385L0503

PRIMERA DIRECTIVA DE LA COMISIÓN

de 25 de octubre de 1985

relativa a métodos de análisis de caseínas y caseinatos alimentarios

(85/503/CEE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Visto la Directiva 83/417/CEE del Consejo, de 25 de julio de 1983, relativa a la aproximación de legislaciones de los Estados miembros sobre ciertas lactoproteínas (caseínas y caseinatos) destinadas a la alimentación humana [1], y en particular la letra b) de su artículo 9,

Considerando que la letra b) del artículo 9 de la Directiva 83/417/CEE exige la determinación de métodos de análisis comunitarios a fin de controlar la composición de ciertas cafeínas y cafeinatos alimentarios;

Considerando que es posible adoptar una primera serie de métodos para los que se han efectuado los correspondientes estudios;

Considerando que las medidas establecidas por la presente Directiva concuerdan con el dictamen del Comité permanente de géneros alimentarios,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Los Estados miembros tomarán todas las medidas que se precisen a fin de garantizar que los análisis necesarios para la verificación de los criterios indicados en el Anexo I se efectúen conforme a los métodos descritos en el Anexo II.

Artículo 2

Los Estados miembros aplicarán las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas necesarias para cumplir la presente Directiva a más tardar el 1 de mayo de 1987, e informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 25 de octubre de 1985.

Por la Comisión

COCKFIELD

Vicepresidente

[1] DO nº L 237 de 26. 8. 1983, p. 25.

ANEXO I

OBJETO DE LA PRESENTE DIRECTIVA COMUNITARIA SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE CASEÍNAS Y CASEINATOS ALIMENTARIOS

I. **Disposiciones generales**

II. **Determinación del contenido en humedad de:**

— las caseínas ácidas, por el método 1, Anexo II

— las caseínas — cuajos, por el método 1, Anexo II

— los caseinatos, por el método 1, Anexo II

III. **Determinación del contenido en proteínas de:**

— las caseínas ácidas, por el método 2, Anexo II

— las caseínas — cuajos, por el método 2, Anexo II

— los caseinatos, por el método 2, Anexo II

IV. **Determinación de la acidez valorable de:**

— las caseínas ácidas, por el método 3, Anexo II

V. **Determinación de cenizas (P_2O_5) incluido) de:**

— las caseínas ácidas, por el método 4, Anexo II

— las caseínas — cuajos, por el método 5, Anexo II

VI. **Determinación del pH de:**

— los caseinatos, por el método 6, Anexo II

ANEXO II

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN DE CASEÍNAS Y CASEINATOS ALIMENTARIOS

DISPOSICIONES GENERALES

1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE ANÁLISIS

1.1. **Observación general**

La masa de la muestra presentada al laboratorio a efectos de su análisis debe ser de 200 g como mínimo.

1.2. **Preparación de la muestra para el análisis en laboratorio**

1.2.1. Homogeneizar cuidadosamente la muestra de laboratorio, triturar los posibles grumos, sacudiendo y girando con frecuencia el recipiente (si es necesario, tras haber transferido toda la muestra a un recipiente hermético al aire de capacidad doble del volumen de la muestra a fin de poder efectuar esta operación).

1.2.2. Verter en el tamiz 3.3 una parte lo más representativa posible de la muestra cuidadosamente homogeneizada (alrededor de 50 g).

1.2.3. Si la totalidad de los 50 g atraviesa completa o casi completamente el tamiz (un 95 % en peso, como mínimo), utilizar para la determinación la muestra preparada según 1.2.1.

1.2.4. Si no es así, moler los 50 g empleando el dispositivo de moler (3.4) hasta que cumplan el criterio de tamizado (1.2.3). Pasar inmediatamente toda la muestra tamizada a un recipiente hermético al aire de capacidad doble del volumen de la muestra, y homogeneizar cuidadosamente agitando y girando continuamente. Durante estas operaciones, tomar precauciones para evitar toda modificación del contenido en agua del producto.

1.2.5. Tras preparar la muestra para la prueba, proceder todo lo rápidamente posible a la determinación.

1.3. **Recipientes**

La muestra debe mantenerse siempre en un recipiente hermético al aire y a la humedad.

2. REACTIVOS

2.1. **Agua**

2.1.1. El agua utilizada para la preparación de solución, de dilución o de solución de lavado deberá ser agua destilada o agua desmineralizada de pureza al menos equivalente.

2.1.2. Cada vez que se haga referencia a una «solución» o a una «dilución» sin otra indicación, se tratará de una «solución acuosa» o de una «dilución agua».

2.2. Sustancias químicas

Salvo cuando se indique lo contrario, todas las sustancias químicas deberán ser de calidad analítica reconocida.

3. MATERIAL

3.1. **Lista de material**

Las listas de material sólo comprenderán artículos que tengan un empleo determinado y que respondan a características particulares.

3.2. **Balanza analítica**

Se entenderá por balanza analítica una balanza con una precisión de pesada de al menos 0,1 mg.

3.3. **Tamiz**

El tamiz deberá poseer un diámetro de 200 mm e ir provisto de una tapa y un recipiente colector. La tela metálica del tamiz ha de tener una abertura nominal de 500 µm. Las tolerancias de abertura y el diámetro del hilo metálico corresponderán a los valores indicados en la norma ISO/3310/1 (Tamiz para pruebas — normas técnicas y comprobación — primera parte: tela metálica ISO/3310/1 — 1975, o la última edición de esta norma).

3.4. **Dispositivo moledor**

Permite, si es necesario, moler la muestra de laboratorio sin provocar un calor excesivo y sin modificar la humedad (1.2.4). No deberá utilizarse un moledor de martillo.

4. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. **Resultados**

Si se cumplen las condiciones de reproducibilidad aplicables a un método, se tomará como resultado la media aritmética de dos determinaciones.

4.2. **Cálculo de porcentaje**

Salvo cuando se indique lo contrario, deberán calcularse los resultados como porcentaje en masa de la muestra.

5. ACTA DE LA PRUEBA

El acta de la prueba precisará el método analítico empleado y los resultados obtenidos. Incluirá también todos los detalles del procedimiento no previstos en el método analítico o facultativos, así como todas las circunstancias que hayan podido influenciar los resultados obtenidos. El acta de la prueba dará todas informaciones necesarias para la identificación completa de la muestra.

MÉTODO 1

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN HUMEDAD

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente método permite determinar el contenido en humedad de:

— las caseínas ácidas,

— las caseínas — cuajos,

— los caseinatos.

2. DEFINICIÓN

Por contenido en humedad de caseínas y caseinatos se entenderá la pérdida de masa que se obtiene aplicando el método descrito a continuación.

3. PRINCIPIO

Desecación a presión atmosférica, en una estufa a 102 °C ± 1 °C, de una muestra de prueba hasta obtener una masa constante. Se calcula la pérdida de masa como porcentaje en masa de la muestra.

4. EQUIPO

4.1. **Balanza analítica**

4.2. **Cápsulas**

De fondo plano y de material inalterable en las condiciones de la prueba (por ejemplo de níquel, aluminio, acero inoxidable o vidrio). Deben ir provistos de tapas que ajusten perfectamente pero que puedan retirarse rápidamente. Dimensiones adecuadas: diámetro de 60 a 80 mm y profundidad de unos 20 mm.

4.3. **Estufa a presión atmosférica**

Bien ventilada y provista de un dispositivo de termoregulación (temperatura: 102 °C ± 1 °C). La temperatura ha de ser uniforme en todo el interior de la estufa.

4.4. **Desecador**

Deberá contener gel de sílice activado recientemente, provisto de un indicador hidrométrico, o un dispositivo de desecación equivalente.

4.5. **Instrumento para manipular las cápsulas**

Por ejemplo, pinzas de laboratorio.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. **Preparación de la muestra para el ensayo**

Véase el punto 1.2 de las «Disposiciones generales».

5.2. **Preparación de las cápsulas**

5.2.1. Colocar la cápsula destapada y su tapa (4.2) en la estufa (4.3), regulada a 102 °C ± 1 °C, durante al menos una hora.

5.2.2. Colocar la tapa sobre la cápsula, introducir la cápsula así tapada en el desecador (4.4), dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar con precisión de 0,1 mg (m_0).

5.3. **Muestra de prueba**

Introducir de 3 a 5 g de la muestra para pruebas (5.1) en la cápsula, tapar ésta y pesar con precisión de 0,1 mg (m_1).

5.4. **Determinación**

5.4.1. Destapar la cápsula y colocarla junto con la tapa en la estufa, regulada a 102 °C ± 1 °C; dejarla allí durante 4 horas.

5.4.2. Colocar la tapa sobre la cápsula, introducirla en el desecador, dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar con precisión de 0,1 mg.

5.4.3. Destapar la cápsula y colocarla junto con la tapa en la estufa durante una hora. Repetir a continuación la operación descrita en 5.4.2.

5.4.4. Si la masa obtenida según 5.4.3 es inferior en más de 1 mg a la obtenida según 5.4.2, repetir la operación descrita en 5.4.3.

Si se obtiene un aumento de la masa, utilizar para el cálculo la cifra más baja registrada (6.1).

La duración total del secado no sobrepasa por lo general 6 horas.

Designemos como m_2 la masa final registrada, en gramos.

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. **Método de cálculo**

La pérdida de masa de la muestra de prueba, expresada en porcentaje de masa, viene dado por la fórmula siguiente:

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

donde

m_0 = masa en gramos de la cápsula y su tapa tras la operación 5.2,

m_1 = masa en gramos de la cápsula, su tapa y la muestra de prueba antes del secado (5.3),

m_2 = masa en gramos de la cápsula, su tapa y la muestra de prueba tras el secado (5.4.3. o 5.4.4).

Expresar el resultado final con precisión de 0,01 %.

6.2. **Reproducibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente con un breve intervalo sobre la misma muestra, en las mismas condiciones y por el mismo analista, no debe sobrepasar los 0,1 g de humedad por 100 g de producto.

La probabilidad de no sobrepasar este valor es del 95 % de los casos.

MÉTODO 2

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN PROTEÍNAS

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente método permite determinar el contenido en proteínas de:

— las caseínas ácidas,

— las caseínas — cuajos,

— los caseinatos,

con excepción de los caseinatos que contengan amonio u otros compuestos de amonio, o nitrógeno no proteico.

2. DEFINICIÓN

Contenido en proteínas: contenido en nitrógeno determinado por el método aquí decrito, multiplicado por 6,38 y expresado como porcentaje en masa.

3. PRINCIPIO

Se ataca una muestra de prueba con una mezcla de sulfato de potasio y de ácido sulfúrico en presencia de sulfato de cobre (II) como catalizador, a fin de transformar el nitrógeno orgánico en nitrógeno amoniacal. Se destila el amoniaco y se absorbe en una solución de ácido bórico. Se valora mediante una solución estándar de ácido clorhídrico. Se obtiene el contenido en proteínas multiplicando el contenido en nitrógeno por 6,38.

4. REACTIVOS

4.1. **Ácido sulfúrico concentrado,** D_{20} 1,84 g/ml

4.2. **Sulfato de potasio anhidro** (K_2SO_4)

4.3. **Sulfato de cobre (II) pentahidratado** ($CuSO_4$-$5H_2O$)

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

4.5. **Ácido bórico,** solución de 40 g/l.

4.6. **Hidróxido sódico,** solución concentrada al 30 % en masa, exenta de carbonato.

4.7. **Ácido clorhídrico:** solución estándar a 0,1 mol/l.

4.8. **Indicador mixto:** mezclar a volúmenes iguales una solución de rojo de metilo de 2 g/l en etanol de al menos 95 % (en volumen), y una solución de azul de metileno de 1 g/l en etanol de al menos 95 % (en volumen).

5. EQUIPO

5.1. **Balanza analítica**

5.2. **Matraz de Kjeldahl,** 500 ml

5.3. **Aparato de descomposición proteica**

Debe permitir mantener inclinado el matraz de Kjeldahl (5.2) e ir provisto de un sistema de calentamiento que evite el calentamiento de la parte del matraz situada por encima del nivel del líquido.

5.4. **Condensador de tubo interior rectilíneo**

5.5. **Tubo de salida**

Con una ampolla de seguridad unída al extremo inferior del condensador (5.4) por una conexión en vidrio esmerilado o un tubo de goma. En este último caso, los extremos de vidrio han de hallarse próximos entre sí.

5.6. **Deflegmador**

Unido al matraz de Kjeldahl (5.2) y al condensador (5.4) mediante tapones de goma bien ajustados.

5.7. **Matraz Erlenmeyer,** 500 ml

5.8. **Probetas graduadas,** 50 ml y 100 ml

5.9. **Bureta** de 50 ml, graduaciones a 0,1 ml

5.10. **Reguladores de ebullición**

5.10.1. Para la descomposición proteica: trozos pequeños de porcelana o bolas de vidrio.

5.10.2. Para la destilación: gránulos pequeños de piedra pómez.

6. PROCEDIMIENTO

6.1. **Preparación de la muestra para la prueba**

Véase el punto 1.2 de las «Disposiciones generales».

6.2. **Demostración del nitrógeno amoniacal**

Si se supone la presencia de caseinato de amonio o de otros compuestos amoniacales, efectuar la prueba siguiente: en un pequeño matraz Erlenmeyer, añadir a 1 g de muestra 10 ml de agua y 100 mg de óxido de magnesio. Enjuagar el óxido adherido a la pared de vidrio, tapar el matraz con un tapón de corcho, metiendo entre el tapón y el cuello del matraz una tira de papel tornasol humectada. Mezclar con cuidado el contenido del matraz y calentar éste en un baño a unos 60 °C. Si el papel tornasol vira a azul en los 15 minutos siguientes, esto revela la presencia de amoniaco; en este caso, el método no es aplicable (véase el punto 1).

6.3. **Prueba en blanco**

Simultáneamente a la determinación del contenido en nitrógeno de la prueba, efectuar una prueba en blanco sustituyendo la muestra de prueba por 0,5 g de sacarosa (4.4) y utilizando el mismo equipo, las mismas cantidades de reactivo y el mismo procedimiento que los descritos en el punto 6.5. Si en la prueba en blanco la valoración sobrepasa 0,5 ml de la solución ácida de 0,1 mol/l, deberán verificarse los reactivos y purificarse o sustituirse el reactivo o los reactivos impuros.

6.4. **Muestra de prueba**

Introducir en el matraz de Kjeldahl (5.2) de 0,3 a 0,4 g de la muestra (6.1), pesados con precisión de 0,1 mg.

6.5. **Determinación**

6.5.1. Introducir en el matraz algunos trozos de porcelana o algunas bolas de vidrio (5.10.1), y aproximadamente 10 g de sulfato de potasio anhidro (4.2).

Añadir 0,2 g de sulfato de cobre (II) (4.3) y enjuagar el cuello del matraz con un poco de agua. Añadir 20 ml de ácido sulfúrico concentrado (4.1) y mezclar el contenido del matraz.

Calentar suavemente sobre el aparato de descomposición (5.3) hasta que desaparezca la espuma. Hacer ebullir suavemente hasta que la solución esté limpida y persista el color verdiazul pálido. Agitar el matraz de tiempo en tiempo durante el calentamiento.

Proseguir la ebullición regulando el calentamiento, de forma que los vapores se condensen en el centro del cuello del matraz. Continuar calentando durante 90 minutos, evitando todo sobrecalentamiento local.

Dejar enfriar a temperatura ambiente. Añdir con precaución unos 200 ml de agua y algunos granos de piedra pómez (5.10.2). Mezclar y dejar enfriar de nuevo.

6.5.2. Introducir en el matraz Erlenmeyer (5.7) 50 ml de la solución de ácido bórico (4.5) y 4 gotas del indicador (4.8). Mezclar. Colocar el matraz Erlenmeyer bajo el condensador (5.4) de manera que la extremidad del tubo de salida (5.5) esté sumergida en la solución de ácido bórico. Mediante una probeta graduada (5.8) introducir en el matraz de Kjeldahl 80 ml de la solución de hidróxido sódico (4.6). Durante esta operación debe mantenerse el matraz inclinado de forma que la solución de hidróxido de sodio fluya a lo largo de la pared y forma una capa en la parte inferior del matraz.

Volver a acoplar inmediatamente el matraz de Kjeldahl al condensador por medio del deflegmador (5.6).

Mezclar el contenido del matraz de Kjedahl haciéndolo girar suavemente. Hacer ebullir suavemente al principio, evitando toda formación de espuma. Continuar la destilación de forma que se obtengan 150 ml de destilado en 30 minutos, aproximadamente.

El destilado debe poseer una temperatura inferior a 25 °C.

Unos dos minutos tras el término de la destilación, bajar el matraz Erlenmeyer de manera que el extremo del tubo de salida no esté ya sumergido en la solución ácida, y enjuagar dicho extremo con un poco de agua. Hacer cesar el calentamiento, levantar el tubo de salida y enjuagar sus paredes interiores y exteriores con un poco de agua, recogiendo el agua de enjuagado en el matraz Erlenmeyer.

6.5.3. Valorar el destilado del matraz Erlenmeyer mediante la solución estándar de ácido clorhídrico (4.7).

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. **Modo de cálculo y fórmula**

El contenido en proteínas de la muestra, expresado en porcentaje en masa, es igual a:

$$\frac{(V_1 - V_2) \times T \times 14 \times 100 \times 6{,}38}{m \times 1\,000} = \frac{8{,}932\,(V_1 - V_2) \times T}{m}$$

donde

V_1 = volumen en ml de la solución estándar de ácido clorhídrico (4.7) utilizado para la determinación (6.5),

V_2 = volumen en ml de la solución estándar de ácido clorhídrico (4.7) utilizada para el ensayo en blanco,

T = concentración de la solución estándar de ácido clorhídrico (4.7) en mol/l,

m = masa, en g, de la muestra de prueba.

Expresar el contenido en proteínas con precisión de 0,1 %.

7.2. **Reproducibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o con un breve intervalo, en las mismas condiciones y por el mismo analista, no debe sobrepasar los 0,5 g de proteínas por 100 g de producto.

Este valor tiene una probabilidad de no sobrepasarse del 95 % de los casos, si el método se lleva a cabo de forma correcta.

MÉTODO 3

DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ VALORABLE

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente método permite determinar la acidez valorable de las caseínas ácidas.

2. DEFINICIÓN

Acidez valorable de las caseínas ácidas: volumen, en mililitros de solución de hidróxido sódico de 0,1 mol/l, necesario para neutralizar un extracto acuoso de 1 g de producto.

3. PRINCIPIO

Preparación y filtración de un extracto acuoso de la muestra a 60 °C. Valoración del filtrado mediante una solución estándar de hidróxido sódico, en presencia de fenolftaleína como indicador.

4. REACTIVOS

El agua utilizada para la aplicación del método o la preparación de los reactivos debe estar exenta de anhídrido carbónico (a tal fin, calentarla 10 minutos antes de usarla).

4.1. Hidróxido sódico, solución a 0,1 mol/l.

4.2. Fenolftaleína utilizada como indicador, solución de 1 g en 100 ml de etanol (95 % en volumen), neutralizada con relación a un indicador.

5. EQUIPO

5.1. **Balanza analítica**

5.2. **Matraz Erlenmeyer,** 500 ml, con cuello y tapón esmerilados.

5.3. **Pipeta graduada** a 100 ml.

5.4. **Pipeta,** adecuada para medir 0,5 ml de la solución indicadora (4.2).

5.5. **Matraz Erlenmeyer,** 250 ml.

5.6. **Probeta graduada,** 250 ml.

5.7. **Bureta** con graduaciones de 0,1 ml.

5.8. **Baño de agua,** regulable a una temperatura de 60 ± 2 °C.

5.9. **Filtro adecuado**

6. PROCEDIMIENTO

6.1. Para la preparación de la muestra para la prueba, véase el punto 1.2 de las «Disposiciones generales».

6.2. **Muestra de prueba**

Pesar unos 10 g de la muestra con precisión de 10 mg e introducirlos en el matraz Erlenmeyer (5.2).

6.3. **Determinación**

Mediante la probeta de 250 ml (5.6), añadir 200 ml de agua recientemente ebullida y enfriada, calentada previamente a 60 °C. Cerrar el matraz, mezclar por agitación de éste y colocarlo en el baño a 60 °C (5.8) durante 30 minutos. Agitar el matraz cada 10 minutos, aproximadamente.

Filtrar y dejar enfriar el filtrado a unos 20 °C. El filtrado debe ser límpido.

Tomar con la pipeta (5.3) 100 ml del filtrado enfriado e introducirlos en el matraz Erlenmeyer (5.5). Añadir 0,5 ml de la solución indicadora de fenolftaleína (4.2) mediante la pipeta (5.4). Valorar mediante la solución estándar de hidróxido sódico (4.1) hasta que aparezca un color rosa pálido persistente durante al menos 30 segundos. Anotar el volumen utilizado con precisión de a 0,01 ml.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. **Método y fórmula de cálculo**

La acidez valorable de la caseína viene dada por la fórmula:

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

donde

V = volumen en ml de la solución estándar de hidróxido sódico (4.1) utilizada,

T = concentración, en mol/l, de la solución estándar de hidróxido sódico (4.1),

m = masa, en g, de la muestra de prueba.

Expresar la acidez valorable con dos decimales.

7.2. **Reproducibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o con un breve intervalo sobre la misma muestra, en las mismas condiciones y por el mismo analista no debe sobrepasar 0,02 ml de solución de hidróxido sódico para 1 g de producto.

Este valor tiene una probabilidad de no ser sobrepasado del 95 % de los casos.

MÉTODO 4

DETERMINACÍON DE CENIZAS (P_2O_5 incluido)

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente método permite determinar las «cenizas» de: las caseínas ácidas (P_2O_5 incluido).

2. DEFINICIÓN

Cenizas (P_2O_5 incluido): sustancias determinadas según el método descrito a continuación, expresadas como porcentaje en masa.

3. PRINCIPIO

Incineración de una muestra de prueba a 825 °C ± 25 °C en presencia de acetato de magnesio, destinado a fijar la totalidad del fósforo de origen orgánico. Se pesa el residuo y se sustrae la masa de cenizas procedente del acetato de magnesio.

4. REACTIVOS

4.1. **Acetato de magnesio tetrahidratado**

$Mg\ (CH_3CO_2)_2,\ 4H_2O$, solución de 120 g/l.

5. EQUIPO

5.1. **Balanza analítica**

5.2. **Pipeta** graduada a 5 ml.

5.3. **Cápsulas de silicio o platino,** de unos 70 mm de diámetro y de 25 a 50 mm de profundidad.

5.4. **Estufa de secado** regulable a 102 °C ± 1 °C.

5.5. **Horno eléctrico** de circulación de aire, regulable a 825 °C ± 25 °C.

5.6. **Baño de agua en ebullición**

5.7. **Desecador** con gel de sílice recientemente activado, provisto de un indicador hidrométrico, o un deshidratante equivalente.

6. PROCEDIMIENTO

6.1. **Preparación de la muestra para la prueba**

Véase el punto 1.2 de las «Disposiciones generales».

6.2. **Preparación de las cápsulas**

Colocar 2 cápsulas (5.3) A y B en el horno eléctrico (5.5), regulado a 825 °C ± 25 °C, durante 30 minutos. Dejarlas enfriar un poco antes de colocarlas en un desecador (5.7) hasta que se enfríen a las temperatura ambiente, y pesarlas con precisión de 0,1 mg.

6.3. **Muestra de prueba**

Pesar con precisión de 0,1 mg unos 3 g de la muestra (6.1), directamente sobre una de las cápsulas preparadas (A).

6.4. DETERMINACIÓN

Introducir en la cápsula A, mediante la pipeta (5.2), 5 ml exactos de la solución de acetato de magnesio (4.1), de manera que se humedezca toda la muestra de prueba, y dejar reposar durante 20 minutos.

En la otra cápsula preparada (B), introducir con la pipeta (5.2) 5 ml exactos de la solución de acetato de magnesio (4.1).

Evaporar hasta la sequedad el contenido de ambas cápsulas A y B, en el baño de agua en ebullición (5.6).

Colocar las dos cápsulas en la estufa (5.4), regulada a 102 °C ± 1 °C, durante 30 minutos.

Colocar la cápsula A, con su contenido, sobre un llama pequeña, una placa caliente o bajo una lámpara de infrarojos, hasta que la muestra esté completamente carbonizada y vigilando que ésta no arda.

Colocar las dos cápsulas A y B en un horno eléctrico (5.5) regulado a 825 °C ± 25 °C, y dejarlas allí durante al menos 1 hora, hasta que las partículas carbonosas de la cápsula A desaparezcan completamente. Dejar enfriar un poco ambas cápsulas y colocarlas en el desecador (5.7) hasta que alcancen la temperatura ambiente, pesándolas luego con precisión de 0,1 mg.

Repetir las operaciones de calentamiento durante unos 30 minutos en el horno eléctrico, de enfriamiento y de pesada hasta obtener una masa constante (con precisión de 1 mg), anotando la masa mínima.

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. **Método y fórmula de cálculo**

Las cenizas (P_2O_5 incluido) de la muestra, expresadas como porcentaje en masa, vienen dadas por la fórmula:

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

donde

m_0 = masa, en g, de la muestra de prueba,

m_1 = masa, en g, de la cápsula A con su contenido,

m_2 = masa, en g, de la cápsula A vacía,

m_3 = masa, en g, de la cápsula B con su contenido,

m_4 = masa, en g, de la cápsula B vacía.

Expresar el resultado final con precisión de 0,01 %.

7.2. **Reproducibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o con un breve intervalo sobre la misma prueba, en las mismas condiciones y por el mismo analista, no debe sobrepasar 0,1 g por 100 g de producto.

Este valor tiene una probabilidad de no ser sobrepasado del 95 % de los casos.

MÉTODO 5

DETERMINACÍON DE CENIZAS (P_2O_5 incluido)

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACION

El presente método permite determinar el contenido en cenizas de las caseínas puras.

2. DEFINICIÓN

Cenizas (P_2O_5 incluido): sustancias determinadas según el método descrito a continuación y expresadas como porcentaje en masa.

3. PRINCIPIO

Incineración de una muestra de prueba a 825 °C ± 25 °C hasta la obtención de una masa constante. Se pesa el residuo obtenido.

4. EQUIPO

4.1. **Balanza analítica**

4.2. Cápsulas de silicio o platino, de aproximadamente 70 mm de diámetro y de 25 a 50 mm de profundidad.

4.3. **Horno eléctrico**

Horno de circulación de aire, regulable a 825 °C ± 25 °C.

4.4. **Desecador**

Con gel de sílice activado recientemente, provisto de un indicador hidrométrico, o cualquier deshidratante equivalente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. **Preparación de la muestra para la prueba**

Véase el punto 1.2 de las «Disposiciones generales».

5.2. **Preparación de la cápsula**

Colocar la cápsula (4.2) en el horno eléctrico (4.3), regulado a 825 °C ± 25 °C durante 30 minutos. Dejar enfriar la cápsula en el desecador (4.4) hasta la temperatura ambiente. Pesar con precisión de 0,1 mg.

5.3. **Muestra de prueba**

Pesar directamente en la cápsula preparada, con precisión de 0,1 mg, unos 3 g de la muestra (5.1).

5.4. **Determinación**

Calentar la cápsula, con su contenido, sobre una llama pequeña, una placa caliente o bajo una lámpara de infrarojos, hasta que la muestra esté completamente carbonizada y vigilando que ésta no arda.

Colocar la cápsula en un horno eléctrico (4.3) regulado a 825 °C ± 25 °C, y dejarla allí durante al menos 1 hora, hasta que las partículas carbonosas de la cápsula desaparezcan completamente. Dejar enfriar un poco la cápsula y colocarla en el desecador (4.4) hasta que alcance la temperatura ambiente, pesándola luego con precisión de 0,1 mg.

Repetir las operaciones de calentamiento durante unos 30 minutos en el horno eléctrico, de enfriamiento y de pesada hasta obtener una masa constante (con precisión de 1 mg).

6. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. **Método y fórmulas de cálculo**

Las cenizas (P_2O_5 incluido) de la muestra, expresadas como porcentaje en masa, vienen dadas por la fórmula:

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

donde

m_0 = masa, en g, de la muestra de prueba,

m_1 = masa, en g, de la cápsula con su contenido,

m_2 = masa, en g, de la cápsula vacía.

Expresar el resultado final con precisión de 0,01 %.

6.2. **Reproducibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o con un breve intervalo sobre la misma prueba, en las mismas condiciones y por el mismo analista, no debe sobrepasar 0,15 g de cenizas por 100 g de producto.

Este valor tiene una probabilidad de no ser sobrepasado del 95 % de los casos.

MÉTODO 6

DETERMINACIÓN DEL pH

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El presente método permite determinar el pH de los caseinatos.

2. DEFINICIÓN

pH de los caseinatos: el pH a 20 °C de una solución de caseinato, determinado según el método descrito a continuación.

3. PRINCIPIO

Determinación electrométrica del pH de una solución de caseinato mediante un pHmetro.

4. REACTIVOS

El agua utilizada para la preparación de reactivos o para la realización del método (6) debe ser agua recientemente destilada y protegida contra la absorción de anhídrido carbónico.

4.1. **Soluciones tampón** para la calibración del pHmetro. Dos soluciones tampón patrones, de un pH dado a 20 °C con precisión de dos cifras decimales y cuyo intervalo cubra el pH de la muestra; por ejemplo, una solución tampón de ftalato, de pH próximo a 4, y una solución tampón de bórax, de pH próximo a 9.

5. EQUIPO

5.1. **Balanza,** sensibilidad de 0,1 g.

5.2. pHmetro

Sensibilidad mínima: 0,05 pH, provisto de un electrodo de vidrio adecuado y de un electrodo de calomel u otro electrodo de referencia.

5.3. Termómetro

Precisión: 0,5 °C.

5.4. Matraz Erlenmeyer

Capacidad de 100 ml, provisto de un tapón de vidrio esmerilado.

5.5 Vaso de vidrio de 50 ml

5.6. Agitador

5.7. Vaso para el agitador (5.6), capacidad mínima 250 ml.

6. PROCEDIMIENTO

6.1. **Preparación de la muestra para la prueba**

Véase el punto 1.2 de las «Disposiciones generales».

6.2. **Determinación**

6.2.1. *Calibración del pHmetro*

Establecer la temperatura de las soluciones tampón (4.1) en 20 °C y regular el pHmetro según las instrucciones del fabricante.

Observaciones

1. El calibrado debe efectuarse introduciendo el electrodo durante 20 minutos en los matraces Erlenmeyer en reposo (6.2.2).
2. Si se efectúa el análisis de una serie de muestras, verificar el calibrado del pH al menos cada 30 minutos, con una o varias soluciones tampón patrones.

6.2.2. *Preparación de la solución de prueba*

Introducir en el vaso de vidrio (5.6) 95 ml de agua, añadir 5,0 g de la muestra de prueba (6.1) y mezclar mediante el agitador (5.5) durante 30 segundos.

Dejar reposar durante 20 minutos a unos 20 °C, con el vaso tapado con un vidrio de reloj.

6.2.3. *Medida del pH*

6.2.3.1. Verter unos 20 ml de la solución en el vaso (5.5) y determinar inmediatamente el pH de este líquido con el pHmetro (5.2), tras haber enjuagado cuidadosamente los electrodos con agua.

6.2.3.2. Medir el pH

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. **Lectura del pH**

Anotar el valor leído sobre la escala del pHmetro que corresponda al pH de la solución de caseinato, con dos cifras decimales como mínimo.

7.2. **Repetibilidad**

La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas simultáneamente o con un breve intervalo sobre la misma prueba, en las mismas condiciones y por el mismo analista, no debe sobrepasar 0,05 unidades de pH.

Este valor tiene una probabilidad de no ser sobrepasado del 95 % de los casos.