķīduma, pievienojamā ūdens tilpums attiecīgi ir 285 ml vai 245 ml.

6.4. Katru Kjeldāla kolbu tūlīt savieno ar destilācijas iekārtu (5.6.). Raugās, lai atteces dzesinātāja izejas gals ir iegremdēts 50 ml borskābes šķīdumā (4.5.) kopā ar 0,20 ml (5 – 6 piles) indikatora šķīduma (4.6.), un to visu salej koniskā kolbā (5.8.). Katras Kjeldāla kolbas saturu sakrata, lai rūpīgi samaisītu, un vāra, bet sākumā lēnām, lai nepieļautu pārliecīgu putošanu. Kad ir savākti 100 līdz 125 ml destilāta, katru konisko kolbu novieto zemāk, līdz atteces dzesinātāja izejas gals ir aptuveni 40 mm virs 200 ml atzīmes. Turpina katru destilāciju, līdz sākas neregulārā viršana ("mutuļošana"), un tad karsēšanu tūlīt aptur. Katru Kjeldāla kolbu atvieno un ar nelielu daudzumu ūdens noskalo katru atteces dzesinātāja izejas galu, savācot noskaloto šķidrumu koniskajā kolbā. Ievēro šādas prasības:

a) destilācijas tempam jābūt tādam, lai sākoties neregulārajai viršanai ("mutuļošanai") ir savākti aptuveni 150 ml destilāta, katras koniskās kolbas satura tilpums tad būs aptuveni 200 ml;

b) katra dzesinātāja efektivitātei jābūt tādai, lai katras koniskās kolbas satura temperatūra destilācijas laikā nepārsniedz 25 °C.

6.5. Izmantojot pH mērītāju un, ja vēlas – automātisko bireti, katru destilātu titrē ar standarta mēršķīdumu (4.7.), līdz pH ir 4,6 ± 0,1. Indikatora pievienošana palīdz noteikt, vai titrēšana norit pareizi. Reģistrē katras biretes rādījumu ar precizitāti līdz 0,01 ml, izmantojot palielināmo stiklu (5.10.) un izvairoties no paralakses kļūdām.

Titrēšanu var veikt vienīgi ar indikatoru. Titrē, kamēr destilāta krāsa atbilst krāsai, kāda ir šķīdumam, kas iepriekš pagatavots no 150 ml ūdens, kuram pievienoja 50 ml borskābes šķīduma un 0,20 ml indikatora, kas atrodas koniskā kolbā (5.8.).

6.6. Veic tukšo analīzi saskaņā ar 6.1. un 6.5. punktu ieskaitot, piena parauga vietā visā procedūrā izmantojot 5 ml destilēta ūdens kopā ar 0,1 g saharozes (4.8.).

Piezīme: *Tuk*šā destilāta titrēšanai vajadzēs tikai ļoti nelielu standarta mēršķīduma daudzumu (4.7.).

6.7. Regulāri pārbauda procedūras precizitāti pēc procedūras, ko veic saskaņā ar 6.1. līdz 6.5. punktu ieskaitot, veicot divus atgūšanas izmēģinājumus.

6.7.1. Pārbauda, vai nav slāpekļa zudumu, ko izraisījusi pārliecīga karsēšana vai mehāniska noplūde destilācijas laikā, izmantojot analizējamo paraugu, kurā ir 0,15 g amonija oksalāta vai sulfāta (4.9.), kas nosvērts ar precizitāti līdz 0,001 g kopā ar 0,1 g saharozes (4.8.).

Atgūst 99,0 līdz 100,0 % slāpekļa.

Zemāki vai augstāki rezultāti norādīs par procedūras neizdošanos un/vai neprecīzu standartšķīduma (4.7.) koncentrāciju.

6.7.2. Pārbauda, vai reakcijas procedūra ir pietiekama, lai atbrīvotu visu proteīna slāpekli, izmantojot analizējamo paraugu, kurā ir 0,20 g tīra triptofāna, 0,35 g fenacetīna vai 0,20 g lizīna hidrohlorīda (4.10.). Visu svēršanu veic ar precizitāti līdz 0,001 g. Jāatgūst vismaz 98 – 99 % slāpekļa.

7. DROŠĪBAS PASĀKUMI

Strādājot ar koncentrētu sērskābi un nātrija hidroksīdu, kā arī rīkojoties ar Kjeldāla kolbām, vienmēr jāvalkā laboratorijas virsvalks, aizsargbrilles un skābjizturīgi cimdi.

Destilācijas laikā Kjeldāla kolbas neatstāj bez uzraudzības. Ja kolbas saturs "mutuļo" pārāk stipri, destilācija tūlīt jāpārtrauc potenciālo draudu dēļ. Ja ilgāk nekā divas līdz trīs minūtes atslēdz strāvas padevi, savākšanas kolbu novieto zemāk, lai destilācijas caurules gals atrastos ārpus šķidruma.

8. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

8.1. **Aprēķināšana un formula**

Slāpekļa saturu (WN) aprēķina, izsakot to slāpekļa gramos uz 100 g produkta ar šādu formulu:

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

kur

W_N = slāpekļa saturs,

V = skābju standarta mēršķīduma tilpums mililitros, ko izmanto satura noteikšanā,

V_O = skābju standarta mēršķīduma tilpums mililitros, ko izmanto tukšajā analīzē,

c = koncentrācija, izteikta molos uz litru skābju standarta mēršķīduma (4.7.),

m = analizējamā parauga masa gramos.

Rezultātu noapaļo ar precizitāti līdz 0,001 g uz 100 g.

8.2. **Precizitāte**

8.2.1. *Atkārtojamība (r)*: 0,007 g uz 100 g.

8.2.2. *Reproducējamība (R)*: 0,015 g uz 100 g.

9. MODIFICĒTAS PROCEDŪRAS

9.1. Reakcijas iekārtas un Kjeldāla kolbu vietā, kas aprakstītas 5.5. un 5.1. punktā, izmanto bloka reakcijas iekārtu, kura aprīkota ar cilindriskām kolbām. Tādā gadījumā, lai identificētu iespējamās problēmas, katra vieta jāpārbauda atsevišķi (6.7.).

9.2. Kolbu tiešās karsēšanas vietā veic tvaika destilāciju (6.4.). Ja iekārtā nevar izmantot destilētu ūdeni, jāraugās, lai ūdens nesaturētu skābes vai sārmu gaistošās vielas.

9.3. Var izmantot 1 g piena (puse no Kjeldāla makrokolbas) analizējamo paraugu nevis 5 g (6.1.), ar noteikumu, ka

— tādā pašā proporcijā (1/5) samazina mineralizācijā izmantojamos reaģentus (6.1.): H_2SO_4, $CuSO_4$ $5H_2O$, K_2SO_4,

— kopējo reakcijas laiku (6.2.) samazina līdz 75 minūtēm,

— nātrija hidroksīda šķīduma (6.3.) daudzumu samazina tādā pašā proporcijā (1/5),

— jāizmanto zemākas koncentrācijas (0,02 līdz 0,03 mol/l) skābju standartšķīdums (4.7.).

Piezīme: *Vienas vai vair*āku minēto alternatīvu lietošana ir pieļaujama vienīgi tad, ja atkārtojamības vērtība (8.2.1.) un abu precizitātes testu rezultāti (6.7.) ir saskaņā ar šajā metodē paredzētajām prasībām.

V. PROTEĪNA SATURA NOTEIKŠANA

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN NOZARE

Šī procedūra precizē termiski apstrādāta piena proteīna satura noteikšanas standartmetodi (Direktīvas 85/397/EEK 3. panta A daļas 3. punkts).

2. DEFINĪCIJA

Proteīna saturs: Vērtība, ko iegūst, ar atbilstīgu koeficientu (3.) sareizinot kopējo slāpekļa saturu, kurš izteikts masas procentos un noteikts saskaņā ar IV iedaļas 3. punktā aprakstīto metodi.

3. APRĒĶINĀŠANA

Piena proteīna saturs masas procentos = 6,38 x piena kopējais N saturs %.

VI. BLĪVUMA NOTEIKŠANA

1. PIEMĒROŠANAS JOMA UN NOZARE

Šī procedūra precizē svaigpiena un pilnpiena, daļēji nokrejota piena un vājpiena blīvuma noteikšanas standartmetodi.

2. DEFINĪCIJA

Piena blīvums ir attiecība starp konkrēta tilpuma piena masu 20 °C temperatūrā un tāda paša tilpuma ūdens masu 20 °C temperatūrā.

3. PRINCIPS

Blīvumu 20 °C temperatūrā nosaka ar blīvummēru.

4. IEKĀRTAS UN STIKLA TRAUKI

Parastais laboratoriju aprīkojums un jo īpaši turpmāk minētais aprīkojums.

4.1. **Blīvummērs**

Īpašais gravitācijas blīvummērs ir instruments, kas sastāv no stikla pludiņa, kurš tā apakšējā galā ir plats un smags. Pie pludiņa augšējā gala koaksiālā stāvoklī pret to ir piestiprināts cilindrisks stikla stienis; stieņa augšgals ir slēgts.

Stikla pludiņš satur slogu (svins, dzīvsudrabs u.tml.), kas paredzēts blīvummēra masas koriģēšanai. Stienim ir mērskala ar iedaļām no 1,025 līdz 1,035 g/ml.

Blīvummērs ir jāpārbauda ar piknometra metodi, izmantojot piknometru, kura tilpums ir aptuveni 100 ml un kurš ir aprīkots ar precīzijas termometru.

4.2. **Cilindri** (stikla vai nerūsējoša tērauda).

Minimālajiem izmēriem jābūt šādiem:

— iekšējais diametrs aptuveni 35 mm,

— iekšējais augstums aptuveni 225 mm.

4.3. **Ūdens vanna**, kurā temperatūru regulē 20 ± 0,1 °C

4.4. **Ūdens vanna**, kurā temperatūru regulē 40 ± 2 °C.

4.5. **Termometrs** ar 0,5 °C iedaļām.

5. PROCEDŪRA

5.1. Paraugu sajauc apgriežot, lai iemaisītu taukus, un ievieto ūdens vannā (4.4.). Paraugam ļauj sasilt līdz 40 °C un šo temperatūru saglabā piecas minūtes. Rūpīgi sajauc, uzmanīgi apgriežot, lai nodrošinātu tauku viendabīgi iemaisīšanu. Otrajā ūdens vannā (4.3.) atdzesē līdz 20 °C.

5.2. Paraugu rūpīgi sajauc, uzmanīgi apgriežot, lai nesajauktu ar gaisu. Pienu ielej cilindrā (4.2.), ko tur slīpi, lai neveidotos putas vai burbuļi. Izmanto pietiekami lielu piena paraugu, lai daļa no tā pārplūstu pāri cilindra malām, kad tajā ievieto blīvummēru (4.1.). Blīvummēru uzmanīgi ievieto pienā un ļauj brīvi peldēt, līdz tas nostājas līdzsvara stāvoklī. Cilindrs jānovieto vertikāli. Blīvummērs jānovieto šķidruma staba vidū un tam nav jāpieskaras cilindra malām.

5.3. Kad blīvummērs sasniedz līdzsvaru, nolasa iedaļu meniska augšā.

5.4. Tūlīt pēc blīvummēra nolasīšanas paraugā ieliek termometru (4.5.) un nolasa temperatūru ar precizitāti līdz 0,5 °C. Temperatūra nedrīkst pārsniegt 20 °C ± 2 °C.

6. TEMPERATŪRAS KOREKCIJA

6.1. Ja piena parauga temperatūra piena blīvuma mērīšanas laikā nav precīzi 20 °C, iegūtais rezultāts ir jākoriģē, noteiktajam blīvumam pieskaitot 0,0002 par katru Celsija grādu virs 20 °C vai atņemot 0,0002 par katru Celsija grādu zem 20 °C. Šī korekcija ir derīga tikai tad, ja piena parauga temperatūra no 20 °C atšķiras ne vairāk kā par 5 °C.

7. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

Parauga blīvuma aprēķināšanas metodi un formulu izsaka g/ml vājpiena 20 °C temperatūrā saskaņā ar šādu formulu:

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

kur

m_v = parauga blīvums g/l, kas nolasīts no blīvummēra (5.4.),

M_G = parauga tauku saturs g/l,

0,92 = tauku blīvums.

8. PRECIZITĀTE

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

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

Papildinājums

(II pielikumam)

ALTERNATĪVA PROCEDŪRA, KURĀ IZMANTO TAUKU EKSTRAKCIJAS MĒĢENES AR SIFONU VAI SKALOTNES APRĪKOJUMU

A.1. **PROCEDŪRA**

A.1.1. **Analizējamā parauga sagatavošana**

Skatīt 6.1. punktu.

A.1.2. **Analizējamais paraugs**

Rīkojas, kā norādīts 6.2. punktā, bet izmanto tauku ekstrakcijas mēģenes (skatīt 5.6.).

Pēc iespējas visu analizējamo paraugu salej ekstrakcijas mēģenes apakšā.

A.1.3. **Tukšā analīze**

Skatīt 6.3. punktu.

A.1.4. **Tauku savākšanas trauka sagatavošana**

Skatīt 6.4. punktu.

A.1.5. **Noteikšana**

A.1.5.1. Pievieno 2 ml amonjaka šķīduma (4.1.) vai ekvivalentu daudzumu vairāk koncentrēta amonjaka šķīduma un rūpīgi sajauc ar iepriekš apstrādātu analizējamo paraugu mēģenes apakšā. Pēc amonjaka pievienošanas nekavējoties veic noteikšanu.

A.1.5.2. Pievieno 10 ml etanola (4.2.) un lēnām, bet rūpīgi saturu sajauc mēģenes apakšā. *Ja vēlas*, pievieno divus pilienus kongosarkanā vai krezolsarkanā šķīduma (4.3.).

A.1.5.3. Pievieno 25 ml dietilētera (4.4.), mēģeni aizvāko ar korķi, kas piesūcināts ar ūdeni vai ar aizbāzni, kas samitrināts ar ūdeni (5.6.), un vienu minūti mēģeni spēcīgi krata, bet ne pārmērīgi (lai neveidotos pastāvīgas emulsijas), atkārtoti apgriežot. Ja vajadzīgs, mēģeni atdzesē zem tekoša ūdens strūklas, pēc tam uzmanīgi noņem korķi vai aizbāzni un noskalo to un arī mēģenes kaklu ar nelielu daudzumu šķīduma maisījuma (4.6.), izmantojot skalotni (5.8.), lai skalošanas šķidrums ietek mēģenē.

A.1.5.4. Pievieno 25 ml petrolētera (4.5.), mēģeni aizvāko ar atkārtoti samitrinātu korķi vai aizbāzni (atkārtoti samitrina, iemērcot ūdenī) un mēģeni viegli krata 30 sekundes, kā aprakstīts A.1.5.3. punktā.

A.1.5.5. Aizvākoto mēģeni vienu līdz piecas minūtes ievieto centrifūgā, kur to griež ar rotācijas frekvenci 500 līdz 600 apgr. min. $^{-1}$ (5.2.). Ja centrifūga nav pieejama (skatīt 5.2. piezīmi), aizvākoto mēģeni atstāj tureklī (5.7.) vismaz 30 minūtes, līdz centrifugāts ir dzidrs un pilnībā atdalās no ūdens slāņa. Vajadzības gadījumā mēģeni atdzesē tekošā ūdenī.

A.1.5.6. Uzmanīgi noņem korķi vai aizbāzni un noskalo to, kā arī mēģenes kaklu ar nelielu daudzumu šķīduma sajaukuma, lai skalošanas šķidrums ietek mēģenē.

A.1.5.7. Mēģenē ievieto sifonu vai skalotni, un tās garo iekšējo caurulīti stumj uz leju, līdz ieplūdes atvere ir aptuveni 3 mm virs slāņu saskarnes. Sifona vai skalotnes iekšējai caurulītei jāatrodas paralēli ekstrakcijas mēģenes asij.

Centrifugātu uzmanīgi pārlej no mēģenes sagatavotajā tauku savākšanas traukā (6.4.), kurā ir daži viršanas līdzekļi (5.10.), ja izmanto kolbas (pēc izvēles, ja izmanto metāla traukus), izvairoties pārliet ūdens slāni. Sifona vai skalotnes izplūdes atveri noskalo ar nelielu daudzumu šķīduma maisījuma, savācot noskalojumu tauku savākšanas traukā.

A.1.5.8. Sifonu vai skalotni atbrīvo no mēģenes kakla, nedaudz paceļ un noskalo tā garās iekšējās caurulītes apakšējo daļu ar nelielu daudzumu šķīduma maisījuma. Sifonu vai skalotni nolaiž un no jauna ievieto mēģenē, un noskalojumu ielej tauku savākšanas traukā.

Sifona vai skalotnes izplūdes atveri noskalo ar nelielu daudzumu šķīduma maisījuma, savācot noskalojumu tauku savākšanas traukā. Ja vēlas, šķīdinātāju vai daļu šķīdinātāja traukā var likvidēt destilējot vai iztvaicējot, kā aprakstīts 6.5.12. punktā.

A.1.5.9. Vēlreiz sifonu vai skalotni atbrīvo no mēģenes kakla, nedaudz paceļ un mēģenes saturam pievieno 5 ml etanola, izmantojot etanolu sifona vai skalotnes garās iekšējās caurulītes noskalošanai; sajauc kā aprakstīts A.1.5.2. punktā.

A.1.5.10. Veic *otro ekstrakciju*, atkārtojot A.1.5.3. līdz A.1.5.8. punktā aprakstītās darbības, bet izmanto tikai 15 ml dietilētera (4.4.) un 15 ml petrolētera (4.5.). Ēteri izmanto, lai noskalotu sifona vai skalotnes garo iekšējo caurulīti, kad sifonu vai skalotni izņem no mēģenes pēc iepriekšējās ekstrakcijas.

A.1.5.11. Veic *trešo ekstrakciju*, atkārtojot A.1.5.3. līdz A.1.5.8. punktā aprakstītās darbības un izmanto tikai 15 ml dietilētera un 15 ml petrolētera, un noskalojot sifona vai skalotnes garo iekšējo caurulīti, kā aprakstīts A.15.10. punktā.

Vājpienam trešo ekstrakciju var izlaist.

A.1.5.12. Turpina, kā aprakstīts 6.5.12. līdz 6.5.16. punktā.