31985L0503

L 308/12 *JURNALUL OFICIAL AL COMUNITĂȚILOR EUROPENE* 20.11.1985

PRIMA DIRECTIVĂ A COMISIEI din 25 octombrie 1985 privind metodele de analiză pentru cazeinele și cazeinații comestibili

(85/503/CEE)

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Economice Europene,

având în vedere Directiva 83/417/CEE a Consiliului din 25 iulie 1983 privind apropierea legislațiilor statelor membre în legătură cu anumite lactoproteine (cazeină și cazeinați) destinate consumului uman [1], în special articolul 9 litera (b),

întrucât articolul 9 litera (b) din Directiva 83/417/CEE prevede ca metodele comunitare de analiză să fie stabilite pentru verificarea compoziției anumitor cazeine și cazeinați comestibili;

întrucât este posibilă adoptarea unei serii inițiale de metode pentru care au fost elaborate studii;

întrucât măsurile prevăzute de prezenta directivă sunt în conformitate cu avizul Comitetului permanent pentru produse alimentare,

ADOPTĂ PREZENTA DIRECTIVĂ:

Articolul 1

Statele membre adoptă toate măsurile necesare pentru a se asigura că analizele necesare pentru verificarea criteriilor stabilite la Anexa I sunt efectuate în conformitate cu metodele prezentate la Anexa II.

Articolul 2

Statele membre pun în aplicare actele cu putere de lege și actele administrative necesare pentru a se conforma prezentei directive până la 1 mai 1987. Statele membre informează de îndată Comisia cu privire la aceasta.

Articolul 3

Prezenta directivă se adresează statelor membre.

Adoptată la Bruxelles, 25 octombrie 1985.

Pentru Comisie

COCKFIELD

Vicepreședinte

[1] JO L 237, 26.8.1983, p. 25.

ANEXA I

OBIECTUL PRIMEI DIRECTIVE A COMUNITĂȚII PRIVIND METODELE DE ANALIZĂ PENTRU CAZEINELE Ș CAZEINAȚII COMESTIBILI

I. **Dispoziții generale**

II. **Determinarea umidității în:**

— cazeinele acide utilizând metoda 1, Anexa II

— cazeinele cheag utilizând metoda 1, Anexa II

— cazeinați utilizând metoda 1, Anexa II

III. **Determinarea conținutului de proteine în:**

— cazeinele acide utilizând metoda 2, Anexa II

— cazeinele cheag utilizând metoda 2, Anexa II

— cazeinați utilizând metoda 2, Anexa II

IV. **Determinarea acidității libere în:**

— cazeinele acide utilizând metoda 3, Anexa II

V. **Determinarea cenușii (incluzând P_2O_5) în:**

— cazeinele acide utilizând metoda 4, Anexa II

— cazeinele cheag utilizând metoda 5, Anexa II

VI. **Determinarea pH-ului în:**

— cazeinați utilizând metoda 6, Anexa II

ANEXA II

METODE DE ANALIZĂ PRIVIND COMPOZIȚIA CAZEINELOR ȘI CAZEINAȚILOR COMESTIBILI

DISPOZIȚII GENERALE

1. PREGĂTIREA PROBEI DE ANALIZĂ

1.1. **Generalități**

Masa probei prezentate laboratorului pentru analiză este de cel puțin 200 de grame.

1.2. **Pregătirea probei pentru analiză în laborator**

1.2.1. Se amestecă bine și se sfărâmă cocoloașele etc. din proba de laborator prin agitare repetată și răsturnarea recipientului [dacă este cazul, după transferarea în totalitate a probei de laborator într-un recipient etanș de capacitate suficientă (de două ori volumul probei) pentru a permite realizarea acestei operații].

1.2.2. Se transferă o cantitate reprezentativă din probă, de exemplu 50 de grame de probă de laborator amestecată bine (punctul 1.2.1) într-o sită de testare (punctul 3.3).

1.2.3. Dacă o cantitate de 50 de grame trece în întregime sau aproape în întregime (cel puțin 95 % din greutate) prin sită (punctul 3.3), se utilizează pentru determinare proba pregătită la punctul 1.2.1.

1.2.4. Altfel, se macină cantitatea de 50 de grame utilizând dispozitivul de măcinare (punctul 3.4) până când îndeplinește criteriul de strecurare (punctul 1.2.3). Se transferă imediat toată proba strecurată într-un recipient etanș de capacitate suficientă (de două ori volumul probei) și se amestecă bine prin agitare repetată și răsturnare. Pe parcursul acestor operații, se iau măsuri de precauție pentru a se evita orice fel de modificare în conținutul de umiditate al produsului.

1.2.5. După pregătirea probei de testare, se continuă imediat cu orice metodă de determinare.

1.3. **Recipientele**

Proba se păstrează întotdeauna într-un recipient etanș la aer și umiditate.

2. REACTIVII

2.1. **Apa**

2.1.1. Acolo unde se menționează apa pentru dizolvare, diluare sau spălare, se utilizează apa distilată sau apa demineralizată de puritate cel puțin echivalentă.

2.1.2. Acolo unde se face referire la „dizolvare” sau „diluare”, fără alte indicații, se înțelege „dizolvare în apă” sau „diluare cu apă”.

2.2. **Reactivii chimici**

Toți reactivii chimici utilizați au calitatea reactivilor recunoscuți analitic, cu excepția cazurilor în care se fac alte precizări.

3. ECHIPAMENTELE

3.1. **Lista de echipamente**

Lista de echipamente conține doar acele articole cu utilizare specializată și articolele cu anumite specificații.

3.2. **Balanța analitică**

Prin balanța analitică se înțelege o balanță care poate să cântărească cu o precizie de cel puțin 0,1 mg.

3.3. **Sita de testare**

Sitele de testare care urmează a fi utilizate trebuie să fie prevăzute cu un capac având diametrul de 200 mm, să aibă țesătură de sârmă cu o mărime a găurii nominale de 500 µm. Toleranțele găurii și diametrele sârmei permise sunt cele date în ISO 3310/1. (Site de testare – Cerințe tehnice și testare – partea 1: Rețea de sârmă de metal. ISO 3310/1 - 1975).

Sitele trebuie să fie prevăzute cu un colector.

3.4. **Dispozitivul de măcinare**

Dacă este cazul, pentru măcinarea probei de laborator (a se vedea punctul 1.2.4), fără dezvoltarea de căldură exagerată și fără pierdere sau absorbție de umiditate, nu se utilizează o moară cu ciocane.

4. EXPRIMAREA REZULTATELOR

4.1. **Rezultatele**

Rezultatul prezentat în raportul analitic are valoarea medie obținută din două determinări care îndeplinesc criteriul de repetabilitate pentru acea metodă.

4.2. **Calcularea procentajului**

Cu excepția cazului unde se fac alte precizări, rezultatul se calculează ca procent raportat la masa probei.

5. RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului identifică metoda de analiză utilizată, precum și rezultatele obținute. Pe lângă aceasta, precizează toate detaliile privind procedura, nespecificate în metoda de analiză sau care sunt opționale, precum și orice situație care ar putea influența rezultatele obținute. Raportul testului furnizează toate informațiile necesare pentru identificarea completă a probei.

METODA 1

DETERMINAREA CONȚINUTULUI DE UMIDITATE

1. OBIECTUL ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Această metodă determină conținutul de umiditate în:

— cazeinele acide;

— cazeinele cheag;

— cazeinați.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de umiditate al cazeinelor și cazeinaților: pierderea de masă așa cum a fost determinată prin metoda specificată.

3. PRINCIPIU

Masa reziduală a unei cantități de testare este determinată după uscarea la presiunea atmosferică într-o etuvă la 102 °C ± 1 °C până se ajunge la o masă constantă. Pierderea de masă este calculată ca procent raportat la masa probei.

4. APARATURĂ

4.1. **Balanța analitică**

4.2. **Platanele** sunt cu fundul plat, din material anticoroziv în condiții de testare, de exemplu nichel, aluminiu, oțel inoxidabil sau sticlă. Platanele trebuie să aibă capace care să se potrivească bine, dar care să poată fi îndepărtate cu ușurință. Dimensiunile corespunzătoare sunt: diametrul de la 60 la 80 mm și adâncimea de circa 25 mm.

4.3. **Etuvă electrică termoreglabilă** cu ventilator, cu termostat de reglare a temperaturii (la 102 °C ± 1 °C). Temperatura trebuie să fie uniformă în etuvă.

4.4. **Exsicatorul,** care conține gel de siliciu proaspăt activat cu un indicator higrometric sau un echivalent deshidratant.

4.5. **Dispozitive corespunzătoare de manevrare a platanelor,** de exemplu clești de laborator.

5. PROCEDURĂ

5.1. **Pregătirea probei de testare**

După cum este descris la punctul 1.2 al Dispozițiilor generale.

5.2. **Pregătirea platanului**

5.2.1. Se încălzește platanul descoperit și capacul acestuia (punctul 4.2) în etuva (punctul 4.3) reglată la temperatura de 102 °C ± 1 °C timp de cel puțin o oră.

5.2.2. Se acoperă platanul cu capacul, se transferă în exsicator (punctul 4.4), se lasă să se răcească la temperatura încăperii în care se face cântărirea și se cântărește cu o precizie de aproximativ 0,1 mg (m_0).

5.3. **Cantitatea de testare**

Se introduc 3 până la 5 grame din proba de testare (punctul 5.1) în platan, se acoperă cu capacul și se cântărește cu o precizie de aproximativ 0,1 mg (m_1).

5.4. **Determinarea**

5.4.1. Se descoperă platanul și se introduce odată cu capacul său în etuva (punctul 4.3) reglată la 102 °C ± 1 °C timp de patru ore.

5.4.2. Se repune capacul pe platan, se transferă în exsicator, se lasă să se răcească la temperatura camerei în care se efectuează cântărirea și se cântărește cu o precizie de aproximativ 0,1 mg.

5.4.3. Se descoperă platanul și se încălzește din nou odată cu capacul său în etuvă timp de o oră. Apoi se repetă operația de la punctul 5.4.2.

5.4.4. Dacă masa obținută la punctul 5.4.3 este mai mică decât masa obținută la punctul 5.4.2 cu mai mult de 1 mg, se repetă operația de la punctul 5.4.3.

Dacă are loc o creștere a masei, se utilizează cea mai mică masă înregistrată în calcule (punctul 6.1).

Greutatea finală înregistrată trebuie să fie m_2g. Timpul total de uscare nu trebuie să depășească în mod normal șase ore.

6. EXPRIMAREA REZULTATELOR

6.1. **Metoda de calcul**

Pierderea de masă la uscarea probei, exprimată ca procent raportat la masă, este dată de:

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

unde:

m_0 = masa în grame a platanului și a capacului său după procesul descris la punctul 5.2;

m_1 = masa în grame a platanului, a capacului său și a cantității de testare înainte de uscare (procesul descris la punctul 5.3);

m_2 = masa în grame a platanului, a capacului său și a cantității de testare după procesul de uscare (procesul descris la punctul 5.4.3 sau la punctul 5.4.4).

A se calcula pierderea la uscare cu o precizie de aproximativ 0,01 %.

6.2. **Repetabilitatea**

Diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate simultan sau în succesiune rapidă asupra aceleiași probe, de către același analist, în aceleași condiții, nu depășește 0,1 g de umiditate la 100 de grame de produs.

Intervalul de repetabilitate ar trebui realizat în 95 % din cazurile în care se utilizează metoda.

METODA 2

DETERMINAREA CONȚINUTULUI DE PROTEINE

1. OBIECTUL ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Această metodă determină conținutul de proteine al:

— cazeinelor acide;

— cazeinelor cheag;

— cazeinaților,

cu excepția celor care conțin cazeinat de amoniu sau alți compuși care conțin azot neproteic.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de proteine: conținutul de azot, așa cum a fost determinat prin metoda specificată, și apoi înmulțit cu 6,38 și exprimat ca procent raportat la masă.

3. PRINCIPIU

O cantitate de testare este mineralizată cu un amestec de sulfat de potasiu și acid sulfuric în prezența sulfatului de cupru (II) având funcție de catalizator, pentru a transforma azotul organic în azot amoniacal. Amoniacul este distilat și absorbit în soluția de acid boric și apoi titrat cu soluție standard de acid clorhidric. Conținutul de azot este transformat în conținut de proteine prin înmulțirea cu 6,38.

4. REACTIVI

4.1. **Acid sulfuric concentrat,** S_2O 1,84 g/ml

4.2. **Sulfat de potasiu anhidru** (K_2SO_4)

4.3. **Sulfat de cupru pentahidratat** (II) ($CuSO_4 5H_2O$)

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

4.5. **Acid boric,** soluție 40 g/l

4.6. **Hidroxid de sodiu,** soluție apoasă concentrată 30 % (m/m) fără carbonat

4.7. **Acid clorhidric,** 0,1 mol/l.

4.8. **Indicator mixt.** Se amestecă volume egale a câte 2g/l soluție de roșu de metil în cel puțin 95 % etanol (V/V) și o soluție de 1 g/l albastru de metilen cu cel puțin 95 % (V/V) etanol.

5. APARATURĂ

5.1. **Balanță analitică**

5.2. **Balon Kjeldahl,** capacitate de 500 ml.

5.3. **Aparatul de mineralizare** pentru menținerea balonului Kjeldahl (punctul 5.2) într-o poziție înclinată și cu un dispozitiv de încălzire care nu încălzește partea balonului de deasupra suprafeței conținutului de lichid.

5.4. **Refrigerent** cu țeavă interioară dreaptă.

5.5. **Țeavă de evacuare cu bulb de siguranță** conectat la partea de jos a refrigerentului (punctul 5.4) printr-o îmbinare cu sticlă șlefuită sau un furtun de cauciuc. Dacă se utilizează furtunul de cauciuc, capetele de sticlă trebuie să fie unul lângă altul.

5.6. **Deflecmator** conectat la balonul Kjeldahl (punctul 5.2) și la refrigerent (punctul 5.4) printr-un dop de cauciuc etanș, moale sau alte dopuri corespunzătoare.

5.7. **Balon conic,** capacitate de 500 ml.

5.8. **Cilindri gradați,** capacitate de 50 ml și 100 ml.

5.9. **Biuretă** de capacitate de 50 ml, gradată din 0,1 ml.

5.10. **Mijloace auxiliare de fierbere:**

5.10.1. Pentru mineralizare: bucăți mici de porțelan dur sau de granule de sticlă.

5.10.2. Pentru distilare: bucăți de piatră ponce proaspăt calcinată.

6. PROCEDURĂ

6.1. **Pregătirea probei de testare**

După cum este descris la punctul 1.2 al Dispozițiilor generale.

6.2. **Testarea prezenței azotului amoniacal**

Dacă se bănuiește prezența cazeinatului de amoniu sau a altor componente ale amoniului, se realizează următorul test. Se adaugă 1 gram din probă într-un balon conic mic cu 10 ml de apă și 100 mg de oxid de magneziu. Se clătește de orice urmă de oxid de magneziu aderent la pereți și se închide balonul cu un dop de plută, introducând o bucată de hârtie de turnesol roșie între dop și gâtul balonului. Se amestecă conținutul balonului cu grijă și se încălzește balonul într-o baie de apă la o temperatură de 60 până la 65 °C. Dacă hârtia de turnesol se colorează în albastru în 15 minute, atunci se semnalează prezența amoniacului și metoda nu este aplicabilă (a se vedea punctul 1).

6.3. **Test blanc**

Odată cu determinarea conținutului de azot al probei, se face o probă blanc, utilizând 0,5 grame de zaharoză (punctul 4.4) în locul cantității de testare, utilizând aceeași aparatură, aceleași cantități de reactanți și aceeași procedură descrisă la punctul 6.5. Dacă titrarea în proba blanc depășește 0,5 ml din 0,1 mol/l acid, reactivii sunt verificați iar reactivul sau reactivii impuri sunt purificați sau înlocuiți.

6.4. **Cantitatea de testare**

Se introduc în balonul Kjeldahl (punctul 5.2) 0,3 până la 0,4 grame din cantitatea de testare (punctul 6.1) cântărită cu o precizie de aproximativ 0,1 mg.

6.5. **Determinarea**

6.5.1. Se transferă în balon câteva bucăți de porțelan sau câteva granule de sticlă (punctul 5.10.1) și circa 10 grame de sulfat de potasiu anhidru (punctul 4.2).

Se adaugă 0,2 grame de sulfat de cupru (II) (punctul 4.3) și se spală gâtul balonului cu puțină apă. Se adaugă 20 ml de acid sulfuric concentrat (punctul 4.1). Se amestecă conținutul balonului.

Se încălzește ușor pe aparatul de mineralizare (punctul 5.3) până încetează spumarea, se fierbe ușor până ce soluția devine clară și de culoare verde-albăstrui deschis persistent. În timpul încălzirii se agită din când în când balonul.

Se continuă fierberea, reglând căldura astfel încât să condenseze vaporii la mijlocul gâtului balonului. Se continuă încălzirea timp de 90 minute, evitând supraîncălzirea locală.

Se lasă să se răcească la temperatura încăperii. Se adaugă cu grijă circa 200 ml de apă și câteva bucăți de piatră ponce (punctul 5.10.2). Se amestecă și se răcește din nou.

6.5.2. Se transferă în balonul conic (punctul 5.7) 50 ml soluție de acid boric (punctul 4.5) și patru picături de indicator (punctul 4.8). Se amestecă. Se amplasează balonul conic sub refrigerent (punctul 5.4), astfel încât vârful tubului de evacuare (punctul 5.5) să fie scufundat în soluție de acid boric. Utilizând un cilindru gradat (punctul 5.8), se adaugă în balonul Kjeldahl 80 ml soluție de hidroxid de sodiu (punctul 4.6). În timpul acestei operații, se ține balonul în poziție înclinată, astfel încât soluția de hidroxid de sodiu să curgă în partea de jos a balonului, formând un strat inferior.

Se conectează imediat balonul Kjeldahl la refrigerent prin intermediul deflecmatorului (punctul 5.6).

Se rotește ușor balonul Kjeldahl pentru a amesteca conținutul său. Se fierbe ușor la început, evitând orice fel de spumare. Se continuă distilarea astfel încât 150 ml din soluția distilată sunt colectați în aproximativ 30 de minute. Soluția distilată ar trebui să aibă o temperatură sub 25 °C. La circa 2 minute înainte de sfârșitul distilării, se coboară balonul conic astfel încât vârful tubului de evacuare să nu mai fie scufundat în soluția acidă și se clătește vârful cu puțină apă. Se oprește încălzirea, se îndepărtează tubul de evacuare și se clătesc pereții săi interiori și exteriori cu puțină apă, colectând apele de spălare în balonul conic.

6.5.3. Se titrează soluția distilată în balonul conic, utilizând soluția standard volumetrică de acid clorhidric (punctul 4.7).

7. EXPRIMAREA REZULTATELOR

7.1. **Formula și metoda de calcul**

Conținutul de proteine al probei, exprimat ca procent raportat la masă, este dat de:

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

unde:

V_1 este volumul în mililitri al soluției standard volumetrice de acid clorhidric (punctul 4.7) utilizate pentru determinare (punctul 6.5);

V_2 este volumul în mililitri al soluției volumetrice standard de acid clorhidric (punctul 4.7) utilizate pentru testul blanc (punctul 6.3);

T este concentrația soluției volumetrice standard a soluției de acid clorhidric (punctul 4.7) în mol/l;

m este masa în grame a cantității de testare.

Se calculează conținutul de proteine cu o precizie de aproximativ 0,1 %.

7.2. **Repetabilitatea**

Diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate simultan sau în succesiune rapidă ale aceleiași probe, de către același analist, în aceleași condiții, nu trebuie să depășească 0,5 grame de proteine la 100 de grame de produs.

Acest interval de repetabilitate ar trebui realizat în 95 % din cazuri pentru ca metoda să fie corect aplicată.

METODA 3

DETERMINAREA ACIDITĂȚII LIBERE

1. OBIECTUL ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Această metodă determină aciditatea liberă a:

— cazeinelor acide.

2. DEFINIȚIE

Aciditatea liberă a cazeinelor acide: volumul în milimetri a unei soluții standard de hidroxid de sodiu de 0,1 mol/l necesară pentru neutralizarea unui extract apos dintr-un gram de produs.

3. PRINCIPIU

Se obține un extract apos al probei la 60 °C și se filtrează. Soluția filtrată este titrată cu hidroxid de sodiu standard utilizând indicatorul fenolftaleină.

4. REACTIVI

Orice tip de apă utilizată în metodă sau la pregătirea reactivilor este fără dioxid de carbon dacă se fierbe 10 minute înainte de utilizare.

4.1. **Soluția de hidroxid de sodiu:** 0,1 mol/l.

4.2. **Soluția indicator fenolftaleină,** 10 g/l în etanol (95 % V/V) utilizată ca indicator.

5. APARATURĂ

5.1. **Balanța analitică**

5.2. **Balonul conic** de capacitate de 500 ml cu gâtul șlefuit și prevăzut cu un dop de sticlă șlefuită.

5.3. **Pipetă marcată** cu capacitatea de 100 ml.

5.4. **Pipetă,** corespunzătoare pentru măsurarea a 0,5 ml din soluția indicator (punctul 4.2).

5.5. **Balon conic** de capacitate de 250 ml.

5.6. **Cilindru de măsurare** de capacitate de 250 ml.

5.7. **Biuretă** gradată la 0,1 ml.

5.8. **Baie de apă** care se poate regla la o temperatură de 60 °C ± 2 °C.

5.9. **Filtru corespunzător**

6. PROCEDURĂ

6.1. **Pregătirea probei de testare**

După cum este descris la punctul 1.2 al Dispozițiilor generale.

6.2. **Cantitatea de testare**

Se cântăresc aproximativ 10 grame din proba de testare (punctul 6.1) cu o precizie de aproximativ 10 mg și se transferă în balonul conic (punctul 5.2).

6.3. **Determinarea**

Utilizând cilindrul de măsurare de 250 ml (punctul 5.6), se adaugă 200 ml de apă proaspăt fiartă și răcită, încălzită anterior la 60 °C. Se închide balonul, se amestecă prin rotire și se așează în baia de apă la 60 °C (punctul 5.8) timp de 30 minute. Se agită balonul la intervale de circa 10 minute.

Se filtrează și se răcește substanța filtrată la aproximativ 20 °C. Aceasta trebuie să fie limpede.

Se transferă 100 ml din substanța filtrată răcită în balonul conic (punctul 5.5) utilizând pipeta (punctul 5.3). Se adaugă 0,5 ml de soluție indicator fenolftaleină (punctul 4.2) utilizând pipeta (punctul 5.4). Se titrează cu soluția volumetrică standard de hidroxid de sodiu (punctul 4.1) până la apariția unei culori roz pal, ce persistă pentru cel puțin 30 de secunde. Se determină și se înregistrează volumul utilizat cu o precizie de aproximativ 0,01 ml.

7. EXPRIMAREA REZULTATELOR

7.1. **Formula şi metoda de calcul**

Aciditatea liberă a cazeinei acide este dată de:

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

unde:

V este volumul în mililitri al soluției volumetrice standard de hidroxid de sodiu (punctul 4.1) utilizată,

T este concentrația soluției volumetrice standard de hidroxid de sodiu (punctul 4.1) în mol/l,

m este masa în grame a cantității de testare.

Se calculează aciditatea liberă cu o precizie de până la două zecimale.

7.2. **Repetabilitatea**

Diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate simultan sau în succesiune rapidă asupra aceleiași probe, de către același analist, în aceleași condiții, nu trebuie să depășească 0,02 ml din hidroxidul de sodiu 0,1 mol/l la 1 gram de produs.

Acest interval de repetabilitate ar trebui realizat în 95 % din cazuri pentru ca metoda să fie efectuată corect.

METODA 4

DETERMINAREA CENUȘII (inclusiv P_2O_5)

1. OBIECTUL ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Această metodă determină conținutul de cenușă (inclusiv P_2O_5) al:

— cazeinelor acide.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de cenușă (inclusiv P_2O_5): conținutul de cenușă, așa cum a fost determinat prin metoda specificată.

3. PRINCIPIU

O cantitate din probă este calcinată la 825 °C ± 25 °C în prezența acetatului de magneziu pentru a solidifica tot fosforul de origine organică. Cenușa finală este calculată după cântărirea reziduului rezultat din proba analizată din care se scade masa cenușii ce provine din acetatul de magneziu.

4. REACTIVI

4.1. **Soluția de acetat de magneziu tetrahidrat,** 120 g/l. Se dizolvă 120 grame de acetat de magneziu tetrahidrat [Mg $(CH_3CO_2)_2$ 4 H_2O] în apă și se completează până la un litru cu apă.

5. APARATURĂ

5.1. **Balanța analitică**

5.2. **Pipeta marcată,** 5 ml.

5.3. **Platane de siliciu sau platină** cu diametrul de circa 70 mm și adâncimea de 25 până la 50 mm.

5.4. **Etuvă de uscare** care poate fi reglată la 102 °C ± 1 °C.

5.5. **Cuptor electric** ce poate fi reglat la 825 °C ± 25 °C.

5.6. **Baia de apă de fierbere**

5.7. **Exsicator** ce conține silicagel proaspăt activat cu un indicator higrometric sau un deshidratant echivalent.

6. PROCEDURĂ

6.1. **Pregătirea probei de testare**

După cum este descris la punctul 1.2 din Dispozițiile generale.

6.2. **Pregătirea platanelor**

Se încălzesc două platane (A, B) (punctul 5.3) într-un cuptor electric (punctul 5.5) reglat la 825 °C ± 25 °C timp de 30 de minute. Se lasă ca platanele să se răcească într-o anumită măsură și apoi se așează în exsicator (punctul 5.7) la temperatura camerei unde se face cântărirea și se cântărește cu o precizie de aproximativ 0,1 mg.

6.3. **Cantitatea de testare**

Se cântăresc, cu o precizie cât mai apropiată de 0,1 mg, aproximativ 3 grame din proba de testare (punctul 6.1) direct într-unul dintre platanele pregătite (A).

6.4. **Determinare**

Utilizând pipeta (punctul 5.2) se adaugă în platanul (A) exact 5 ml de soluție de acetat de magneziu (punctul 4.1), astfel încât să fie udată toată cantitatea de testare, și se lasă timp de 20 minute.

În celălalt platan pregătit (B) se adaugă cu pipeta (punctul 5.2) exact 5 ml soluție de acetat de magneziu (punctul 4.1).

Se evaporă conținutul ambelor platane (A și B) până la deshidratare în baia de apă de fierbere (punctul 5.6).

Se amplasează ambele platane în etuva (punctul 5.4) reglată la o temperatură de 102 °C ± 1 °C timp de 30 de minute.

Se încălzește platanul A și conținutul acestuia la flacără mică, la o plită electrică sau la o lampă cu infraroșu până când cantitatea de testare este complet carbonizată, avându-se grijă să nu ia foc.

Se transferă ambele platane (A și B) în cuptorul electric (punctul 5.5) reglat la temperatura de 825 °C ± 25 °C și se încălzește timp de cel puțin o oră până la dispariția în totalitate a carbonului din platanul A. Se lasă să se răcească într-o anumită măsură ambele platane și apoi se așează în exsicator (punctul 5.7) la temperatura camerei în care se face cântărirea și se cântărește cu o precizie de aproximativ 0,1 mg.

Se repetă operațiile de încălzire timp de aproximativ 30 minute în cuptorul electric (punctul 5.5), se răcește și se cântărește până când masa rămâne constantă cu o abatere de 1 mg sau începe să crească. Se înregistrează masa minimă.

7. EXPRIMAREA REZULTATELOR

7.1. **Metoda de calcul**

Conținutul de cenușă, inclusiv P_2O_5, dintr-o probă, exprimat ca procentaj raportat la masă, este dat de:

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

unde:

m_0 este masa în grame a cantității de testare;

m_1 este masa în grame a platanului A și a reziduului;

m_2 este masa în grame a platanului A pregătit;

m_3 este masa în grame a platanului B și a reziduului;

m_4 este masa în grame a platanului B pregătit.

Se calculează rezultatul final cu o precizie de aproximativ 0,01 %.

7.2. **Repetabilitatea**

Diferența rezultatelor determinărilor efectuate simultan sau în succesiune rapidă asupra aceleiași probe, de către același analist, în aceleași condiții, nu trebuie să depășească 0,1 grame la 100 de grame de produs.

Intervalul de repetabilitate ar trebui realizat în 95 % din cazuri pentru ca metoda să fie efectuată corect.

METODA 5

DETERMINAREA CENUȘII (inclusiv P_2O_5)

1. OBIECTUL ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Această metodă determină conținutul de cenușă (inclusiv P_2O_5) al:

— cazeinei cheag.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de cenușă (inclusiv P_2O_5): conținutul de cenușă așa cum a fost determinat prin metoda specificată.

3. PRINCIPIU

O cantitate din probă este calcinată la 825 °C ± 25 °C până se ajunge la masă constantă. Reziduul este determinat prin cântărire și calculat ca procentaj raportat la masa probei.

4. APARATURĂ

4.1. **Balanța analitică**

4.2. **Platan de siliciu sau platină** cu diametrul de circa 70 mm și adâncime de 25 până la 50 mm.

4.3. **Cuptor electric** cu circularea aerului ce poate fi reglat la 825 °C ± 25 °C.

4.4. **Exsicator** ce conține silicagel proaspăt activat cu un indicator higrometric sau un deshidratant echivalent.

5. PROCEDURĂ

5.1. **Pregătirea probei de testare**

După cum este descris la punctul 1.2. din Dispozițiile generale.

5.2. **Pregătirea platanului**

Se încălzește platanul (punctul 4.2) într-un cuptor electric (punctul 4.3) reglat la 825 °C ± 25 °C timp de 30 minute. Se lasă să se răcească platanul într-o anumită măsură și apoi se așează în exsicator (punctul 4.4) până se ajunge la temperatura camerei în care se face cântărirea și se cântărește cu o precizie de aproximativ 0,1 mg.

5.3. **Cantitatea de testare**

Se cântăresc aproximativ 3 grame din proba de testare (punctul 5.1) cu o precizie de aproximativ 0,1 mg direct în platanul pregătit.

5.4. **Determinarea**

Se încălzește platanul și conținutul acestuia la flacără mică, la o plită electrică sau la o lampă cu infraroșu până când cantitatea de testare este complet carbonizată, avându-se grijă să nu ia foc.

Se transferă platanul în cuptorul electric (punctul 4.3) reglat la temperatura de 825 °C ± 25 °C și se încălzește timp de cel puțin o oră până la dispariția în totalitate a carbonului din platan. Se lasă să se răcească într-o anumită măsură platanul și apoi se așează în exsicator (punctul 4.4) până se ajunge la temperatura camerei în care se face cântărirea și se cântărește cu o precizie de aproximativ 0,1 mg.

Se repetă operațiile de încălzire timp de aproximativ 30 minute în cuptorul electric (punctul 4.3), se răcește și se cântărește până când masa rămâne constantă cu o abatere de 1 mg sau începe să crească. Se înregistrează masa minimă.

6. EXPRIMAREA REZULTATELOR

6.1. **Metoda de calcul și formula**

Conținutul de cenușă al probei, inclusiv P_2O_5, exprimat ca procent raportat la masă, este dat de:

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

unde:

m_0 este masa în grame a cantității de testare;

m_1 este masa în grame a platanului și a reziduului;

m_2 este masa în grame a platanului pregătit.

Se calculează rezultatul final cu o precizie de aproximativ 0,01 %.

6.2. **Repetabilitatea**

Diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate simultan sau în succesiune rapidă asupra aceleiași probe, de către același analist, în aceleași condiții, nu trebuie să depășească 0,15 grame de cenușă la 100 grame de produs.

Intervalul de repetabilitate ar trebui realizat în 95 % din cazuri pentru ca metoda să fie efectuată corect.

METODA 6

DETERMINAREA pH-ului

1. OBIECTUL ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Această metodă determină pH-ul:

— cazeinaților.

2. DEFINIȚIE

pH-ul cazeinaților: pH-ul la 20 °C al unei soluții apoase de cazeinați așa cum a fost determinat prin metoda specificată.

3. PRINCIPIU

Determinarea electrometrică a pH-ului unei soluții apoase de cazeinați, utilizând un aparat de măsurare a pH-ului.

4. REACTIVI

Orice tip de apă utilizat la pregătirea reactanților sau în procedura (6) este o apă recent distilată care a fost protejată de absorbția de dioxid de carbon.

4.1. **Soluții tampon** pentru calibrarea dispozitivului de măsurare a pH-ului (punctul 5.2)

Două soluții tampon standard cu valorile pH-ului la 20 °C care sunt cunoscute cu o aproximație de două zecimale și care delimitează valoarea pH-ului probei în cadrul testului, de exemplu soluția tampon de ftalat cu pH-ul aproximativ 4 și soluția tampon borax cu pH-ul aproximativ 9.

5. APARATURĂ

5.1. **Balanță** cu o precizie de 0,1 grame.

5.2. **pH-metru** cu o sensibilitate de 0,05 unități pH, cu un electrod calibrat corespunzător, de exemplu electrod de sticlă și un calomel sau alt electrod de referință.

5.3. **Termometru** cu precizie de 0,5 °C.

5.4. **Balon conic** cu capacitatea de 100 ml prevăzut cu un dop din sticlă șlefuită.

5.5. **Pahar de laborator** cu capacitatea de 50 ml.

5.6. **Mixer**

5.7. **Pahar de laborator** pentru mixer (punctul 5.6), cu o capacitate de cel puțin 250 ml.

6. PROCEDURĂ

6.1. **Pregătirea probei de testare**

După cum este descris la punctul 1.2 din Dispozițiile generale.

6.2. **Determinarea**

6.2.1 *Etalonarea pH-metrului*

Se reglează temperatura soluțiilor tampon (punctul 4.1) la 20 °C și se etalonează pH-metrul conform instrucțiunilor de fabricație.

NOTE

1. Etalonarea trebuie realizată în timp ce baloanele stau așezate timp de 20 minute (a se vedea punctul 6.2.2).
2. Dacă se testează o serie de probe, se verifică etalonarea pH-metrului cu una sau mai multe dintre soluțiile tampon standard, fiecare cel puțin 30 de minute.

6.2.2. *Pregătirea soluției de testare*

Se transferă în paharul de laborator (punctul 5.7) 95 ml de apă, se adaugă 5 grame din proba de testare (punctul 6.1) și se amestecă cu mixerul (punctul 5.6) timp de 30 de secunde.

Se lasă să stea timp de 20 de minute la o temperatură de circa 20 °C, acoperit cu o sticlă de ceas.

6.2.3. *Măsurarea pH-ului*

6.2.3.1. Se toarnă 20 ml de soluție în paharul de laborator (punctul 5.5) și se determină imediat pH-ul acestui lichid, utilizând pH-metrul (punctul 5.2) după ce s-a clătit cu grijă electrodul de sticlă cu apă.

6.2.3.2. Se măsoară pH-ul.

7. EXPRIMAREA REZULTATELOR

7.1. **Înregistrarea pH-ului**

Se înregistrează, ca pH al soluției apoase de cazeinați, valoarea citită pe cadranul pH-metrului cu cel puțin două zecimale.

7.2. **Repetabilitatea**

Diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate simultan sau în succesiune rapidă asupra aceiași probe, de către același analist, în aceleași condiții, nu trebuie să depășească 0, 05 unități pH.

Acest interval de repetabilitate ar trebui realizat în 95 % din cazuri pentru ca metoda să fie efectuată corect.