II

(Actes dont la publication n'est pas une condition de leur applicabilité)

COMMISSION

PREMIÈRE DIRECTIVE DE LA COMMISSION
du 25 octobre 1985
relative aux méthodes d'analyse des caséines et caséinates alimentaires

(85/503/CEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne,

vu la directive 83/417/CEE du Conseil, du 25 juillet 1983, relative au rapprochement des législations des États membres concernant certaines lactoprotéines (caséines et caséinates) destinées à l'alimentation humaine (1), et notamment son article 9 point b),

considérant que l'article 9 point b) de la directive 83/417/CEE impose la détermination de méthodes d'analyse communautaires en vue du contrôle de la composition de certaines caséines et caséinates alimentaires ;

considérant qu'il est possible d'adopter une première série de méthodes pour lesquelles des études ont été effectuées ;

considérant que les mesures prévues dans la présente directive sont conformes à l'avis du comité permanent des denrées alimentaires,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE :

Article premier

Les États membres prennent toutes les mesures nécessaires pour garantir que les analyses nécessaires à la vérification des critères indiqués à l'annexe I soient effectuées conformément aux méthodes décrites à l'annexe II.

Article 2

Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires et administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive au plus tard le 1er mai 1987. Ils en informent immédiatement la Commission.

Article 3

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 25 octobre 1985.

Par la Commission

COCKFIELD

Vice-président

(1) JO n° L 237 du 26. 8. 1983, p. 25.

ANNEXE I

OBJET DE LA PRÉSENTE DIRECTIVE COMMUNAUTAIRE CONCERNANT DES MÉTHODES D'ANALYSE DES CASÉINES ET CASÉINATES ALIMENTAIRES

I. **Dispositions générales**

II. **Détermination de la teneur en humidité des :**

— caséines acides
— caséines présures — par la méthode 1, annexe II
— caséinates

III. **Détermination de la teneur en protéines des :**

— caséines acides
— caséines présures — par la méthode 2, annexe II
— caséinates

IV. **Détermination de l'acidité titrable des :**

— caséines acides — par la méthode 3, annexe II

V. **Détermination des cendres (P_2O_5 compris) des :**

— caséines acides — par la méthode 4, annexe II
— caséines présures — par la méthode 5, annexe II

VI. **Détermination du pH des :**

— caséinates — par la méthode 6, annexe II

ANNEXE II

MÉTHODES D'ANALYSE DE LA COMPOSITION DES CASÉINES ET CASÉINATES ALIMENTAIRES

DISPOSITIONS GÉNÉRALES

1. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON À ANALYSER

1.1. **Remarque générale**

La masse de l'échantillon présenté au laboratoire aux fins d'analyse doit être d'au moins 200 g.

1.2. **Préparation de l'échantillon aux fins d'analyse en laboratoire**

1.2.1. Mélanger soigneusement l'échantillon de laboratoire, écraser les grumeaux éventuels, secouer et retourner fréquemment le récipient (si nécessaire, après avoir transféré la totalité de l'échantillon de laboratoire dans un récipient étanche à l'air de capacité double du volume de l'échantillon pour permettre d'effectuer cette opération).

1.2.2. Transférer dans le tamis (3.3) une partie aussi représentative que possible de l'échantillon de laboratoire soigneusement mélangé, environ 50 g.

1.2.3. Si la totalité des 50 g traverse entièrement ou presque le tamis (au moins 95 % en poids), utiliser pour la détermination l'échantillon préparé conformément au point 1.2.1.

1.2.4. Autrement, broyer les 50 g en utilisant le dispositif de broyage (3.4) jusqu'à ce qu'il satisfasse au critère de tamisage (1.2.3). Transférer immédiatement tout l'échantillon tamisé dans un récipient étanche à l'air d'une capacité double du volume de l'échantillon et mélanger soigneusement par agitation et retournements successifs. Au cours de ces opérations, prendre des précautions pour éviter toute modification de la teneur en eau du produit.

1.2.5. Après préparation de l'échantillon pour essais, procéder aussi rapidement que possible à la détermination.

1.3. **Récipients**

L'échantillon doit toujours être conservé dans un récipient étanche à l'air et à l'humidité.

2. RÉACTIFS

2.1. **Eau**

2.1.1. L'eau utilisée pour la préparation de solution, de dilution ou de lavage doit être de l'eau distillée ou de l'eau déminéralisée de pureté au moins équivalente.

2.1.2. Chaque fois qu'il est fait référence à une « solution » ou une « dilution » sans autre indication, il s'agit de « solution aqueuse » ou de « dilution dans l'eau ».

2.2. **Substances chimiques**

Toutes les substances chimiques utilisées doivent être de qualité analytique reconnue sauf indications contraires.

3. MATÉRIEL

3.1. **Liste de matériel**

Les listes de matériel ne comprennent que des articles ayant un emploi déterminé et les articles répondant à des caractéristiques particulières.

3.2. **Balance analytique**

Par balance analytique, il y a lieu d'entendre une balance pouvant peser au moins 0,1 mg.

3.3. **Tamis**

Le tamis doit avoir un diamètre de 200 mm et être pourvu d'un couvercle et d'un récipient collecteur. La toile métallique qui le constitue doit avoir une ouverture nominale de 500 µm. Les tolérances d'ouverture et le diamètre du fil métallique correspondent aux valeurs indiquées dans la norme ISO/3310/1. (Tamis pour essais — normes techniques et essai — première partie : toile métallique. ISO/3310/1 — 1975 ou l'édition plus récente de cette norme.)

3.4. **Dispositif de broyage**

Permettant, si nécessaire, de broyer l'échantillon pour laboratoire sans provoquer de chaleur excessive ou de modifier l'humidité (1.2.4). Ne pas utiliser de broyeur à marteaux.

4. EXPRESSION DES RÉSULTATS

4.1. **Résultats**

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique de deux déterminations si les conditions de répétabilité applicables à cette méthode sont remplies.

4.2. **Calcul du pourcentage**

Sauf indications contraires, les résultats doivent être calculés en pourcentage en masse de l'échantillon.

5. PROCÈS-VERBAL D'ESSAIS

Le procès-verbal d'essai précise la méthode d'analyse utilisée ainsi que les résultats obtenus. De plus, il comprend tous les détails du mode opératoire, non prévus dans la méthode d'analyse ou facultatifs, ainsi que toutes les circonstances ayant pu influencer les résultats obtenus. Le procès-verbal d'essai donne toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

MÉTHODE 1

DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN HUMIDITÉ

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La présente méthode permet de déterminer la teneur en humidité des :

— caséines acides,

— caséines présures,

— caséinates.

2. DÉFINITION

Par teneur en humidité des caséines et caséinates on entend la perte de masse obtenue par l'application de la méthode décrite ci-après.

3. PRINCIPE

Dessication à la pression atmosphérique dans une étuve à 102 ± 1 °C d'une prise d'essai jusqu'à masse constante. La perte de masse est calculée comme pourcentage en masse de l'échantillon.

4. APPAREILLAGE

4.1. **Balance analytique**

4.2. **Capsules**

À fond plat et en matériau inaltérable dans les conditions de l'essai (par exemple en nickel, en aluminium, en acier inoxydable ou en verre). Les capsules doivent être munies de couvercles s'adaptant parfaitement mais pouvant être rapidement enlevés. Dimensions appropriées : diamètre : 60 à 80 mm et profondeur : environ 25 mm.

4.3. **Étuve à pression atmosphérique**

Bien ventilée, munie d'un dispositif de thermo-régulation (température : 102 ± 1 °C). La température doit être uniforme dans l'ensemble de l'étuve.

4.4. **Dessiccateur**

Contenant du gel de silice fraîchement activé et muni d'un indicateur hydrométrique ou dispositif de dessiccation équivalent.

4.5. **Instrument permettant de tenir les capsules**

Par exemple, pinces de laboratoire.

5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. **Préparation de l'échantillon pour essai**

Se reporter aux « Dispositions générales » point 1.2.

5.2. **Préparation de la capsule**

5.2.1. Placer la capsule découverte et son couvercle (4.2) dans l'étuve (4.3), réglée à 102 ± 1 °C, pendant au moins une heure.

5.2.2. Mettre le couvercle sur la capsule, placer la capsule couverte dans le dessiccateur (4.4), laisser refroidir à la température ambiante et peser à 0,1 mg (m_0).

5.3. **Prise d'essai**

Introduire 3 à 5 g de l'échantillon pour essais (5.1) dans la capsule, mettre le couvercle et peser à 0,1 mg près (m_1).

5.4. **Détermination**

5.4.1. Découvrir la capsule et la placer avec son couvercle dans l'étuve (4.3) réglée à 102 ± 1 °C, laisser séjourner pendant 4 heures.

5.4.2. Mettre le couvercle sur la capsule, placer dans le dessiccateur, laisser refroidir à la température ambiante et peser à 0,1 mg près.

5.4.3. Découvrir la capsule et la placer avec son couvercle dans l'étuve pendant une heure. Répéter ensuite l'opération décrite au point 5.4.2.

5.4.4. Si la masse obtenue au point 5.4.3 est inférieure de plus de 1 mg à celle qui est obtenue au point 5.4.2, répéter l'opération décrite au point 5.4.3.

Si un accroissement de masse apparaît, utiliser dans le calcul la masse la plus faible enregistrée (6.1).

La durée totale du séchage ne dépasse généralement pas 6 heures.

Soit m_2g la masse finale enregistrée.

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

6.1. **Méthode de calcul**

La perte de masse de la prise d'essai, exprimée en pourcentage en masse, est donnée par la formule suivante :

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

où

m_0 = la masse en grammes de la capsule et de son couvercle après l'opération 5.2,

m_1 = la masse en grammes de la capsule, de son couvercle et de la prise d'essai avant séchage (5.3),

m_2 = la masse en grammes de la capsule, de son couvercle et de la prise d'essai après séchage (5.4.3 ou 5.4.4).

Exprimer le résultat final à 0,01 % près.

6.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions et par le même analyste, ne doit pas excéder 0,1 g d'humidité pour 100 g de produit.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

MÉTHODE 2

DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN PROTÉINES

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La présente méthode permet de déterminer la teneur en protéines des :

— caséines acides,

— caséines présures,

— caséinates,

à l'exception des caséinates contenant de l'ammonium ou d'autres composés ammoniacaux ou contenant de l'azote non protéique.

2. DÉFINITION

Teneur en protéines : teneur en azote déterminée par la méthode décrite ci-après, puis multipliée par 6,38 et exprimée en pourcentage en masse.

3. PRINCIPE

Attaque d'une prise d'essai par un mélange de sulfate de potassium et d'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre (II) comme catalyseur, pour transformer l'azote organique en azote ammoniacal. Distillation et absorption de l'ammoniac dans une solution d'acide borique. Titrage à l'aide d'une solution titrée d'acide chlorhydrique. Obtention de la teneur en protéines, en multipliant par 6,38 la teneur en azote.

4. RÉACTIFS

4.1. **Acide sulfurique concentré** p_{20} 1,84 g/ml

4.2. **Sulfate de potassium anhydre** (K_2SO_4)

4.3. **Sulfate de cuivre (II) pentahydrate** ($CuSO_4,5H_2O$)

4.4. **Saccharose** ($C_{12}H_{22}O_{11}$)

4.5. **Acide borique,** solution à 40 g/l.

4.6. **Hydroxyde de sodium,** solution concentrée à 30 % (m/m) exempte de carbonate.

4.7. **Acide chlorhydrique** : solution titrée à 0,1 mol/l.

4.8. **Indicateur mixte** : mélanger à volumes égaux une solution de rouge de méthyle à 2 g/l dans l'éthanol à au moins 95 % (V/V) et une solution de bleu de méthylène à 1 g/l dans l'éthanol à au moins 95 % (V/V).

5. APPAREILLAGE

5.1. **Balance analytique**

5.2. **Matras de Kjeldahl**

500 ml de capacité.

5.3. **Appareil de minéralisation**

Permettant de maintenir incliné le matras de Kjeldahl (5.2) et pourvu d'un système de chauffage préservant la partie du ballon située au-dessus de la surface des liquides.

5.4. **Réfrigérant à tube intérieur rectiligne**

5.5. **Tube à dégagement**

Présentant un bulbe de sûreté relié à la partie inférieure du réfrigérant (5.4) par un raccord en verre rodé ou un tuyau en caoutchouc. Dans ce dernier cas, les extrémités en verre doivent être proches l'une de l'autre.

5.6. **Défeymateur (piège)**

Relié au matras de Kjeldahl (5.2) et au réfrigérant (5.4) par des bouchons bien adaptés en caoutchouc souple.

5.7. **Fiole conique**

500 ml de capacité.

5.8. **Éprouvettes graduées**

50 ml et 100 ml de capacité.

5.9. **Burette**

50 ml de capacité, graduées en 0,1 ml.

5.10. **Régulateurs d'ébullition**

5.10.1. Pour la minéralisation : petits morceaux de porcelaine dure ou billes de verre.

5.10.2. Pour la distillation : petits grains de pierre ponce récemment calcinée.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. **Préparation de l'échantillon pour essai**

Se reporter aux « Dispositions générales » point 1.2.

6.2. **Mise en évidence d'azote ammoniacal**

Si on suppose la présence de caséinate d'ammonium ou d'autres composés ammoniaqués, effectuer l'essai suivant : dans une petite fiole conique, ajouter à 1 g d'échantillon 10 ml d'eau et 100 mg d'oxyde de magnésium. Rincer l'oxyde adhérant aux parois, fermer la fiole à l'aide d'un bouchon en liège en insérant entre le bouchon et le col de la fiole un morceau de papier tournesol rouge humecté. Mélanger avec soin le contenu de la fiole et chauffer celle-ci dans un bain à environ 60 °C. Le virage au bleu de papier tournesol dans les 15 minutes qui suivent révèle la présence d'ammoniac ; dans ce cas, la méthode n'est pas applicable (voir point 1).

6.3. **Essai à blanc**

En même temps que la détermination de la teneur en azote de l'échantillon, effectuer un essai à blanc en remplaçant la prise d'essai par 0,5 g de saccharose (4.4) et en utilisant le même appareillage, les mêmes quantités de réactifs et le même mode opératoire que celui décrit au point 6.5. Si dans l'essai à blanc le titrage dépasse 0,5 ml de la solution acide à 0,1 mol/l, les réactifs doivent être vérifiés et le réactif (ou les réactifs) impur, purifié ou remplacé.

6.4. **Prise d'essai**

Introduire dans le matras de Kjeldahl (5.2) 0,3 à 0,4 g de l'échantillon (6.1) pesé à 0,1 mg près.

6.5. **Détermination**

6.5.1 Introduire dans le ballon quelques morceaux de porcelaine ou quelques billes en verre (5.10.1) et environ 10 g de sulfate de potassium anhydride (4.2).

Ajouter 0,2 g de sulfate de cuivre (II) (4.3) et rincer le col du matras avec un peu d'eau. Ajouter 20 ml d'acide sulfurique concentré (4.1), mélanger le contenu du ballon.

Chauffer doucement sur l'appareil de minéralisation (5.3) jusqu'à disparition de la mousse. Faire bouillir doucement jusqu'à ce que la solution soit limpide et que la couleur vert-bleu pâle persiste. Au cours du chauffage, agiter de temps à autre le matras.

Poursuivre l'ébullition en réglant le chauffage de manière que les vapeurs se condensent au milieu du col du flacon. Poursuivre le chauffage pendant 90 minutes en évitant toute surchauffe locale.

Laisser refroidir à la température ambiante. Ajouter avec précaution environ 200 ml d'eau et quelques grains de pierre ponce (5.10.2). Mélanger et laisser refroidir de nouveau.

6.5.2. Introduire dans la fiole conique (5.7) 50 ml de la solution d'acide borique (4.5) et 4 gouttes de l'indicateur (4.8). Mélanger. Placer la fiole conique sous le réfrigérant (5.4) de manière que l'extrémité du tube de dégagement (5.5) plonge dans la solution d'acide borique. À l'aide d'une éprouvette graduée (5.8), introduire dans le ballon de Kjeldahl 80 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (4.6). Au cours de cette opération, tenir le ballon incliné de manière que la solution d'hydroxyde de sodium s'écoule le long de la paroi et forme une couche à la partie inférieure du ballon.

Relier immédiatement le ballon de Kjeldahl au réfrigérant par l'intermédiaire du déflegmateur (5.6).

Mélanger le contenu du ballon de Kjeldahl en indiquant un mouvement de rotation. Faire bouillir, doucement au début, en évitant toute formation de mousse. Poursuivre la distillation de manière à recueillir 150 ml de distillat en 30 minutes environ.

Le distillat doit avoir une température inférieure à 25 °C. Deux minutes environ avant la fin de la distillation, abaisser la fiole conique de telle manière que l'extrémité du tube à dégagement ne plonge plus dans la solution acide et rincer cette extrémité avec un peu d'eau. Arrêter le chauffage, enlever le tube à dégagement et rincer ses parois intérieures et extérieures avec un peu d'eau en recueillant les eaux de rinçage dans la fiole conique.

6.5.3. Titrer le distillat dans la fiole à l'aide de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7).

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. **Mode de calcul et formule**

La teneur en protéines de l'échantillon, exprimée en pourcentage en masse, est égale à :

$$\frac{(V_1 - V_2) \times T \times 14 \times 100 \times 6{,}38}{m \times 1000} = \frac{8{,}932\,(V_1 - V_2) \times T}{m}$$

où

V_1 = le volume, en millilitres, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7), utilisée pour la détermination (6.5),

V_2 = le volume, en millilitres, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7) utilisée pour l'essai à blanc,

T = la concentration de la solution titrée d'acide chlorhydrique (4.7) en mol/l,

m = la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Exprimer la teneur en protéines à 0,1 % près.

7.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre, dans les mêmes conditions et par le même analyste, ne doit pas excéder 0,5 g de protéines pour 100 g de produit tel qu'en moyenne plus d'une fois sur 20 dans l'application normale et correcte de la méthode.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

MÉTHODE 3

DÉTERMINATION DE L'ACIDITÉ TITRABLE

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La présente méthode permet de déterminer l'acidité titrable des caséines acides.

2. DÉFINITION

Acidité titrable des caséines acides : le volume, en millilitres de solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 mol/1 nécesaaire pour neutraliser un extrait aqueux de 1 g du produit.

3. PRINCIPE

Préparation et filtration d'un extrait aqueux de l'échantillon à 60 °C. Titrage du filtrat au moyen d'une solution titrée d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

4. RÉACTIFS

L'eau utilisée pour l'application de la méthode ou pour la préparation des réactifs doit être exempte d'anhydride carbonique (à cet effet, la chauffer 10 minutes avant l'emploi).

4.1. Hydroxyde de sodium, solution à 0,1 mol/l.

4.2. Phénolphtaléine servant d'indicateur, solution à 1 g dans 100 ml d'éthanol (95 % V/V), neutralisée par rapport à l'indicateur.

5. APPAREILLAGE

5.1. **Balance analytique**

5.2. **Fiole conique à col rodé**

500 ml de capacité et munie d'un bouchon en verre rodé.

5.3. **Pipette à un trait**

100 ml de capacité.

5.4. **Pipette**

Permettant de mesurer 0,5 ml de la solution d'indicateur (4.2).

5.5. **Fiole conique**

250 ml de capacité.

5.6. **Éprouvette graduée**

250 ml de capacité.

5.7. **Burette**

Graduée en 0,1 ml.

5.8. **Bain d'eau**

Pouvant être réglé à une température de 60 ± 2 °C.

5.9. **Filtre approprié**

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Préparation de l'échantillon pour essai — se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.

6.2. **Prise d'essai**

Peser à 10 mg près environ 10 g de l'échantillon et l'introduire dans la fiole conique (5.2).

6.3. **Détermination**

À l'aide de l'éprrouvette de 250 ml (5.6) ajouter 200 ml d'eau récemment bouillie puis refroidie, préalablement portée à 60 °C. Fermer le flacon, mélanger en remuant et placer au bain à 60 °C (5.8) pendant 30 minutes. Agiter le flacon toutes les 10 minutes environ.

Filtrer et laisser refroidir le filtrat à environ 20 °C. Le filtrat doit être limpide.

Prélever à la pipette (5.3) 100 ml du filtrat refroidi et introduire dans la fiole conique (5.5). Ajouter 0,5 ml de solution de la phénolphtaléine servant d'indicateur (4.2), à l'aide de la pipette (5.4). Titrer à l'aide de la solution titrée d'hydroxyde de sodium (4.1) jusqu'à apparition d'une couleur rose pâle persistant pendant au moins 30 secondes. Noter le volume utilisé à 0,01 ml près.

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. **Méthode de calcul et formule**

L'acidité titrable de la caséine est égale à :

$$\frac{20 \times V \times T}{m}$$

où

V = le volume, en millilitres, de la solution titrée d'hydroxyde de sodium (4.1) utilisée,

T = la concentration, en mol/l, de la solution titrée d'hydroxyde de sodium (4.1),

m = la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Exprimer l'acidité titrable avec deux décimales.

7.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions et par le même analyste, ne doit pas dépasser 0,02 ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N pour 1 g de produit.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

MÉTHODE 4

DÉTERMINATION DES CENDRES (P_2O_5 inclus)

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La présente méthode permet de déterminer les « cendres » des :

— caséines acides (P_2O_5 inclus),

— caséinates.

2. DÉFINITION

Cendres (P_2O_5 inclus) : substances dosées selon la méthode décrite ci-après et exprimées en pourcentage en masse.

3. PRINCIPE

Incinération d'une prise d'essai à 825 ± 25 °C en présence d'acétate de magnésium destiné à fixer la totalité du phosphore d'origine organique. Pesée du résidu et soustraction de la masse de cendres provenant de l'acétate de magnésium.

4. RÉACTIFS

4.1. **Acétate de magnésium tétrahydrate**

$Mg\ (CH_3CO_2)_2,\ 4H_2O$, solution à 120 g/l.

5. APPAREILLAGE

5.1. **Balance analytique**

5.2. **Pipette** à un trait, 5 ml.

5.3. **Capsules en silice ou en platine,** d'environ 70 mm de diamètre et de 25 à 50 mm de profondeur.

5.4. **Étuve de séchage** pouvant être réglée à 102 ± 1 °C.

5.5. **Four électrique** à circulation d'air, réglable à 825 ± 25 °C.

5.6. **Bain d'eau bouillante**

5.7. **Dessiccateur** contenant du gel de silice fraîchement activé muni d'un indicateur hygrométrique ou de tout autre déshydratant équivalent.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. **Préparation de l'échantillon pour essai**

Se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.

6.2. **Préparation des capsules**

Placer 2 capsules (5.3) A et B dans le four électrique (5.5), réglé à 825 ± 25 °C, pendant 30 minutes. Les laisser un peu refroidir avant de les placer dans un dessiccateur (5.7) jusqu'à refroidissement à la température ambiante et les peser à 0,1 mg près.

6.3. **Prise d'essai**

Peser à 0,1 mg près environ 3 g de l'échantillon (6.1), directement dans l'une des capsules préparées (A).

6.4. **Détermination**

Dans la capsule (A), introduire à l'aide de la pipette (5.2) exactement 5 ml de solution d'acétate de magnésium (4.1) de manière à imbiter la totalité de la prise d'essai et laisser reposer 20 minutes.

Dans l'autre capsule préparée (B), introduire à l'aide de la pipette (5.2) exactement 5 ml de la solution d'acétate de magnésium (4.1).

Faire évaporer à sec le contenu de ces deux capsules (A et B) au bain d'eau bouillante (5.6).

Placer les deux capsules dans l'étuve (5.4), régler à 102 ± 1 °C pendant 30 minutes.

Placer la capsule A, avec son contenu, sur une petite flamme, une plaque chauffante ou sous une lampe à infra-rouge, jusqu'à ce que la prise d'essai soit complètement carbonisée et, en veillant à ce qu'elle ne s'enflamme pas.

Placer les 2 capsules (A et B) dans un four électrique (5.5) réglé à 825 ± 25 °C et laisser chauffer pendant au moins 1 heure jusqu'à disparition complète des particules charbonneuses de la capsule A. Laisser un peu refroidir les 2 capsules et les placer dans un dessiccateur (5.7) pour atteindre la température ambiante et peser à 0,1 mg près.

Répéter les opérations de chauffage pendant environ 30 minutes dans le four électrique, de refroidissement et de pesée jusqu'à la masse constante (à 1 mg près), noter la masse minimale.

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. **Méthode de calcul et formule**

Les cendres (P_2O_5 inclus) de l'échantillon, exprimées en pourcentage en masse, sont égales à :

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

où

m_0 = la masse, en grammes, de la prise d'essai,

m_1 = la masse, en grammes, de la capsule A et de son contenu,

m_2 = la masse, en grammes, de la capsule A, vide,

m_3 = la masse, en grammes, de la capsule B et de son contenu,

m_4 = la masse, en grammes, de la capsule B, vide.

Exprimer le résultat final à 0,01 % près.

7.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats des déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre, sur le même échantillon, dans les mêmes conditions, ne doit pas excéder 0,1 g pour 100 g de produit.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

MÉTHODE 5

DÉTERMINATION DES CENDRES (P_2O_5 inclus)

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La présente méthode permet de déterminer les cendres des caséines présures.

2. DÉFINITION

Cendres (P_2O_5 inclus) : substances dosées selon la méthode décrite ci-après et exprimées en pourcentage de masse.

3. PRINCIPE

Incinération d'une prise d'essai à 825 ± 25 °C jusqu'à obtention d'une masse constante.

Pesée du résidu obtenu.

4. APPAREILLAGE

4.1. **Balance analytique**

4.2. **Capsule en silice ou en platine,** d'environ 70 mm de diamètre et de 25 à 50 mm de profondeur.

4.3. **Four électrique**

À circulation d'air, pouvant être réglé à 825 ± 25 °C.

4.4. **Dessiccateur**

Contenant du gel de silice fraîchement activé, muni d'un indicateur hygrométrique ou de tout autre déshydratant équivalent.

5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. **Préparation de l'échantillon pour essai**

Se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.

5.2. **Préparation de la capsule**

Placer la capsule (4.2) dans le four électrique (4.3) réglé à 825 ± 25 °C pendant 30 minutes. Laisser refroidir la capsule dans le dessiccateur (4.4) jusqu'à température ambiante. Peser à 0,1 mg près.

5.3. **Prise d'essai**

Peser à 0,1 mg près environ 3 g de l'échantillon (5.1) directement dans la capsule préparée.

5.4. **Détermination**

Chauffer la capsule avec son contenu sur une petite flamme, une plaque chauffante, ou une lampe à infra-rouge jusqu'à ce que la prise d'essai soit complètement carbonisée, et en veillant à ce qu'elle ne s'enflamme pas.

Placer la capsule dans le four électrique (4.3) réglé à 825 ± 25 °C et laisser chauffer pendant au moins une heure jusqu'à disparition complète des particules charbonneuses de la capsule. Laisser un peu refroidir la capsule et la placer dans le dessiccateur (4.4) pour atteindre la température ambiante. Peser à 0,1 mg près.

Répéter les opérations de chauffage pendant environ 30 minutes dans le four électrique (4.3) de refroidissement et de pesée jusqu'à masse constante (à 0,1 mg près).

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

6.1. **Méthode de calcul et formule**

Les cendres (P_2O_5 inclus), exprimées en pourcentage en masse, sont égales à :

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

où

m_0 = la masse, en grammes, de la prise d'essai,
m_1 = la masse, en grammes, de la capsule et de son contenu,
m_2 = la masse, en grammes, de la capsule vide.

Exprimer le résultat final à 0,01 % près.

6.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions, et par le même analyste, ne doivent pas excéder 0,15 g de cendres pour 100 g de produit.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.

MÉTHODE 6

DÉTERMINATION DU pH

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La présente méthode permet de déterminer le pH des caséinates.

2. DÉFINITION

Le pH des caséinates : le pH, à 20 °C, d'une solution de caséinate, déterminé selon la méthode décrite ci-après.

3. PRINCIPE

Détermination électrométrique du pH d'une solution de caséinate à l'aide d'un pH-mètre.

4. RÉACTIFS

L'eau utilisée pour la préparation des réactifs ou pour la réalisation de la méthode (6) doit être de l'eau récemment distillée, conservée à l'abri de l'acide carbonique.

4.1. **Solutions-tampons** pour l'étalonnage du pH-mètre (5.2)

Deux solutions-tampons étalons ayant des valeurs de pH à 20 °C, connues à la seconde décimale près et encadrant la valeur de pH de l'échantillon à analyser, par exemple, une solution-tampon au phtalate, de pH voisin de 4, et une solution-tampon au borax, de pH voisin de 9.

5. APPAREILLAGE

5.1. **Balance,** sensibilité 0,1 g.

5.2. **pH-mètre**

Sensibilité minimale : 0,05 pH, muni d'une électrode en verre appropriée et d'une électrode au calomel ou d'une autre électrode de référence.

5.3. **Thermomètre**

Précision : 0,5 °C.

5.4. **Fiole conique**

Capacité 100 ml, munie d'un bouchon en verre rodé.

5.5. **Bécher,** d'une capacité de 50 ml.

5.6. **Mélangeur**

5.7. **Bécher**

Pour mélangeur (5.6) d'une capacité d'au moins 250 ml.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. **Préparation de l'échantillon pour essai**

Se reporter au chapitre « Dispositions générales » point 1.2.

6.2. **Détermination**

6.2.1. *Étalonnage du pH-mètre*

Amener la température des solutions-tampons (4.1) à 20 °C et régler le pH-mètre conformément aux instructions du fabricant.

Notes

1. Le réglage doit être effectué tandis que les fioles coniques sont au repos pendant 20 minutes (6.2.2).
2. Si l'analyse doit porter sur une série d'échantillons, vérifier le règlage du pH-mètre au moins toutes les 30 minutes avec une ou plusieurs solutions-tampons étalon.

6.2.2. *Préparation de la solution d'essai*

Dans le bécher (5.6) introduire 95 ml d'eau, ajouter 5,0 g de l'échantillon pour essai (6.1) et mélanger à l'aide du mélangeur (5.5) pendant 30 secondes.

Laisser reposer pendant 20 minutes à 20 °C environ, le bécher étant recouvert d'un verre de montre.

6.2.3. *Mesure du pH*

6.2.3.1. Verser 20 ml environ de la solution dans le bécher (5.5) et déterminer immédiatement le pH de ce liquide au moyen du pH-mètre (5.2) après avoir soigneusement rincé à l'eau les électrodes.

6.2.3.2. Mesurer le pH.

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. **Lecture du pH**

Noter la valeur lue sur le cadran du pH-mètre avec au moins deux décimales, qui correspond au pH de la solution de caséinate.

7.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, dans les mêmes conditions, et par le même analyste, ne doit pas excéder 0,05 unité pH.

Cette valeur a une probabilité de ne pas être dépassée dans 95 % des cas.