II

(Nicht veröffentlichungsbedürftige Rechtsakte)

KOMMISSION

ERSTE RICHTLINIE DER KOMMISSION

vom 25. Oktober 1985

zur Festlegung der Gemeinschaftsmethoden für die Analysen von Nährkaseinen und Nährkaseinaten

(85/503/EWG)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 83/417/EWG des Rates vom 25. Juli 1983 zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über bestimmte Milcherzeugnisse (Kaseine und Kaseinate) für die menschliche Ernährung (1), insbesondere auf Artikel 9 Buchstabe b),

in Erwägung nachstehender Gründe :

Nach Artikel 9 Buchstabe b) der Richtlinie 83/417/EWG sind die Gemeinschaftsanalysenmethoden für die Überprüfung der Zusammensetzung von Nährkaseinen und -kaseinaten festzulegen.

Es ist möglich, eine erste Reihe solcher Methoden, für die die entsprechenden Vorarbeiten abgeschlossen sind, festzulegen.

Die in dieser Richtlinie vorgesehenen Maßnahmen entsprechen der Stellungnahme des Ständigen Lebensmittelausschusses —

HAT FOLGENDE RICHTLINIE ERLASSEN :

Artikel 1

Die Mitgliedstaaten treffen alle erforderlichen Maßnahmen, um zu gewährleisten, daß die zur Überprüfung der in Anhang I festgelegten Kriterien erforderlichen Analysen nach den in Anhang II beschriebenen Methoden durchgeführt werden.

Artikel 2

Die Mitgliedstaaten erlassen die erforderlichen Rechts- und Verwaltungsvorschriften, um dieser Richtlinie spätestens am 1. Mai 1987 nachzukommen ; sie setzen die Kommission unverzüglich davon in Kenntnis.

Artikel 3

Diese Richtlinie ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 25. Oktober 1985

Für die Kommission

COCKFIELD

Vizepräsident

(1) ABl. Nr. L 237 vom 26. 8. 1983, S. 25.

ANHANG I

ANWENDUNGSBEREICH DER ERSTEN GEMEINSCHAFTSANALYSENMETHODEN-RICHTLINIE FÜR NÄHRKASEINE UND NÄHRKASEINATE

I. **Allgemeine Bestimmungen**

II. **Bestimmung des Wassergehalts in**

— Säurekaseinen nach Methode 1, Anhang II

— Labkaseinen nach Methode 1, Anhang II

— Kaseinaten nach Methode 1, Anhang II

III. **Bestimmung des Eiweißgehalts in**

— Säurekaseinen nach Methode 2, Anhang II

— Labkaseinen nach Methode 2, Anhang II

— Kaseinaten nach Methode 2, Anhang II

IV. **Bestimmung der titrierbaren Säure in**

— Säurekaseinen nach Methode 3, Anhang II

V. **Bestimmung der Aschen (P_2O_5 eingeschlossen) in**

— Säurekaseinen nach Methode 4, Anhang II

— Labkaseinen nach Methode 5, Anhang II

VI. **Bestimmung des pH-Wertes in**

— Kaseinaten nach Methode 6, Anhang II

ANHANG II

ANALYSENMETHODEN ZUR PRÜFUNG DER ZUSAMMENSETZUNG VON NÄHRKASEINEN UND NÄHRKASEINATEN

ALLGEMEINE BESTIMMUNGEN

1. VORBEREITUNG DER ANALYSENPROBE

1.1. **Allgemeines**

Die Masse der dem Laboratorium zur Analyse zur Verfügung zu stellenden Probe soll mindestens 200 g betragen.

1.2. **Vorbereitung der Probe für die Analyse im Laboratorium**

1.2.1. Die Probe wird sorgfältig gemischt und sämtliche Klumpen werden zerkleinert, indem der Behälter ständig geschüttelt und gedreht wird (soweit erforderlich wird die gesamte Probe zu diesem Zweck in einen luftdichten Behälter mit ausreichendem Fassungsvermögen (das doppelte Volumen der Probe) gegeben).

1.2.2. In das Testsieb (3.3) wird eine repräsentative Menge — z. B. etwa 50 g — der gründlich gemischten Probe (1.2.1) eingegeben.

1.2.3. Wenn die 50 g das Sieb (3.3) vollständig oder fast vollständig passieren (mindestens 95 % des Gewichts) wird sie gemäß 1.2.1 eingegeben.

1.2.4. Andernfalls wird die 50-g-Menge mit der Mahlvorrichtung (3.4) so lange zerkleinert, bis sie dem Siebkriterium (1.2.3) entspricht. Die gesiebte Probe wird sofort vollständig in einen luftdichten Behälter mit ausreichendem Fassungsvermögen (das doppelte Volumen der Probe) gegeben und unter ständigem Schütteln und Drehen gemischt. Während dieser Vorgänge ist darauf zu achten, daß der Feuchtigkeitsgehalt der Probe nicht verändert wird.

1.2.5. Wenn die Versuchsprobe vorbereitet ist, sollte die Bestimmung sobald wie möglich durchgeführt werden.

1.3. **Behälter**

Die Probe ist stets in einem luftdichten und feuchtigkeitsdichten Behälter aufzubewahren.

2. REAGENZIEN

2.1. **Wasser**

2.1.1. Wo immer Wasser für die Lösung, die Verdünnung oder das Waschen erwähnt wird, ist destilliertes Wasser oder entmineralisiertes Wasser von mindestens gleicher Reinheit zu verwenden.

2.1.2. Wo immer „Lösung" oder „Verdünnung" ohne weitere Angaben erwähnt werden, ist „Lösung in Wasser" oder „Verdünnung mit Wasser" gemeint.

2.2. **Chemikalien**

Alle verwendeten Chemikalien müssen von p. a. Qualität sein, sofern nichts anderes angegeben wird.

3. GERÄTE

3.1. **Liste**

Die Auflistung der Geräte enthält nur Gegenstände mit einem besonderen Verwendungszweck und solche mit einer besonderen Spezifikation.

3.2. **Analysenwaage**

Analysenwaage bedeutet eine Waage mit einer Ablesegenauigkeit von mindestens 0,1 · mg.

3.3. **Kontrollsieb**

Kontrollsiebe aus Metallgewebe, mit einem Deckel verschlossen, Durchmesser 200 mm, bestehend aus Drahtgewebe mit einer Nennmaschenweite von 500 µm. Die zulässigen Gerätetoleranzen und Drahtdurchmesser sind in der ISO-Norm 3310/1 angegeben (Kontrollsiebe — Technische Anforderungen und Prüfung — Teil 1 : Metalldrahtgewebe — ISO 3310/1 — 1975).

Die Siebe sind mit einem Auffangbehälter auszustatten.

3.4. **Mahlvorrichtung**

mit der erforderlichenfalls (siehe 1.2.4) die Laborprobe ohne exzessive Erwärmung und Feuchtigkeitsverlust oder -absorption zerkleinert werden kann. Ein Hammermahlwerk sollte nicht verwendet werden.

4. ANGABE DER ERGEBNISSE

4.1. **Ergebnisse**

Das im Analysenbericht angegebene Ergebnis stellt den Mittelwert aus mindestens zwei Bestimmungen dar, deren Wiederholbarkeit für die jeweilige Methode zufriedenstellend ist.

4.2. **Berechnung in Prozentsätzen**

Sofern nichts anderes vorgeschrieben ist, wird das Ergebnis in Masseprozent angegeben.

5. PRÜFBERICHT

Im Prüfbericht sind die Analysenmethode und die erhaltenen Ergebnisse anzugeben. Zusätzlich sind alle Verfahrensdetails anzugeben, die in der Analysenmethode nicht spezifiziert oder die wahlweise zugelassen sind, sowie alle Umstände, die möglicherweise das erhaltene Ergebnis beeinflußt haben. Der Prüfbericht muß alle für die vollständige Identifizierung der Probe erforderlichen Angaben enthalten.

METHODE 1

BESTIMMUNG DES WASSERGEHALTS

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode dient zur Bestimmung des Wassergehalts von

— Säurekaseinen,
— Labkaseinen,
— Kaseinaten.

2. DEFINITION

Feuchtigkeitsgehalt von Kaseinen und Kaseinaten : der nach der beschriebenen Methode bestimmte Masseverlust.

3. PRINZIP

Nach Trocknen unter normalem Luftdruck im Trockenschrank bei 102 °C ± 1 °C zur konstanten Masse wird die Rückstandsmasse der Probe bestimmt. Der Masseverlust wird in Prozent zur Masse der Probe berechnet.

4. GERÄTE

4.1. **Analysenwaage**

4.2. **Wägeschalen** mit flachem Boden und aus unter den Versuchsbedingungen nicht rostendem Material, z. B. Nickel, Aluminium, Rostfreistahl oder Glas. Die Schalen müssen Deckel haben, die dicht schließen, jedoch leicht abgenommen werden können. Geeignete Abmessungen sind : Durchmesser 60 bis 80 mm und Tiefe etwa 25 mm.

4.3. **Trockenschrank mit normalem Luftdruck,** gut belüftet, thermostatgeregelt für eine Temperatur von 102 °C ± 1 °C. Die Temperatur soll im ganzen Trockenschrank gleichmäßig sein.

4.4. **Exsikkator** mit frisch aktiviertem, einen Feuchtigkeitsindikator enthaltende Silicagel oder einem gleichwertigen Trockenmittel.

4.5. **Geeignetes Gerät für die Manipulation der Schalen,** z. B. Laborzangen.

5. DURCHFÜHRUNG

5.1. **Vorbereitung der Analysenprobe**

Beschreibung siehe Punkt 1.2 der Allgemeinen Bestimmungen.

5.2. **Vorbereitung der Wägeschale**

5.2.1. Die abgedeckte Wägeschale und ihr Deckel (4.2) werden in dem auf 102 °C ± 1 °C geregelten Trockenschrank (4.3) mindestens eine Stunde lang erhitzt.

5.2.2. Dann wird der Deckel auf die Schale aufgesetzt und die abgedeckte Schale in den Exsikkator (4.4) eingesetzt, in dem man sie auf die Temperatur des Wägeraums abkühlen läßt; anschließend wird auf 0,1 mg genau gewogen (M_0)

5.3. **Versuchsmenge**

3 bis 5 g der Versuchsprobe (5.1) werden in die Schale eingewogen, diese mit dem Deckel abgedeckt und die Schale mit Inhalt auf 0,1 mg genau gewogen (M_1).

5.4. **Bestimmung**

5.4.1. Die Schale wird abgedeckt und zusammen mit dem Deckel in den auf 102 °C ± 1 °C geregelten Trokkenschrank für eine Trockenzeit von vier Stunden eingesetzt.

5.4.2. Der Deckel wird wieder auf die Schale aufgesetzt und diese in den Exsikkator gestellt, in dem man sie auf die Temperatur des Wägeraums abkühlen läßt; dann wird sie auf 0,1 mg genau gewogen.

5.4.3. Anschließend wird die Schale abgedeckt und zusammen mit dem Deckel im Trockenschrank eine Stunde lang erhitzt. Anschließend wird Punkt 5.4.2 wiederholt.

5.4.4. Ist die nach Punkt 5.4.3 erhaltene Masse mehr als 1 mg geringer als die nach Punkt 5.4.2 erhaltene Masse, so ist Punkt 5.4.3 zu wiederholen.

Tritt eine Erhöhung der Masse ein, so ist die niedrigste festgehaltene Masse in die Berechnung (6.1) einzusetzen.

Die endgültig festgehaltene Masse ist m_2 g.

Die gesamte Trockenzeit sollte normalerweise sechs Stunden nicht überschreiten.

6. AUSWERTUNG

6.1. **Berechnung**

Der beim Trocknen eingetretene Masseverlust wird mittels nachstehender Formel berechnet und in Masseprozent ausgedrückt:

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

wobei M_0 = Masse in g der Schale und des Deckels nach Durchführung von 5.2,

M_1 = Masse in g der Schale, des Deckels und der Probe vor dem Trocknen (5.3),

M_2 = Masse in g der Schale, des Deckels und der Probe nach dem Trocknen 5.4.3 oder 5.4.4).

Der beim Trocknen eingetretene Masseverlust ist auf 0,01 % genau zu berechnen.

6.2. **Wiederholbarkeit**

Die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Bestimmungen, die gleichzeitig oder unmittelbar nacheinander von demselben Untersucher an der gleichen Probe und unter denselben Bedingungen durchgeführt worden sind, darf 0,1 g Wassergehalt pro 100 g des Erzeugnisses nicht überschreiten.

Diese Spanne sollte in 95 von 100 Bewertungen nicht überschritten werden.

METHODE 2

BESTIMMUNG DES EIWEISSGEHALTS

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode dient zur Bestimmung des Eiweißgehalts von

— Säurekaseinen,

— Labkaseinen,

— Kaseinaten,

ausgenommen von Kaseinaten, die Ammoniumkaseinat oder andere Ammonium- oder Stickstoffverbindungen enthalten.

2. DEFINITION

Eiweißgehalt : Der nach dieser Methode bestimmte Stickstoffgehalt, multipliziert mit dem Faktor 6,38, ausgedrückt in Massenprozent.

3. PRINZIP

Eine bekannte Menge der Probe wird mit einer Mischung von Kaliumsulfat und Schwefelsäure unter Verwendung von Kupfer (II)-Sulfat als Katalysator aufgeschlossen, um den organischen Stickstoff in ammoniakalischen Stickstoff umzusetzen. Das Ammoniak wird destilliert und in Borsäurelösung absorbiert, dann mit Salzsäure-Standardlösung titriert. Der Stickstoffgehalt wird durch Multiplikation mit dem Faktor 6,38 in den Eiweißgehalt umgerechnet.

4. REAGENZIEN

4.1. **Schwefelsäure, konzentriert,** S_{20}1,84 g/ml.

4.2. **Kaliumsulfat, wasserfrei** (K_2SO_4).

4.3. **Kupfer(II)-Sulfat-Pentahydrat** ($CuSO_45H_2O$).

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

4.5. **Borsäure,** 40 g/l-Lösung.

4.6. **Natriumhydroxid,** konzentrierte wäßrige Lösung 30 % m/m, frei von Karbonat.

4.7. **Salzsäure,** 0,1 mol/1.

4.8. **Indikatorgemisch** : Hierzu werden gleiche Volumen von 2 g/l-Methylrotlösung in mindestens 95 % v/v Äthanol und 1 g/l-Lösung von Methylenblau in mindestens 95 % v/v Äthanol gemischt.

5. GERÄTE

5.1. **Analysenwaage**

5.2. **Kjeldahl-Kolben,** 500 ml.

5.3. **Aufschlußgerät** zum Festlegen des Kjeldahl-Kolbens (5.2) in geneigter Stellung und mit einer Erwärmungsvorrichtung, mit der vermieden werden kann, daß der Teil des Kolbens oberhalb des Flüssigkeitsspiegels erhitzt wird.

5.4. **Kondensator** mit gerader innerer Röhre.

5.5. **Ablaufrohr mit Sicherheitsbuchtung,** welches an das untere Ende des Kondensators (5.4) mit Hilfe einer Glasschliffverbindung oder eines Gummirohrs angeschlossen ist. Sofern eine Gummiverbindung verwendet wird, sollte sie nicht zu lang sein.

5.6. **Spritzaufsatz,** der an den Kjeldahl-Kolben (5.2) und den Kondensator (5.4) mit einem weichen, dichtschließenden Stopfen aus Gummi oder einem anderen geeigneten Material angeschlossen ist.

5.7. **Erlenmeyerkolben,** 500 ml.

5.8. **Meßzylinder,** 50 ml und 100 ml.

5.9. **Bürette,** 50 ml, Maßeinteilung 0,1 ml.

5.10. **Siedehilfen**

5.10.1. Für den Aufschluß : kleine Stücke Hartporzellan oder Glasperlen.

5.10.2. Für die Destillation : frische Bimssteinstückchen.

6. DURCHFÜHRUNG

6.1. **Vorbereitung der Probe**

Beschreibung siehe Punkt 1.2 der Allgemeinen Bestimmungen.

6.2. **Versuch zur Prüfung von ammoniakalischem Stickstoff**

Wird das Vorhandensein von Ammoniumkaseinat oder anderen Ammoniumverbindungen vermutet, so ist folgender Vorversuch durchzuführen : zu 1 g Probe werden in einem kleinen Erlenmeyerkolben 10 ml Wasser und 100 mg Magnesiumoxid eingegeben. Alles an den Innenwänden haftende Magnesiumoxid ist in die Lösung einzuspülen und dann der Kolben mit einem Korkstopfen zu verschließen ; zwischen den Korkstopfen und den Flaschenhals wird ein Stück feuchtes rotes Lakmuspapier eingelegt. Der Inhalt des Kolbens wird sorgfältig gemischt und der Kolben im Wasserbad auf 60 bis 65 °C erhitzt. Wenn das Lakmuspapier sich innerhalb von 15 Minuten blau verfärbt, ist Ammoniak vorhanden und die Methode somit nicht anwendbar (siehe Punkt 1).

6.3. **Blindversuch**

Gleichzeitig mit der Bestimmung des Stickstoffgehalts der Probe wird ein Blindversuch mit 0,5 g Saccharose (4.4) anstelle der Probe unter Verwendung des gleichen Geräts, der gleichen Mengen aller Reagenzien und des gleichen Verfahrens wie unter Punkt 6.5 beschrieben durchgeführt. Überschreitet die Titration in der Blindversuchsbestimmung 0,5 ml von 0,1 mol/l-Säure, so sind die Reagenzien zu überprüfen und das (die) verunreinigte(n) Reagenz(ien) zu reinigen oder zu ersetzen.

6.4. **Versuchsprobe**

In dem Kjeldahlkolben (5.2) werden 0,3 bis 0,4 g der Versuchsprobe (6.1) auf 0,1 mg genau eingewogen.

6.5. **Bestimmung**

6.5.1. In den Kolben werden einige Porzellanstückchen oder einige Glasperlen (5.10.1) und etwa 10 g wasserfreies Kaliumsulfat (4.2) eingegeben.

Dann werden 0,2 g Kupfer (II)-Sulfat (4.3) hinzugegeben und der Flaschenhals mit etwas Wasser nachgespült, anschließend 20 ml der konzentrierten Schwefelsäure (4.1) zugegeben. Den Inhalt des Kolbens mischen.

Der Kolben mit Inhalt wird im Aufschlußgerät (5.3) langsam erhitzt, bis jede Schaumbildung unterbleibt. Langsam stärker, bis die Lösung keine schwarzen Partikel mehr enthält und eine blaßgrünblaue Farbe beibehält. Während des Erhitzens des Kolbens gelegentlich durch leichtes Schütteln durchmischen.

Der Siedevorgang muß so geregelt werden, daß die Dämpfe in der Mitte des Flaschenhalses kondensieren. Das Erhitzen wird 90 Minuten lang weitergeführt, wobei jede lokale Überhitzung zu vermeiden ist.

Anschließend läßt man den Kolben mit Inhalt auf Zimmertemperatur abkühlen. Dann werden sorgfältig 200 ml Wasser und einige Bimssteinstückchen (5.10.2) zugegeben, durchgemischt und erneut gekühlt.

6.5.2. In den Erlenmeyerkolben (5.7) werden 50 ml der Borsäurelösung (4.5) und 4 Tropfen des Indikators (4.8) eingegeben und der Inhalt durchgemischt. Der Erlenmeyerkolben wird unter den Kondensator (5.4) gesetzt, so daß das Ende des Ablaufrohrs (5.5) in die Borsäurelösung eintaucht. Mit einem Meßzylinder (5.8) werden 80 ml der Natriumhydroxid-Lösung (4.6) in den Kjeldahlkolben eingefüllt. Während dieses Verfahrensschrittes ist der Kolben in geneigter Stellung zu halten, so daß die Natriumhydroxid-Lösung an der Innenwand des Kolbens entlang zur Bildung einer Bodenschicht einfließen kann.

Dann wird der Kjeldahlkolben sofort mittels des Spritzaufsatzes (5.6) an den Kondensator angeschlossen.

Der Kjeldahlkolben wird sanft gedreht, um den Inhalt zu mischen. Zunächst langsam erwärmen und Schaumbildung verhindern. Dann mit der Destillation weiterfahren, bis 150 ml Destillat in etwa 30 Minuten angesammelt sind. Die Temperatur des Destillats sollte weniger als 25 °C betragen.

Etwa 2 Minuten vor Ende der Destillation wird der Erlenmeyerkolben so abgesenkt, daß das Ende des Ablaufrohrs nicht mehr in die Säurelösung eintaucht ; das Ende mit etwas Wasser spülen. Das Erwärmen wird eingestellt, das Ablaufrohr entfernt, dessen innere und äußere Wände mit etwas Wasser gespült und das Spülwasser in dem Erlenmeyerkolben aufgefangen.

6.5.3. Das Destillat in dem Erlenmeyerkolben wird mit der 0,1 mol/l Salzsäurelösung (4.7) titriert.

7. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

7.1. **Formel und Methode der Berechnung**

Der Eiweißgehalt der Probe, ausgedrückt in Masseprozent, wird mit folgender Formel ermittelt :

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

wobei V_1 = das Volumen in ml der bei der Bestimmung (6.5) verbrauchten volumetrischen n-Salzsäurelösung (4.7),

V_2 = das Volumen in ml der beim Blindversuch (6.3) verbrauchten volumetrischen n-Salzsäurelösung (4.7) in mol/l,

T = die Stärke der volumetrischen n-Salzsäurelösung (4.7) in mol/l,

m = die Masse der Versuchsprobe in g.

Der Eiweißgehalt ist auf 0,1 % genau anzugeben.

7.2. **Wiederholbarkeit**

Die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Bestimmungen, die gleichzeitig oder unmittelbar nacheinander von demselben Untersucher und unter denselben Bedingungen an der gleichen Probe durchgeführt worden sind, darf 0,5 g Eiweiß pro 100 g des Erzeugnisses nicht überschreiten.

Diese Spanne sollte in 95 von 100 Bewertungen nicht überschritten werden.

METHODE 3

BESTIMMUNG DER TITRIERBAREN SÄURE

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode dient zur Bestimmung der titrierbaren Säure in Säurekaseinen.

2. DEFINITION

Titrierbare Säure: Das in ml gemessene Volumen einer 0,1 mol/l Natriumhydroxid-Lösung, das zur Neutralisierung eines wäßrigen Extrakts von 1 g des Erzeugnisses erforderlich ist.

3. PRINZIP

Ein wäßriger Extrakt der Probe wird bei 60 °C entnommen und filtriert. Das Filtrat wird in einer natriumhydroxid-Standardlösung unter Verwendung eines Phenolphthaleinindikators titriert.

4. REAGENZIEN

Das für das Verfahren oder die Zubereitung von Reagenzien benötigte Wasser wird zuvor durch zehnminütiges Kochen von Kohlendioxid befreit.

4.1. **Natriumhydroxidlösung,** 0,1 mol/l.

4.2. **Phenolphthalein-Indikatorlösung,** 10 g/l in Äthanol (95 % v/v) zum Indikator neutralisiert.

5. GERÄTE

5.1. **Analysenwaage**

5.2. **Erlenmeyerkolben,** 500 ml, mit Schliffstopfen.

5.3. **Pipette,** auf 100 ml markiert.

5.4. **Pipette,** geeignet zur Abmessung von 0,5 ml der Indikatorlösung (4.2).

5.5. **Erlenmeyerkolben,** 250 ml.

5.6. **Meßzylinder,** 250 ml.

5.7. **Bürette** mit Maßeinteilung 0,1 ml.

5.8. **Wasserbad,** regelbar auf eine Temperatur von 60 ± 2 °C.

5.9. **Geeignete Filter**

6. VERFAHREN

6.1. **Vorbereitung der Versuchsprobe**

Beschreibung siehe Punkt 1.2 der Allgemeinen Bestimmungen.

6.2. **Versuchsprobe**

Etwa 10 g der Probe (6.1) werden auf die nächsten 10 mg genau abgewogen und in den Erlenmeyerkolben (5.2) eingegeben.

6.3. **Bestimmung**

Mit dem 250-ml-Meßzylinder (5.6) werden 200 ml des frisch abgekochten und gekühlten Wassers nach vorherigem Erhitzen auf 60 °C in den Erlenmeyerkolben eingefüllt. Den Kolben verschließen, durch Schütteln mischen und in das auf 60 °C eingestellte Wasserbad (5.8) 30 Minuten lang einsetzen. Den Kolben in Abständen von etwa 10 Minuten schütteln.

Filtrieren und das Filtrat auf etwa 20 °C abkühlen ; das Filtrat muß klar sein.

100 ml des gekühlten Filtrats mit der Pipette (5.3) in den Erlenmeyerkolben (5.5) geben. Mit der Pipette (5.4) 0,5 ml Phenol-phthalein-Indikatorlösung (4.2) hinzugeben. Mit der volumetrischen Natriumhydroxid-Standardlösung (4.1) titrieren, bis eine zartrosa Färbung eintritt, die mindestens 30 Sekunden lang anhält. Die verwendete Menge auf 0,01 ml genau bestimmen und schriftlich festhalten.

7. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

7.1. **Formel und Berechnungsmethode**

Die titrierbare Säure von Kasein wird mit folgender Formel ermittelt :

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

wobei V = das verbrauchte Volumen der Natriumhydroxid-Standardlösung (4.1) in ml,
T = die Stärke der volumetrischen Natriumhydroxid-Standardlösung (4.1) in mol/l,
m = die Masse der Versuchsprobe in g ist.

Die titrierbare Säure wird auf zwei Dezimalstellen genau berechnet.

7.2. **Wiederholbarkeit**

Die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Bestimmungen, die gleichzeitig oder unmittelbar nacheinander von demselben Untersucher und unter denselben Bedingungen mit der gleichen Probe durchgeführt worden sind, darf 0,02 ml des 0,1 mol/l-Natriumhydroxids pro g des Erzeugnisses nicht überschreiten.

Diese Spanne sollte in 95 von 100 vorschriftsmäßig durchgeführten Bewertungen nicht überschritten werden.

METHODE 4

BESTIMMUNG DER ASCHE (P_2O_5 eingeschlossen)

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Die Methode dient zur Bestimmung des Gehalts an Asche (P_2O_5 eingeschlossen) in Säurekaseinen.

2. DEFINITION

Gehalt an Asche (P_2O_5 eingeschlossen) : Der nach der nachstehend beschriebenen Methode bestimmte Gehalt an Asche.

3. PRINZIP

Eine Versuchsprobe wird bei 825 ± 25 °C in Gegenwart von Magnesiumacetat zur Bindung des gesamten Phosphors organischen Ursprungs verascht. Die verbleibende Asche wird nach Wiegen des Rückstands und Subtraktion der vom Magnesiumacetat herrührenden Aschenmasse berechnet.

4. REAGENZIEN

4.1. **Magnesiumacetat-Tetrahydrat-Lösung**, 120 g/l.
120 g des Magnesiumacetat-Tetrahydrats [$Mg(CH_3CO_2)_2 \cdot 4H_2O$] in Wasser auflösen und mit Wasser zu 1 Liter auffüllen.

5. GERÄTE

5.1. **Analysenwaage**

5.2. **Pipette** mit Markierung 5 ml.

5.3. **Wägeschalen aus Siliziumoxid oder Platin**, Durchmesser etwa 70 mm, Tiefe 25 bis 50 mm.

5.4. **Trockenschrank**, regelbar auf 102 ± 1 °C.

5.5. **Elektroofen** regelbar auf 825 ± 25 °C.

5.6. **Kochendes Wasserbad**

5.7. **Exsikkator** mit frisch aktiviertem Silicagel, mit einem Indikator für den Wassergehalt, oder einem gleichwertigen Trockenmittel.

6. VERFAHREN

6.1. **Vorbereitung der Versuchsprobe**

Beschreibung siehe Punkt 1.2 der Allgemeinen Bestimmungen.

6.2. **Vorbereitung der Wägeschalen**

Zwei Wägeschalen werden in dem auf 825 ± 25 °C eingestellten Elektroofen (5.5) 30 Minuten lang erhitzt. Anschließend die Wägeschalen im Exsikkator (5.7) auf die Temperatur des Wägeraums abkühlen lassen und auf 0,1 mg genau wiegen.

6.3. **Versuchsmenge**

In die auf diese Weise vorbereitete Wägeschale (A) werden etwa 3 g der Versuchsprobe (6.1) auf 0,1 mg genau eingewogen.

6.4. **Bestimmung**

Mit der Pipette (5.2) werden zu der Schale (A) genau 5 ml Magnesiumacetatlösung (4.1) zugegeben, so daß die ganze Versuchsmenge durchfeuchtet wird ; anschließend läßt man sie 20 Minuten lang stehen.

In die andere der vorbereiteten Wägeschalen (B) werden mit der Pipette (5.2) genau 5 ml Magnesiumacetatlösung (4.1) eingegeben.

Den Inhalt beider Wägeschalen (A und B) im kochenden Wasserbad (5.6) zur Trockne verdampfen.

Beide Wägeschalen 30 Minuten lang in den auf 102 ± 1 °C eingestellten Trockenschrank (5.4) einsetzen.

Die Schale A mit ihrem Inhalt auf kleiner Flamme auf einer heißen Platte oder unter einer I/R-Lampe erhitzen, bis die Versuchsmenge völlig verkohlt ist. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Inhalt nicht entflammt.

Beide Schalen (A und B) in den auf 825 ± 25 °C eingestellten Elektroofen (5.5) einsetzen und mindestens 1 Stunde lang im Ofen belassen, bis alle Kohle aus der Schale A verschwunden ist. Die beiden Schalen im Exsikkator (5.7) auf die Temperatur des Wägeraums abkühlen lassen und auf 0,1 mg genau wiegen.

Das Erhitzen im Elektroofen (5.5), die Abkühlung und das Wiegen werden wiederholt, bis die Masse auf 1 mg genau konstant bleibt oder zuzunehmen beginnt. Die kleinste Masse wird notiert.

7. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

7.1. **Berechnungsmethode**

Der Gehalt an Asche (P_2O_5 eingeschlossen) wird in Masseprozent mittels folgender Formel berechnet :

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

wobei m_0 = die Masse der Testmenge in g,
m_1 = die Masse der Schale A und des Rückstands in g,
m_2 = die Masse der vorbereiteten Schale A in g,
m_3 = die Masse der Schale B und des Rückstands in g,
m_4 = die Masse der vorbereiteten Schale B in g.

Das Ergebnis wird auf 0,01 % genau angegeben.

7.2. **Wiederholbarkeit**

Die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Bestimmungen, die gleichzeitig oder unmittelbar nacheinander von derselben Untersuchung und unter denselben Bedingungen an der gleichen Probe durchgeführt worden sind, darf 0,1 g pro 100 g des Erzeugnisses nicht überschreiten.

Diese Spanne sollte in 95 von 100 vorschriftsmäßig durchgeführten Bewertungen nicht überschritten werden.

METHODE 5

BESTIMMUNG DER ASCHE (P_2O_5 eingeschlossen)

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode dient zur Bestimmung des Aschengehalts in Labkaseinen.

2. DEFINITION

Aschengehalt (P_2O_5 eingeschlossen): Der nach dieser Methode bestimmte Gehalt an Aschen.

3. PRINZIP

Eine bekannte Menge der Probe wird bei 825 ± 25 °C bis zur Gewichtskonstanz verascht. Der Rückstand wird durch Wägen bestimmt und als Masseprozent der Probe berechnet.

4. GERÄTE

4.1. **Analysenwaage**

4.2. **Wägeschalen aus Siliziumoxid oder Platin**, Durchmesser etwa 70 mm und Tiefe 25 bis 50 mm.

4.3. **Elektroofen** mit Luftzirkulation, regelbar auf 825 ± 25 °C.

4.4. **Exsikkator** mit frisch aktiviertem Silicagel mit einem Wassergehaltindikator, oder einem gleichwertigen Trockenmittel.

5. VERFAHREN

5.1. **Vorbereitung der Versuchsprobe**

Beschreibung siehe Punkt 1.2 der Allgemeinen Bestimmungen.

5.2. **Vorbereitung der Wägeschale**

Die Wägeschale in dem auf 825 ± 25 °C eingestellten Elektroofen (4.3) 30 Minuten lang erhitzen. Danach läßt man sie im Exsikkator (4.4) auf die Temperatur des Wägeraums abkühlen und wiegt sie auf 0,1 mg genau.

5.3. **Versuchsmenge**

In die auf diese Weise vorbereitete Wägeschale werden direkt oder durch Differenzwägung etwa 3 g der Versuchsprobe (5.1) auf 0,1 mg genau eingewogen.

5.4. **Bestimmung**

Die Wägeschale mit ihrem Inhalt wird auf kleiner Flamme oder unter einer IR-Lampe bis zur vollständigen Verkohlung der Versuchsmenge erhitzt; dabei ist darauf zu achten, daß sich der Inhalt nicht entflammt.

Als nächstes wird die Wägeschale in den auf 825 ± 25 °C eingestellten Elektroofen (4.3) eingesetzt und mindestens eine Stunde lang bis zum vollständigen Verschwinden der Kohle in der Wägeschale erhitzt. Dann läßt man die Wägeschale im Exsikkator (4.4) auf die Temperatur des Wägeraums abkühlen und wiegt sie auf 0,1 mg genau.

Das Erhitzen im Elektroofen (4.3), die Abkühlung und das Wägen werden wiederholt bis die Masse auf 1 mg genau konstant bleibt oder zuzunehmen beginnt. Die kleinste Masse wird notiert.

6. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

6.1. **Formel und Berechnungsmethode**

Der Aschengehalt der Probe wird in Masseprozent ausgedrückt; dieser Prozentsatz wird durch folgende Formel erhalten:

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

wobei m_0 = die Masse der Versuchsmenge in mg,
m_1 = die Masse der Wägeschale und des Rückstands in mg,
m_2 = die Masse der Wägeschale in mg.

Das Ergebnis wird auf 0,01 % genau angegeben.

6.2. **Wiederholbarkeit**

Die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Bestimmungen, die gleichzeitig oder unmittelbar nacheinander von demselben Untersucher und unter denselben Bedingungen an der gleichen Probe durchgeführt worden sind, darf 0,15 g Asche pro 100 g des Erzeugnisses nicht überschreiten. Diese Spanne sollte in 95 von 100 vorschriftsgemäß durchgeführten Bewertungen nicht überschritten werden.

METHODE 6

BESTIMMUNG DES pH-WERTES

1. ZWECK UND ANWENDUNGSBEREICH

Diese Methode dient zur Bestimmung des pH-Wertes von Kaseinaten.

2. DEFINITION

pH-Wert von Kaseinaten : Der nach dieser Methode bestimmte pH-Wert einer wäßrigen Lösung von Kaseinaten bei 20 °C.

3. PRINZIP

Elektrometrische Bestimmung des pH-Wertes einer wäßrigen Lösung von Kaseinat unter Anwendung eines pH-Meters.

4. REAGENZIEN

Das für die Zubereitung der Reagenzien oder im Rahmen des Verfahrens (6) verwendete Wasser soll kurz vorher destilliert und gegen Kohlendioxid-Absorption geschützt worden sein.

4.1. **Puffer-Lösungen** für die Kalibrierung des pH-Meters (5.2)

Zwei Standard-Pufferlösungen mit pH-Werten bei 20 °C mit bekannter Genauigkeit bis zur zweiten Dezimalstelle, deren pH-Werte niedriger und höher als der pH-Wert der zu untersuchenden Probe sind, z. B. Phthalat-Pufferlösung mit einem pH-Wert von annähernd 4 und eine Borax-Pufferlösung mit einem pH-Wert von annähernd 9.

5. GERÄTE

5.1. **Waage,** Ablesegenauigkeit 0,1 mg.

5.2. **pH-Meßgerät,** Anzeigeempfindlichkeit von 0,05 pH-Einheiten, mit einer entsprechend geeichten Glas-, Calomel- oder sonstigen Bezugselektrode.

5.3. **Thermometer,** Ablesegenauigkeit 0,5 °C.

5.4. **Erlenmeyerkolben,** 100 ml, mit geschliffenem Glasstopfen.

5.5. **Becherglas,** 50 ml.

5.6. **Rührer**

5.7. **Becherglas für den Rührer** (5.6), Fassungsvermögen mindestens 250 ml.

6. VERFAHREN

6.1. **Vorbereitung der Versuchsprobe**

Beschreibung siehe Punkt 1.2 der Allgemeinen Bestimmungen.

6.2. **Bestimmung**

6.2.1. *Eichen des Meßgeräts*

Die Temperatur der Pufferlösungen (4.1) wird auf 20 °C eingestellt und das pH-Meßgerät nach Anweisung des Herstellers geeicht.

Bemerkungen

1. Zur Eichung wird die Elektrode 20 Minuten lang in die stehenden Flaschen eingesetzt (6.2.2).
2. Wenn eine Probenreihe untersucht wird, so ist die Eichung des pH-Meßgeräts mit einer oder mehreren der Standard-Pufferlösungen mindestens alle 30 Minuten zu wiederholen.

6.2.2. *Vorbereitung der Versuchslösung*

In das Becherglas (5.7) 95 ml Wasser überführen, 5 g der Versuchsprobe (6.1) hinzugeben und mit dem Rührer (5.6) 30 Sekunden lang mischen.

20 Minuten lang bei 20 °C abstellen ; hierbei wird das Becherglas mit einem Uhrglas abgedeckt.

6.2.3. *Messung des pH-Wertes*

6.2.3.1. Etwa 20 ml der Lösung in das Becherglas (5.5) eingeben und sofort den pH-Wert dieser Flüssigkeit mit dem pH-Meßgerät (5.2) bestimmen ; die Glaselektrode des pH-Meßgeräts ist zuvor sorgfältig mit Wasser zu spülen.

6.2.3.2. Den pH-Wert messen.

7. AUSWERTUNG

7.1. **Feststellung des pH-Wertes**

Als der pH-Wert einer wäßrigen Lösung von Kaseinat wird der Wert von der Skala des pH-Meßgeräts auf mindestens zwei Dezimalstellen genau abgelesen und festgehalten.

7.2. **Wiederholbarkeit**

Die Differenz zwischen den Ergebnissen zweier Bestimmungen, die gleichzeitig oder unmittelbar nacheinander von demselben Untersucher an derselben Probe und unter denselben Bedingungen durchgeführt worden sind, darf 0,05 pH-Einheiten nicht überschreiten.

Diese Spanne sollte in 95 von 100 vorschriftsmäßig durchgeführten Bewertungen nicht überschritten werden.