31985L0503

L 308/12 *URADNI LIST EVROPSKIH SKUPNOSTI* 20.11.1985

PRVA DIREKTIVA KOMISIJE
z dne 25. oktobra 1985
o analitskih metodah užitnih kazeinov in kazeinatov

(85/503/EGS)

KOMISIJA EVROPSKIH SKUPNOSTI JE

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropske gospodarske skupnosti,

ob upoštevanju Direktive Sveta 83/417/EGS z dne 25. julija 1983 o približevanju zakonov držav članic v zvezi z nekaterimi mlečnimi beljakovinami (kazeini in kazeinati), namenjenimi prehrani ljudi [1], in še posebej člena 9(b) Direktive,

ker člen 9(b) Direktive 83/417/EGS zahteva, da se za preverjanje sestave določenih užitnih kazeinov in kazeinatov določijo analitske metode Skupnosti;

ker je mogoče sprejeti začetni niz metod, za katere so bile študije zaključene;

ker so ukrepi, predvideni v tej direktivi, v skladu z mnenjem Stalnega odbora za živila,

SPREJELA TO DIREKTIVO:

Člen 1

Države članice sprejmejo vse ukrepe, potrebne za zagotovitev, da se potrebne analize za preverjanje meril, določenih v Prilogi I, opravljajo v skladu z metodami, opisanimi v Prilogi II.

Člen 2

Države članice uveljavijo zakone in druge predpise, potrebne za uskladitev s to direktivo, najkasneje do 1. maja 1987. O tem morajo takoj obvestiti Komisijo.

Člen 3

Ta direktiva je naslovljena na države članice.

V Bruslju, 25. oktobra 1985

Za Komisijo
COCKFIELD
Podpredsednik

[1] UL L 237, 26.8.1983, str. 25.

PRILOGA I

OBSEG PRVE DIREKTIVE SKUPNOSTI O ANALITSKIH METODAH ZA UŽITNE KAZEINE IN KAZEINATE

I. **Splošne določbe**

II. **Določanje vlage v:**
- — kislih kazeinih z uporabo metode 1, Priloga II
- — sladkih kazeinih z uporabo metode 1, Priloga II
- — kazeinatih z uporabo metode 1, Priloga II

III. **Določanje vsebnosti beljakovin v:**
- — kislih kazeinih z uporabo metode 2, Priloga II
- — sladkih kazeinih z uporabo metode 2, Priloga II
- — kazeinatih z uporabo metode 2, Priloga II

IV. **Določanje kislosti, titrimetrično, v:**
- — kislih kazeinih z uporabo metode 3, Priloga II

V. **Določanje pepela (vključno s P_2O_5) v:**
- — kislih kazeinih z uporabo metode 4, Priloga II
- — sladkih kazeinih z uporabo metode 5, Priloga II

VI. **Določanje pH v:**
- — kazeinatih z uporabo metode 6, Priloga II

PRILOGA II

ANALITSKE METODE V ZVEZI S SESTAVO UŽITNIH KAZEINOV IN KAZEINATOV

SPLOŠNE DOLOČBE

1. PRIPRAVA VZORCA ZA ANALIZO

1.1 **Splošno**

Masa vzorca, predloženega laboratoriju v analizo, mora znašati najmanj 200 gramov.

1.2 **Priprava vzorca za analizo v laboratoriju**

1.2.1 Temeljito zmešamo in razdrobimo vse grude itd. v laboratorijskem vzorcu s stresanjem in obračanjem posode (če je treba, potem ko smo laboratorijski vzorec prenesli v neprodušno posodo zadostne prostornine (dvakratna prostornina vzorca), ki omogoča tak postopek).

1.2.2 Prenesemo reprezentativni del vzorca, t. j. približno 50 gramov temeljito zmešanega laboratorijskega vzorca (1.2.1), v preskusno sito (3.3).

1.2.3 Če gre 50-gramski del povsem ali skoraj povsem (vsaj 95 % teže) skozi sito (3.3), uporabimo za določanje vzorec, pripravljen kot pod 1.2.1.

1.2.4 Sicer zmeljemo 50-gramski del z uporabo naprave za mletje (3.4), dokler ni izpolnjeno merilo o sejanju (1.2.3). Takoj prenesemo ves presejani vzorec v neprodušno posodo, ki je dovolj velika (dvojna prostornina vzorca), ter temeljito zmešamo s stresanjem in preobračanjem. Med temi postopki pazimo, da se ne spremeni vsebnost vlage v izdelku.

1.2.5 Potem, ko smo pripravili preskusni vzorec, moramo, kakor hitro je mogoče, preiti na določanje.

1.3 **Posode**

Vzorec moramo vedno hraniti v zračnotesni in vlagotesni posodi.

2. REAGENTI

2.1 **Voda**

2.1.1 Kadar koli se omenja vodo za raztapljanje, redčenje ali pranje, moramo uporabiti destilirano vodo ali demineralizirano vodo vsaj enakovredne čistosti.

2.1.2 Kadar koli se omenja „raztapljanje“ ali „redčenje“ brez nadaljnje navedbe, to pomeni „raztapljanje v vodi“ ali „redčenje z vodo“.

2.2 **Kemikalije**

Vse uporabljene kemikalije morajo biti priznane analitske reagentske kakovosti, razen če je drugače navedeno.

3. OPREMA

3.1 **Seznami opreme**

Seznami opreme vsebujejo le postavke s posebno uporabo in postavke po posebni specifikaciji.

3.2 **Analitska tehtnica**

Analitska tehtnica pomeni tehtnico, s točnostjo vsaj na 0,1 mg.

3.3 **Preskusno sito**

Preskusna sita se morajo pri uporabi prilegati pokrovu s premerom 200 mm, narejena morajo biti iz žične mreže z nazivno velikostjo odprtin 500 μm. Dovoljena odstopanja odprtin in premeri žice so podani v ISO 3310/1. (Preskusna sita – Tehnične zahteve in preskušanje – Del 1: Mrežica iz kovinske žice. ISO 3310/1 – 1975).

Sita morajo imeti posodo za prestrezanje.

3.4 **Naprava za mletje**

Za mletje laboratorijskega vzorca, če je potrebno (glej 1.2.4), brez razvoja nepotrebne toplote in brez izgube ali absorpcije vlage, ne smemo uporabljati kladivnega drobilnika.

4. PODAJANJE REZULTATOV

4.1 **Rezultati**

Rezultat, naveden v analitskem poročilu, naj bo povprečna vrednost, dobljena iz dveh določanj, ki zadovoljuje kriteriju ponovljivosti za to metodo.

4.2 **Izračunavanje odstotka**

Razen ko je drugače opredeljeno, moramo rezultat izračunati kot odstotek glede na maso vzorca.

5. POROČILO O PRESKUSU

Poročilo o preskusu mora opredeliti uporabljeno analitsko metodo in tudi dobljene rezultate. Poleg tega mora omeniti vse podrobnosti postopka, ki niso opredeljene v analitski metodi ali ki so dane na izbiro, kot tudi vse okoliščine, ki bi lahko vplivale na dobljene rezultate. Poročilo o preskusu mora podati vse potrebne informacije za popolno določitev vzorca.

METODA 1

DOLOČANJE VSEBNOSTI VLAGE

1. OBSEG IN PODROČJE UPORABE

S to metodo se določa vsebnost vlage v:

— kislih kazeinih,

— sladkih kazeinih,

— kazeinatih.

2. OPREDELITEV

Vsebnost vlage v kazeinih in kazeinatih: izguba mase, kot je določena z navedeno metodo.

3. PRINCIP

Maso ostanka preskusnega deleža določimo po sušenju pri atmosferskem tlaku v sušilniku pri 102 °C ± 1 °C do konstantne mase. Izguba mase se izračuna kot odstotek glede na maso vzorca.

4. APARATI

4.1 **Analitska tehtnica**

4.2 **Tehtiči** z ravnim dnom in iz materiala, ki ne korodira v pogojih preskusa, npr. nikelj, aluminij, nerjaveče jeklo ali steklo. Tehtiči morajo imeti pokrove, ki se tesno prilegajo, vendar jih je mogoče zlahka odstraniti. Primerne dimenzije so: premer 60 do 80 mm in globina približno 25 mm.

4.3 **Sušilnik za sušenje pri atmosferskem tlaku**, z dobrim prezračevanjem, termostatsko nadzorovan z regulacijo temperature (pri 102 °C ± 1 °C). Temperatura mora biti enakomerna v celotnem sušilniku.

4.4 **Eksikator**, ki vsebuje sveže aktivirani silikagel z indikatorjem za vsebnost vode, ali enakovreden eksikator.

4.5 Primerna naprava za rokovanje s tehtiči, npr. laboratorijske klešče.

5. POSTOPEK

5.1 **Priprava preskusnega vzorca**

Kot je opisano v razdelku 1.2 Splošnih določb.

5.2 **Priprava tehtičev**

5.2.1 Segrevamo nepokriti tehtič in njen pokrov (4.2) v sušilniku (4.3) z nadzorovano temperaturo 102 °C ± 1 °C vsaj eno uro.

5.2.2 Pokrijemo tehtič s pokrovom, prenesemo pokriti tehtič v eksikator (4.4), kjer naj se ohladi na sobno temperaturo, in stehtamo do 0,1 mg natančno (m_o).

5.3 **Preskusni delež**

Postavimo 3 do 5 gramov preskusnega vzorca (5.1) v tehtič, pokrijemo s pokrovom in stehtamo do 0,1 mg natančno (m_1).

5.4 **Določitev**

5.4.1 Odkrijemo tehtič in ga s pokrovom vred postavimo v sušilnik (4.3) z nadzorovano temperaturo 102 °C ± 1 °C za štiri ure.

5.4.2 Tehtič ponovno pokrijemo s pokrovom in ga prenesemo v eksikator, kjer naj se shladi na sobno temperaturo, in stehtamo do 0,1 mg natančno.

5.4.3 Odkrijemo tehtič in ga ponovno vsaj eno uro segrevamo v sušilniku skupaj s pokrovom. Potem ponovimo postopek 5.4.2.

5.4.4 Če je masa, dobljena pod 5.4.3, manjša od mase, dobljene pod 5.4.2, za več kot 1 mg, ponovimo postopek 5.4.3.

Če pride do povečanja mase, pri izračunu (6.1) uporabimo najnižjo zapisano maso.

Naj bo zapisana končna teža m_2g. Skupni čas sušenja naj običajno ne bi presegel šestih ur.

6. PODAJANJE REZULTATOV

6.1 **Metoda izračunavanja**

Izguba mase pri sušenju vzorca, izražena kot odstotek od mase, je podana v:

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

kjer je:

m_o = masa tehtiča in njegovega pokrova po postopku 5.2 v g;

m_1 = masa tehtiča, njegovega pokrova in preskusnega deleža pred sušenjem (postopek 5.3);

m_2 = masa tehtiča, njegovega pokrova in preskusnega deleža po sušenju (postopek 5.4.3 ali 5.4.4).

Izračunamo izgubo pri sušenju do 0,01 % natančno.

6.2 **Ponovljivost**

Razlika med rezultatoma dveh določanj, kadar sta opravljeni istočasno ali takoj drugo za drugim na istem vzorcu, kadar ju opravi isti analitik pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,1 g vlage na 100 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov, ko se metoda izvaja.

METODA 2

DOLOČANJE VSEBNOSTI BELJAKOVIN

1. OBSEG IN PODROČJE UPORABE

Ta metoda določa vsebnost beljakovin v:

— kislih kazeinih,

— sladkih kazeinih,

— kazeinatih,

razen tistih, ki vsebujejo amonijev kazeinat ali druge amonijeve ali dušikove nebeljakovinske sestavine.

2. OPREDELITEV

Vsebnost beljakovin: vsebnost dušika, določena po opredeljeni metodi, potem pa pomnožena s 6,38 in izražena kot odstotek glede na maso.

3. PRINCIP

Preskusni delež razklopimo z mešanico kalijevega sulfata in žveplove (VI) kisline v prisotnosti bakrovega (II) sulfata kot katalizatorja, ki spremeni organski dušik v amonijev dušik. Amonijak destiliramo in absorbiramo v raztopino borove kisline, potem pa titriramo s standardno raztopino klorovodikove kisline. Vsebnost dušika se pretvori v vsebnost beljakovin z množenjem s 6,38.

4. REAGENTI

4.1 **Žveplova (VI) kislina, koncentrirana**, S_2O 1,84 g/ml.

4.2 **Brezvodni kalijev sulfat** (K_2SO_4).

4.3 **Bakrov (II) sulfat, pentahidrat** ($CuSO_4 5H_2O$).

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

4.5 **Borova kislina**, raztopina 40-g/l.

4.6 **Natrijev hidroksid**, koncentrirana vodna raztopina 30 % (m/m), brez karbonatov.

4.7 **Klorovodikova kislina**, 0,1 mol/l.

4.8 **Mešani indikator**. Zmešamo enaki prostornini (2 g/l) metil rdečega v vsaj 95 % (V/V) etanolu in raztopino (1 g/l) metilen modrega v vsaj 95 % (V/V) etanolu.

5. APARATI

5.1 **Analitska tehtnica**

5.2 **Kjeldahlova bučka**, 500 ml.

5.3 **Naprava za razklop**, ki drži Kjeldahlovo bučko (5.2) poševno, in z napravo za segrevanje, ki ne bo segrela dela bučke nad površino tekoče vsebine.

5.4 **Hladilnik** z ravno notranjo cevjo.

5.5 **Odtočna cev s povratno varnostno zaporo**, povezana na nižji konec hladilnika (5.4) s spojko iz brušenega stekla ali gumijasto cevko. Če uporabimo gumijasto cevko, morata biti steklena konca blizu drug drugega.

5.6 **Glava za vnos**, povezana s Kjeldahlovo bučko (5.2) in hladilnikom (5.4) z mehko, tesno prilegajočo se gumo ali drugimi ustreznimi zamaški.

5.7 **Konusna bučka**, 500 ml.

5.8 **Graduirani valji**, 50 ml in 100 ml.

5.9 **Bireta**, 50 ml, graduirana na 0,1 ml.

5.10 **Pripomočki za vretje:**

5.10.1 Za razklop: koščki trdega porcelana ali steklene kroglice.

5.10.2 Za destilacijo: sveže žarjeni koščki plovca.

6. POSTOPEK

6.1 **Priprava preskusnega vzorca**

Kot je opisano v razdelku 1.2 Splošnih določb.

6.2 **Preskus za prisotnost amonijevega dušika**

Ob sumu na prisotnost amonijevega kazeinata ali drugih amonijevih sestavin opravimo naslednji preskus. Dodamo 1 gramu vzorca v konusni bučki 10 ml vode in 100 mg magnezijevega oksida. Oplaknemo ves magnezijev oksid, ki se je oprijel sten, in zapremo bučko z zamaškom iz plute, pri tem pa med zamašek in vrat bučke vstavimo košček navlaženega rdečega lakmusovega papirja. Skrbno zmešamo vsebino bučke in jo segrejemo na vodni kopeli pri 60 do 65 °C. Če se lakmusov papir v 15 minutah obarva modro, je prisoten amonijak, metode pa ni mogoče uporabiti (glej razdelek 1).

6.3 **Slepi preskus**

Istočasno kot določanje vsebnosti dušika v vzorcu opravimo slepo določanje ob uporabi 0,5 g saharoze (4.4) namesto preskusnega deleža, ob uporabi iste naprave, istih količin reagentov in istega postopka, istih količin vseh reagentov in istega postopka, kot je opisan v 6.5. Če titracija pri slepem določanju presega 0,5 ml 0,1 mol/l kisline, moramo reagente preveriti in nečisti reagent ali reagente očistiti ali zamenjati.

6.4 **Preskusni delež**

V Kjeldahlovo bučko (5.2) prenesemo 0,3 do 0,4 g preskusnega vzorca (6.1), stehtanega do 0,1 mg natančno.

6.5 **Določanje**

6.5.1 V bučko prenesemo nekaj koščkov porcelana ali nekaj steklenih kroglic (5.10.1) in približno 10 gramov brezvodnega kalijevega sulfata (4.2).

Dodamo 0,2 g bakrovega (II) sulfata (4.3) in poplaknemo vrat bučke z malo vode. Dodamo 20 ml koncentrirane žveplove (VI) kisline (4.1). Zmešamo vsebino bučke.

Zmerno segrevamo na napravi za razklop (5.3), dokler morebitno penjenje ne preneha, zmerno vrtimo, dokler se raztopina ne razbistri v obstojno bledo zeleno-modro barvo. Med segrevanjem občasno zavrtimo bučko.

Nadaljujemo z vretjem in uravnavamo segrevanje tako, da kondenziramo pare na sredini bučkinega vratu. Nadaljujemo s segrevanjem 90 minut tako, da ne povzročimo lokalnega pregretja.

Ohladimo na sobno temperaturo. Pazljivo dodamo približno 200 ml vode in nekaj koščkov žarjenega plovca (5.10.2). Mešamo in spet ohladimo.

6.5.2 Prenesemo v konusno bučko (5.7) 50 ml raztopine borove kisline (4.5) in štiri kapljice indikatorja (4.8). Mešamo. Postavimo konusno bučko pod hladilnik (5.4), tako da je vrh odtočne cevi (5.5) potopljen v raztopino borove kisline. S pomočjo graduiranega valja (5.8) dodamo v Kjeldahlovo bučko 80 ml raztopine natrijevega hidroksida (4.6). Med tem postopkom držimo bučko postrani, tako da raztopina natrijevega hidroksida steče ob strani bučke in se na dnu nabere plast.

Takoj povežimo Kjeldahlovo bučko s hladilnikom s pomočjo glave za vnos (5.6).

Zmerno vrtimo Kjeldahlovo bučko, da premešamo njeno vsebino. Najprej zmerno segrevamo do vretja in pazimo, da ne pride do penjenja. Nadaljujemo z destilacijo, tako da se 150 ml destilata zbere v približno 30 minutah. Destilat bi moral imeti temperaturo pod 25 °C. Približno dve minuti pred koncem destilacije znižamo konusno bučko, tako da konica iztočne cevke ni več potopljena v raztopino kisline, in konico oplaknemo z malo vode. Ustavimo segrevanje, odstranimo iztočno cev in splaknemo njene zunanje in notranje stene z malo vode, pri čemer vodo zberemo v konusno bučko.

6.5.3 Titriramo destilat v konusni bučki z uporabo standardne volumetrične raztopine klorovodikove kisline (4.7).

7. PODAJANJE REZULTATOV

7.1 **Formula in metoda izračunavanja**

Vsebnost beljakovin v vzorcu, izražena kot odstotek od mase, je podana z:

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

kjer je:

V_1 prostornina standardne volumetrične raztopine klorovodikove kisline (4.7), uporabljene pri določanju, v mililitrih;

V_2 prostornina standardne volumetrične raztopine klorovodikove kisline (4.7), uporabljene pri slepem preskusu (6.3), v mililitrih;

T koncentracija standardne volumetrične raztopine klorovodikove kisline (4.7) v mol/l;

m masa preskusnega deleža v gramih.

Izračunamo vsebnost beljakovin na 0,1 % natančno.

7.2 **Ponovljivost**

Razlika med rezultatoma dveh določanj, kadar sta opravljeni istočasno ali takoj drugo za drugim na istem vzorcu, kadar ju opravi isti analitik pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,5 g beljakovin na 100 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov, ko se metoda pravilno uporablja.

METODA 3

DOLOČANJE KISLOSTI TITRIMETRIČNO

1. OBSEG IN PODROČJE UPORABE

Metoda določa titracijsko kislost:

— kislih kazeinov.

2. OPREDELITEV

Titracijska kislost kislih kazeinov: prostornina v mililitrih 0,1 mol/l standardne raztopine natrijevega hidroksida, potrebna za nevtralizacijo vodnega ekstrakta 1 grama izdelka.

3. PRINCIP

Pridobimo in filtriramo vodni ekstrakt vzorca pri 60 °C. Filtrat titriramo s standardnim natrijevim hidroksidom z uporabo fenolftaleina kot indikatorja.

4. REAGENTI

Voda uporabljena pri postopku ali pri pripravi reagentov mora biti brez ogljikovega dioksida, to dosežemo s segrevanjem do vretja 10 minut, pred uporabo.

4.1 **Raztopina natrijevega hidroksida**: 0,1 Mol/l

4.2 **Raztopina indikatorja fenolftaleina**, 10 g/l v etanolu (95 % V/V), nevtraliziranem glede na indikator.

5. APARATI

5.1 **Analitska tehtnica**

5.2 **Konusna bučka**, 500 ml, z brušenim vratom in z brušenim steklenim zamaškom.

5.3 **Pipeta z eno oznako**, 100 ml.

5.4 **Pipeta**, primerna za merjenje 0,5 ml indikatorske raztopine (4.2).

5.5 **Konusna bučka**, 250 ml.

5.6 **Merilni valj**, 250 ml.

5.7 **Bireta**, graduirana v 0,1 ml.

5.8 **Vodna kopel**, ki omogoča nadzor pri temperaturi 60 °C ± 2 °C.

5.9 **Ustrezen filter**

6. POSTOPEK

6.1 **Priprava preskusnega vzorca**

Kot opisano v razdelku 1.2 Splošnih določb.

6.2 **Preskusni delež**

Stehtamo približno 10 gramov preskusnega vzorca (6.1) na 10 mg natančno in ga prenesemo v konusno bučko (5.2).

6.3 **Določanje**

S pomočjo 250 ml merilnega valja (5.6) dodamo 200 ml sveže prevrete in ohlajene vode, predhodno segrete na 60 °C. Zamašimo bučko, mešamo z vrtenjem in jo postavimo za 30 minut v vodno kopel pri 60 °C (5.8). Stresamo bučko v presledkih približno na 10 minut.

Filtriramo in ohladimo filtrat na približno 20 °C. Filtrat mora biti prozoren.

Odpipetiramo 100 ml ohlajenega filtrata v konusno bučko (5.5) s pomočjo pipete (5.3). S pipeto (5.4) dodamo 0,5 ml raztopine indikatorja fenolftaleina (4.2). Titriramo s standardno volumetrično raztopino natrijevega hidroksida (4.1), dokler se ne pojavi šibko rožnata barva, ki je obstojna vsaj 30 sekund. Določimo in zapišemo uporabljeno prostornino do 0,01 ml natančno.

7. PODAJANJE REZULTATOV

7.1 **Formula in metoda izračunavanja**

Titracijska kislost kislega kazeina je podana v:

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

kjer je:

V prostornina uporabljene standardne volumetrične raztopine natrijevega hidroksida (4.1) v mililitrih;

T koncentracija standardne volumetrične raztopine natrijevega hidroksida (4.1) v mol/l;

m masa preskusnega deleža v gramih.

Izračunamo titracijsko kislost na dve decimalni mesti.

7.2 **Ponovljivost**

Razlika med rezultatoma dveh določanj, kadar sta opravljeni istočasno ali takoj drugo za drugim na istem vzorcu, kadar ju opravi isti analitik pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,02 ml v 0,1 mol/l natrijevega hidroksida na 1 g izdelka.

Tak interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov, ko se metoda pravilno izvaja.

METODA 4

DOLOČANJE PEPELA

(vključno s P_2O_5)

1. OBSEG IN PODROČJE UPORABE

Metoda določa vsebnost pepela (vključno s P_2O_5) v:

— kislih kazeinih.

2. OPREDELITEV

Vsebnost pepela (vključno s P_2O_5): vsebnost pepela se določa z navedeno metodo.

3. PRINCIP

Delež vzorca se zažge pri 825 °C ± 25 °C v prisotnosti magnezijevega acetata, da se veže ves fosfor organskega izvora. Končni pepel se izračuna po tehtanju ostanka in odbitju mase pepela, ki izhaja iz magnezijevega acetata.

4. REAGENTI

4.1 **Raztopina magnezijevega acetata tetrahidrata**, 120 g/l. Raztopimo 120 g magnezijevega acetata tetrahidrata [Mg $(CH_3\ CO_2)_2$ 4 H_2 O] v vodi in dopolnimo z vodo do 1 litra.

5. APARATI

5.1 **Analitska tehtnica**

5.2 **Pipeta z eno oznako**, 5 ml.

5.3 **Izparilnice iz kremenčevega stekla ali platine**, premera približno 70 mm in 25 do 50 mm globoke.

5.4 **Sušilnik**, v katerem se lahko nadzoruje temperatura 102 °C ± 1 °C.

5.5 **Žarilna peč**, v kateri se lahko nadzoruje temperatura 825 °C ± 25 °C.

5.6 **Vodna kopel**

5.7 **Eksikator**, ki vsebuje sveže aktiviran silikagel z indikatorjem za vsebnost vode ali enakovrednim sušilom.

6. POSTOPEK

6.1 **Priprava preskusnega vzorca**

Kot opisano v razdelku 1.2 Splošnih določb.

6.2 **Priprava izparilnic**

Segrevamo 30 minut dve izparilnici (A, B) (5.3) v žarilni peči (5.5), nadzorovani pri temperaturi 825 °C ± 25 °C. Počakamo, da se izparilnici nekoliko shladita, nato ju postavimo v eksikator (5.7), da dosežeta sobno temperaturo, in stehtamo do 0,1 mg natančno.

6.3 **Preskusni delež**

Stehtamo približno 3 grame preskusnega vzorca (6.1) do 0,1 mg natančno neposredno v eno od pripravljenih izparilnic (A).

6.4 **Določanje**

S pomočjo pipete (5.2) odpipetiramo v izparilnico (A) točno 5 ml raztopine magnezijevega acetata (4.1), tako da omočimo ves preskusni delež, in pustimo, da stoji 20 minut.

V drugo pripravljeno izparilnico (B) odpipetiramo s pipeto (5.2) točno 5 ml raztopine magnezijevega acetata (4.1).

Izparimo vsebino obeh izparilnic (A in B) do suhega na vodni kopeli (5.6).

Postavimo obe izparilnici v sušilnik (5.4), kontroliran pri temperaturi 102 °C ± 1 °C, za 30 minut.

Segrevamo izparilnico A skupaj z vsebino na majhnem plamenu, vroči plošči ali pod infrardečo lučjo, dokler preskusni delež povsem ne zogleni in pri tem pazimo, da ne vzplamti.

Prenesemo obe izparilnici (A in B) v žarilno peč (5.5), nadzorovano pri 825 °C ± 25 °C, in segrevamo vsaj eno uro, dokler iz izparilnice A ne izgine vse oglje. Pustimo, da se obe izparilnici nekoliko shladita, in ju nato postavimo v eksikator (5.7), dokler ne dosežeta sobne temperature, in stehtamo do 0,1 mg natančno.

Ponavljamo postopek segrevanja za približno 30 minut v žarilni peči (5.5), ohlajanja in stehtanja, dokler masa ne ostaja konstantna (v mejah 1 mg) ali se začne povečevati. Zapišemo najnižjo maso.

7. PODAJANJE REZULTATOV

7.1 **Metoda izračunavanja**

Vsebnost pepela, vključno s P_2O_5, v vzorcu kot odstotek od mase je podana z:

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

kjer je:

m_0 masa preskusnega deleža v gramih;

m_1 masa izparilnice A in ostanka v gramih;

m_2 masa pripravljene izparilnice A v gramih;

m_3 masa izparilnice B in ostanka v gramih;

m_4 masa pripravljene izparilnice B v gramih.

Izračunamo končni rezultat na 0,01 % natančno.

7.2 **Ponovljivost**

Razlika med rezultatoma dveh določanj, kadar sta opravljeni istočasno ali takoj drugo za drugim na istem vzorcu, kadar ju opravi isti analitik pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,1 g na 100 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov, ko se metoda opravlja pravilno.

METODA 5

DOLOČANJE PEPELA

(vključno s P_2O_5)

1. OBSEG IN PODROČJE UPORABE

Ta metoda določa vsebnost pepela (vključno s P_2O_5) v:

— siriščnih kazeinih.

2. OPREDELITEV

Vsebnost pepela (vključno s P_2O_5): vsebnost pepela, določena z navedeno metodo.

3. PRINCIP

Delež vzorca se zažge pri 825 °C ± 25 °C do konstantne mase. Ostanek določimo s tehtanjem in izračunamo kot odstotek od mase vzorca.

4. APARATI

4.1 **Analitska tehtnica**

4.2 **Izparilnica iz kremenčevega stekla ali platine**, premera približno 70 mm in 25 do 50 mm globoka.

4.3 **Žarilna peč s cirkulacijo zraka**, v kateri se lahko nadzoruje temperatura 825 °C ± 25 °C.

4.4 **Eksikator** s sveže aktiviranim silikagelom z indikatorjem za vsebnost vode ali enakovrednim sušilom.

5. POSTOPEK

5.1 **Priprava preskusnega vzorca**

Kot opisano v razdelku 1.2 Splošnih določb.

5.2 **Priprava izparilnice**

Izparilnico (4.2) segrevamo 30 minut v žarilni peči (4.3) pri nadzorovani temperaturi 825 °C ± 25 °C. Počakamo, da se izparilnica nekoliko shladi, nato jo postavimo v eksikator (4.4), da doseže sobno temperaturo, in stehtamo do 0,1 mg natančno.

5.3 **Preskusni delež**

Stehtamo približno 3 grame preskusnega vzorca (5.1) do 0,1 mg natančno neposredno v pripravljeno izparilnico.

5.4 **Določanje**

Segrevamo izparilnico skupaj z vsebino na nizkem plamenu, vroči plošči ali pod infrardečo lučjo, dokler preskusni delež povsem ne zogleni in pri tem pazimo, da ne vzplamti.

Prenesemo izparilnico v žarilno peč (4.3), nadzorovano pri 825 °C ± 25 °C in segrevamo vsaj eno uro, dokler iz izparilnice ne izgine vse oglje. Pustimo, da se izparilnica nekoliko shladi, in jo nato postavimo v eksikator (4.4), dokler ne doseže sobne temperature, in stehtamo do 0,1 mg natančno.

Ponavljamo postopek segrevanja približno 30 minut v žarilni peči (4.3), ohlajanja in tehtanja, dokler masa ne ostaja konstantna (v mejah 1 mg) ali se začne povečevati. Zapišemo najnižjo maso.

6. PODAJANJE REZULTATOV

6.1 **Metoda izračunavanja in formula**

Vsebnost pepela, vključno s P_2O_5, v vzorcu kot odstotek od mase je podana z:

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

kjer je:

m_0 masa preskusnega deleža v gramih;

m_1 masa izparilnice in ostanka v gramih;

m_3 masa pripravljene izparilnice v gramih.

Izračunamo končni rezultat na 0,01 % natančno.

6.2 **Ponovljivost**

Razlika med rezultatoma dveh določanj, kadar sta opravljeni istočasno ali takoj drugo za drugim na istem vzorcu, kadar ju opravi isti analitik pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,15 grama pepela na 100 gramov izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov, ko se metoda pravilno opravlja.

METODA 6

DOLOČANJE pH

1. OBSEG IN PODROČJE UPORABE

S to metodo se določa pH:

— kazeinatov.

2. OPREDELITEV

pH kazeinatov: pH vodne raztopine kazeinatov pri 20 °C, določen z navedeno metodo.

3. PRINCIP

Elektrometrično določanje pH vodne raztopine kazeinata s pomočjo pH metra.

4. REAGENTI

Voda, ki se uporablja pri pripravi reagentov ali pri postopku (6), mora biti sveže destilirana voda, zavarovana pred absorpcijo ogljikovega dioksida.

4.1 **Puferne raztopine**, za umeritev pH metra (5.2).

Dve standardni puferni raztopini s pH vrednostmi pri 20 °C, znanimi na dve decimalni mesti, ki bosta zajeli pH preskusnega vzorca, npr. ftalna puferna raztopina s pH približno 4 in boraksova puferna raztopina s pH približno 9.

5. APARATI

5.1 **Tehtnica**, s točnostjo 0,1 grama.

5.2 **pH meter**, najmanjša občutljivost 0,05 pH enote, z ustrezno umerjeno elektrodo, npr. stekleno elektrodo in kalomelovo ali drugo referenčno elektrodo.

5.3 **Termometer**, s točnostjo 0,5 °C.

5.4 **Konusna bučka**, 100 ml, z brušenim steklenim zamaškom.

5.5 **Čaša**, 50 ml.

5.6 **Mešalec**

5.7 **Čaša**, za mešalec (5.6), s prostornino vsaj 250 ml.

6. POSTOPEK

6.1 **Priprava preskusnega vzorca**

Kot je opisana v razdelku 1.2 Splošnih določb.

6.2 **Določanje**

6.2.1 *Umeritev pH metra*

Uravnamo temperaturo pufernih raztopin (4.1) na 20 °C in umerimo pH meter v skladu z navodili proizvajalca.

OPOMBE

1. Umerjanje moramo opraviti potem, ko steklenici stojita 20 minut (glej 6.2.2).
2. Pri preskusu serije vzorcev preverimo umerjanje pH metra z eno ali več standardnimi pufernimi raztopinami najmanj vsakih 30 minut.

6.2.2 *Priprava preskusne raztopine*

V čašo (5.7) damo 95 ml vode, dodamo 5,0 gramov preskusnega vzorca (6.1) in mešamo s pomočjo mešalca (5.6) 30 sekund.

Raztopino pustimo, da stoji 20 minut pri približno 20 °C, pokrito z urnim steklom.

6.2.3 *Merjenje pH*

6.2.3.1 Vlijemo približno 20 ml raztopine v čašo (5.5) in takoj odčitamo pH te tekočine s pomočjo pH metra (5.2), potem ko smo skrbno oplaknili stekleno elektrodo z vodo.

6.2.3.2 Izmerimo pH.

7. PODAJANJE REZULTATOV

7.1 **Zapisovanje pH**

Kot pH vodne raztopine kazeinata zapišemo vrednost, odčitano na kazalu pH metra, vsaj na dve decimalni mesti.

7.2 **Ponovljivost**

Razlika med rezultatoma dveh določanj, kadar sta opravljeni istočasno ali takoj drugo za drugim na istem vzorcu, kadar ju opravi isti analitik pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,05 enote pH.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov, ko se metoda pravilno opravlja.