

31985L0503

L 308/12

DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH

20.11.1985

**PIERWSZA DYREKTYWA KOMISJI**  
**z dnia 25 października 1985 r.**  
**w sprawie metod analizy kazein i kazeinianów przeznaczonych do spożycia przez ludzi**  
(85/503/EWG)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Europejską Wspólnotę Gospodarczą,

uwzględniając dyrektywę Rady 83/417/EWG z dnia 25 lipca 1983 r. w sprawie zbliżenia ustawodawstw Państw Członkowskich odnoszących się do niektórych białek mleka (kazein i kazeinianów) przeznaczonych do spożycia przez ludzi<sup>(1)</sup>, w szczególności jej art. 9 lit. b),

a także mając na uwadze, co następuje:

artykuł 9 lit. b) dyrektywy 83/417/EWG nakłada wymóg, aby przy kontroli składu niektórych jadalnych kazein i kazeinianów były stosowane wspólnotowe metody analizy;

istnieje możliwość przyjęcia początkowej serii metod odnoszących się do zakończonych badań;

środki przewidziane tą dyrektywą są zgodne z opinią Stałego Komitetu ds. Środków Spożywczych,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DYREKTYWĘ:

*Artykuł 1*

Państwa Członkowskie podejmą wszelkie środki konieczne w celu zapewnienia, aby analizy niezbędne do weryfikacji kryte-

riów wymienionych w załączniku I były dokonywane zgodnie z metodami opisanymi w załączniku II.

*Artykuł 2*

Państwa Członkowskie wprowadzą w życie przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne niezbędne do wykonania niniejszej dyrektywy przed dniem 1 maja 1987 r. i niezwłocznie powiadomią o tym Komisję.

*Artykuł 3*

Niniejsza dyrektywa skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 25 października 1985 r.

W imieniu Komisji

COCKFIELD

Wiceprzewodniczący

<sup>(1)</sup> Dz.U. L 237 z 26.8.1983, str. 25.

## ZAŁĄCZNIK I

**ZAKRES PIERWSZEJ DYREKTYWY WSPÓLNOTY DOTYCZĄCEJ METOD ANALIZY KAZEIN I KAZEINIANÓW PRZEZNACZONYCH DO SPOŻYCIA PRZEZ LUDZI****I. Przepisy ogólne****II. Oznaczanie zawartości wody:**

- w kazeinach kwasowych przy zastosowaniu metody 1, załącznik II
- w kazeinach podpuszczkowych przy zastosowaniu metody 1, załącznik II
- w kazeinianach przy zastosowaniu metody 1, załącznik II

**III. Oznaczanie zawartości białek:**

- w kazeinach kwasowych przy zastosowaniu metody 2, załącznik II
- w kazeinach podpuszczkowych przy zastosowaniu metody 2, załącznik II
- w kazeinianach przy zastosowaniu metody 2, załącznik II

**IV. Oznaczanie kwasowości miareczkowej:**

- w kazeinach kwasowych przy wykorzystaniu metody 3, załącznik II

**V. Oznaczanie popiołu (zawierającego P2O5):**

- w kazeinach kwasowych przy wykorzystaniu metody 4, załącznik II
- w kazeinach podpuszczkowych przy wykorzystaniu metody 5, załącznik II

**VI. Oznaczanie pH:**

- w kazeinianach przy zastosowaniu metody 6, załącznik II
-

## ZAŁĄCZNIK II

## METODY ANALIZY DOTYCZĄCEJ SKŁADU KAZEIN I KAZEINIANÓW PRZEZNACZONYCH DO SPOŻYCIA PRZEZ LUDZI

## PRZEPISY OGÓLNE

## 1. PRZYGOTOWANIE PRÓBKII DO ANALIZY

## 1.1. Zasada ogólna

Masa próbki przekazanej do analizy laboratoryjnej musi wynosić co najmniej 200 g.

## 1.2. Przygotowanie próbki do analizy w laboratorium.

1.2.1. Występujące w próbce laboratoryjnej różnego rodzaju grudki itp. dokładnie rozkruszyć i wymieszać poprzez wielokrotne wytrząsanie i odwracanie pojemnika (w razie konieczności przeprowadzać tę czynność po włożeniu całej próbki laboratoryjnej do szczelnego pojemnika o dostatecznej dla tego celu pojemności (dwukrotna objętość próbki)).

1.2.2. Przenieść reprezentatywną, dokładnie wymieszaną część próbki laboratoryjnej (1.2.1), tj. około 50 g, na sito (3.3).

1.2.3. Jeżeli 50-gramowa próbka do badania przejdzie całkowicie lub prawie całkowicie (przynajmniej 95 % wagowo) przez sito (3.3), użyć do oznaczenia próbki przygotowanej jak w pkt 1.2.1.

1.2.4. W przeciwnym razie zmielić porcję 50-gramową w młynku (3.4) aż do spełnienia kryterium odsiewania (1.2.3). Niezwłocznie przenieść całą odsianą próbkę do hermetycznego pojemnika o dostatecznej pojemności (podwójna objętość próbki) i dokładnie wymieszać poprzez wielokrotne wytrząsanie i odwracanie. Podczas tych czynności uważać, aby nie doszło do zmian w zawartości wody w produkcie.

1.2.5. Po przygotowaniu próbki do badań wszelkie oznaczenia powinny być przeprowadzane możliwie jak najszybciej.

## 1.3. Pojemniki

Próbkę należy zawsze przechowywać w hermetycznym, nieprzepuszczającym powietrza i niewchłaniającym wilgoci pojemniku.

## 2. ODCZYNNIKI

## 2.1. Woda

2.1.1. Ilekroć mowa jest o wodzie do roztworów do rozcieńczania lub do mycia, należy używać wody destylowanej lub odmineralizowanej albo o co najmniej równorzędnej czystości.

2.1.2. Ilekroć bez dalszych wskazań mówi się o „roztworze” lub „rozcieńczeniu”, chodzi tu o „roztwór wodny” lub „rozcieńczenie wodą”.

## 2.2. Odczynniki

Wszystkie stosowane odczynniki muszą odpowiadać jakości analitycznej, chyba że ustalono inaczej.

## 3. SPRZĘT

## 3.1. Spis sprzętu

Spis sprzętu zawiera jedynie pozycje specjalistycznego stosowania oraz pozycje szczególnego przeznaczenia.

## 3.2. Waga analityczna

Przez wagę analityczną rozumie się wagę umożliwiającą ważenie z dokładnością co najmniej do 0,1 mg.

## 3.3. Sito do badań

Przeznaczone do stosowania sita powinny być wyposażone w wieczko, posiadać średnicę 200 mm oraz być wykonane z siatki drucianej o nominalnym wymiarze oczek 500 mm. Tolerancje dla oczek oraz dopuszczalne średnice drutu podane są w normach ISO 3310/1 (Sita do badań - Wymogi techniczne i przeprowadzanie badań. Część I: Metalowa siatka druciana. ISO 3310/1-1975).

Sita powinny być wyposażone w odbieralnik.

## 3.4. Młynek

Jeżeli konieczne jest zmielenie próbki laboratoryjnej (patrz 1.2.4), to aby nie dopuścić do nadmiernego przegrzania i utraty lub absorpcji wody, nie może być zastosowany młynek młotkowy.

4. WYRAŻANIE WYNIKÓW
- 4.1. **Wyniki**

Wynik zamieszczony w Protokole z analizy jest wartością średnią, uzyskaną z dwóch oznaczeń spełniających kryterium powtarzalności dla tej metody.
- 4.2. **Obliczanie wartości procentowych**

O ile nie zostało to inaczej określone, wynik musi być podany w procentach masy próbki.
5. PROTOKÓŁ Z ANALIZY

Protokół z analizy musi wymienić stosowaną metodę analizy, jak również uzyskane wyniki. Ponadto powinien zawierać wszystkie szczegóły procedury niewymienione w metodzie analizy, względnie te, które są fakultatywne, jak również wszelkie okoliczności mogące mieć wpływ na uzyskane wyniki. Protokół z analizy powinien zawierać pełną informację niezbędną do całkowitego zidentyfikowania próbki.

#### METODA 1

### OZNACZANIE ZAWARTOŚCI WODY

1. ZAKRES STOSOWANIA

Metoda określa zawartość wody:

  - w kazeinach kwasowych
  - w kazeinach podpuszczkowych
  - w kazeinianach
2. DEFINICJA

Przez zawartość wody w kazeinach i kazeinianach rozumie się ubytek masy oznaczony niniejszą metodą.
3. ZASADA OZNACZANIA

Pozostałość masy próbki do analizy oznaczana jest po wysuszeniu do stałej masy pod ciśnieniem atmosferycznym w suszarce w temperaturze  $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ubytek masy oblicza się w procentach masy próbki.
4. SPRZĘT
- 4.1. **Waga analityczna**
- 4.2. **Naczynka** wagowe: o płaskim dnie, wykonane z materiałów niekorodujących w warunkach analizy, takich jak np. nikiel, aluminium, stal nierdzewna lub szkło. Naczynka wagowe muszą mieć szczelnie przylegające, ale łatwo podnoszone wieczka. Odpowiednie wymiary to: średnica od 60 do 80 mm, a głębokość około 25 mm.
- 4.3. **Suszarka pod ciśnieniem atmosferycznym**, dobrze przewietrzana, kontrolowana termostatycznie, z regulacją temperatury ( $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Temperatura powinna być jednakowa w całej suszarce.
- 4.4. **Eksykator**, zawierający świeżo aktywowany żel krzemionkowy ze wskaźnikiem zawartości wody lub równorzędnym środkiem osuszającym.
- 4.5. **Odpowiednie urządzenie do operowania naczynkami wagowymi**, np. szczypcy laboratoryjne.
5. WYKONANIE OZNACZENIA
- 5.1. **Przygotowanie próbki do analizy**

Patrz sekcja 1.2. przepisów ogólnych.

**5.2. Przygotowanie naczynka wagowego.**

- 5.2.1. Przynajmniej przez godzinę ogrzewać odkryte naczynko wagowe oraz jego wieczko (4.2) w suszarce (4.3) w kontrolowanej temperaturze  $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- 5.2.2. Umieścić wieczko na naczynku wagowym, przenieść przykryte naczynko wagowe do eksykatora (4.4), schłodzić do temperatury pokoju wagowego i zważyć z dokładnością do 0,1 mg ( $m_0$ )

**5.3. Próbkę do badań**

Umieścić 3 do 5 g próbki do badań (5.1) w naczynku wagowym, przykryć wieczkiem i zważyć z dokładnością do 0,1 mg ( $m_1$ ).

**5.4. Oznaczanie**

- 5.4.1. Odkryć naczynko wagowe i umieścić je na cztery godziny wraz z wieczkiem w suszarce (4.3) w temperaturze  $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- 5.4.2. Umieścić ponownie wieczko na naczynku wagowym, przenieść do eksykatora, schłodzić do temperatury pokoju wagowego i zważyć z dokładnością do 0,1 mg.
- 5.4.3. Odkryć naczynko wagowe i przez godzinę ogrzewać je w ponownie wraz z wieczkiem w suszarce. Następnie powtórzyć czynność 5.4.2.
- 5.4.4. Jeśli masa uzyskana według 5.4.3 jest mniejsza od masy uzyskanej według 5.4.2 o więcej niż 1 mg, powtórzyć czynność według 5.4.3.

Jeśli nastąpi wzrost masy, zastosować w obliczeniu (6.1) najniższą zanotowaną masę.

Zanotować ostateczną masę jako  $m_2$ . Łączny czas suszenia nie powinien normalnie przekraczać sześciu godzin.

**6. WYRAŻANIE WYNIKÓW****6.1. Metoda obliczenia**

Ubytek masy w wyniku suszenia próbki wyrażony w procentach masy podaje wzór:

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

w którym:

$m_0$  = masa naczynka wagowego wraz z wieczkiem w g (5.2)

$m_1$  = masa naczynka wagowego wraz z wieczkiem oraz próbki do badań przed suszeniem (5.3)

$m_2$  = masa naczynka wagowego wraz z wieczkiem oraz próbki do badań po suszeniu (5.4.3 lub 5.4.4)

Obliczyć ubytek w wyniku suszenia z dokładnością do 0,01 %.

**6.2. Powtarzalność**

Różnica wyników między dwoma oznaczeniami wykonanymi jednocześnie lub w krótkich odstępach na tej samej próbce, przez tego samego analityka i w tych samych warunkach nie może przekraczać 0,1 g wody na 100 g produktu.

Odstęp czasu między następującymi po sobie oznaczeniami dla określenia powtarzalności nie powinien przekraczać 95 % czasu potrzebnego do prawidłowego wykonania metody.

**METODA 2****OZNACZANIE ZAWARTOŚCI BIAŁEK****1. ZAKRES STOSOWANIA**

Przy pomocy tej metody określa się zawartość białek:

- w kazeinach kwasowych,
- w kazeinach podpuszczkowych,
- w kazeinianach,

z wyjątkiem zawierających kazeinian amonowy względnie inne amonowe lub azotowe niebiałkowe związki.

## 2. DEFINICJA

Zawartość białka to zawartość azotu, oznaczona określoną metodą, następnie pomnożona przez 6,38 i wyrażona jako procent masy.

## 3. ZASADA OZNACZANIA

Przeznaczona do badania próbka jest rozpuszczana w mieszaninie siarczanu potasu i kwasu siarkowego w obecności siarczanu miedziowego (II) jako katalizatora celem przekształcenia azotu organicznego w azot amoniakalny. Amoniak jest destylowany i wchłaniany do roztworu kwasu borowego, a następnie miareczkowany przy użyciu standardowego roztworu kwasu chlorowodorowego. Zawartość azotu po pomnożeniu przez 6,38 daje zawartość białek.

## 4. ODCZYNNIKI

4.1. **Stężony kwas siarkowy**,  $S_2O$  1,84 g/ml

4.2. **Bezwodny siarczan potasu** ( $K_2SO_4$ )

4.3. **5•hydrat siarczanu miedzi (II)** ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )

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

4.5. **Kwas borowy** - roztwór 40 g/l

4.6. **Wodorotlenek sodu**, stężony roztwór wodny 30 % (m/m), wolny od węglanów

4.7. **Kwas chlorowodorowy**, 0,1 ml/l

4.8. **Indykator o składzie mieszanym**. Zmieszać jednakowe objętości roztworu czerwieni metylowej, 2 g/l w co najmniej 95 % (V/V) etanolu oraz roztworu 1 g/l błękitu metylenowego w co najmniej 95 % (V/V) etanolu.

## 5. SPRZĘT

5.1. **Waga analityczna**

5.2. **Kolba Kjeldahla** o pojemności 500 ml

5.3. **Aparat do spalania**, utrzymujący kolbę Kjeldahla (5.2) w pozycji pochylonej, wyposażony w źródło ogrzewania, które nie będzie ogrzewać części kolby powyżej powierzchni płynnych zawartości.

5.4. **Chłodnica** z prostą rurką wewnętrzną.

5.5. **Rurka odpływowa z zabezpieczeniem kulkowym**, połączona z dolnym końcem chłodnicy (5.4) rurką gumową lub złączem ze szkła szlifowanego. W przypadku złącza gumowego końcówki szklane powinny znajdować się obok siebie.

5.6. **Deflegmator** połączony z kolbą Kjeldahla (5.2) i z chłodniczką (5.4) elastycznymi, dokładnie dopasowanymi gumowymi lub innymi stosownymi korkami.

5.7. **Kolba stożkowa** o pojemności 500 ml.

5.8. **Wyskalowane cylindry** o pojemności 50 ml i 100 ml.

5.9. **Biureta** o pojemności 50 ml wyskalowana co 0,1 ml.

5.10. **Substancje ułatwiające wrzenie:**

5.10.1. Do spalania: małe kawałki twardej porcelanki lub perełki szklane

5.10.2. Do destylacji: świeżo wyprażone kawałki pumeksu

## 6. METODA OZNACZANIA

6.1. **Przygotowanie próbki do analizy**

Patrz sekcja 1.2. przepisów ogólnych.

## 6.2. Próba na obecność azotu amoniakalnego

W razie podejrzenia obecności kazeinianów amonowych lub innych związków amonowych wykonać następującą próbę. Do 1 g próbki w małej kolbie stożkowej dodać 10 ml wody i 100 mg tlenku magnezu. Sflukać przylegający do ścianek kolby tlenek magnezu oraz zamknąć kolbę korkiem, wkładając kawałek czerwonego zwilżonego papierka lakmusowego między korek a szyjkę kolby. Wymieszać dokładnie zawartość kolby i ogrzać ją w łaźni wodnej do temperatury 60–65 °C. Jeśli papierek lakmusowy zabarwi się na niebiesko w ciągu 15 minut, wykaże obecność amoniaku i wówczas metoda nie może być stosowana (patrz sekcja 1).

## 6.3. Próba ślepa

Równocześnie z oznaczaniem zawartości azotu w próbce przeprowadzić próbę ślepa, używając 0,5 g sacharozy (4.4) zamiast próbki do analizy, korzystając z tego samego aparatu, stosując te same ilości wszystkich odczynników i tę samą procedurę, opisaną w 6.5. Jeśli miareczkowanie w próbie ślepej przekroczy 0,5 ml na 0,1 mol/l kwasu, wówczas należy sprawdzić odczynniki i oczyścić zanieczyszczony odczynnik lub odczynniki lub je wymienić.

## 6.4. Próbką do analizy

Przenieść do kolby Kjeldahla (5.2) 0,3–0,4 g badanej próbki (6.1) zważonej z dokładnością do 0,1 mg.

## 6.5. Oznaczanie

6.5.1. Umieścić w kolbie kilka kawałków porcelanki lub kilka perełek szklanych (5.10.1) i około 10 g bezwodnego siarczanu potasu (4.2).

Dodać 0,2 g siarczanu (4.3) miedzi (III) i przemyć szyjkę kolby niewielką ilością wody. Dodać 20 ml stężonego kwasu siarkowego (4.1). Wymieszać zawartość kolby.

Łagodnie ogrzewać w aparacie do spalania aż do ustąpienia piany, a następnie powoli prowadzić wrzenie aż do chwili kiedy roztwór stanie się klarowny, utrzymując blade zielono-niebieskie zabarwienie. Od czasu do czasu poruszać wirowo kolbę.

Utrzymywać wrzenie, regulując temperaturę tak, aby para skropiła się w środku szyjki kolby. Ogrzewanie kontynuować przez 90 minut, unikając miejscowego przegrzania.

Schłodzić do temperatury pokojowej. Ostrożnie dodać ok. 200 ml wody oraz kilka kawałków pumeksu (5.10.2). Wymieszać i ponownie ochłodzić.

6.5.2. Przenieść do kolby stożkowej (5.7) 50 ml roztworu kwasu borowego (4.5) i 4 krople wskaźnika (4.8). Zmieszać. Ustawić kolbę stożkową pod chłodnicą (5.4), tak aby zakończenie rurki odpływowej (5.5) było zanurzone w roztworze kwasu borowego. Posługując się wyskalowanym cylindrem (5.8) dodać do kolby Kjeldahla 80 ml roztworu wodorotlenku sodu (4.6). Podczas tej czynności trzymać kolbę w pozycji nachylonej tak, aby roztwór ściekał po ściance kolby, tworząc na dnie warstwę.

Niezwłocznie połączyć kolbę Kjeldahla z chłodnicą za pomocą deflegmatora (5.6).

Delikatnie obracać kolbę Kjeldahla celem wymieszania jej zawartości. Delikatnie podgrzewać unikając pienienia. Destylować dalej, tak aby zebrać około 150 ml destylatu w ciągu 30 minut. Temperatura destylatu nie powinna przekraczać 25 °C. Na mniej więcej 2 minuty przed zakończeniem destylacji obniżyć kolbę stożkową tak, aby końcówka rurki odpływowej nie pozostawała dłużej zanurzona w roztworze kwasu, po czym przepłukać końcówkę niewielką ilością wody. Zakończyć ogrzewanie, zdjąć rurkę odpływową oraz przepłukać jej ścianki od wewnątrz i od zewnątrz niewielką ilością wody, zbierając popłuczyny w kolbie stożkowej.

6.5.3. Miareczkować destylat w kolbie stożkowej, stosując standardowy objętościowy roztwór kwasu chlorowodorowego (4.7).

## 7. WYRAŻANIE WYNIKÓW

### 7.1. Wzór i metoda obliczeń

Zawartość białek w próbce, wyrażoną w procentach masy podaje wzór:

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

w którym:

$V_1$  to objętość stosowanego w oznaczaniu (6.5) standardowego objętościowego roztworu kwasu chlorowodorowego (4.7), w mililitrach;

$V_2$  to objętość stosowanego w próbie ślepej (6.3) standardowego objętościowego roztworu kwasu chlorowodorowego, w mililitrach;

T to stężenie standardowego objętościowego roztworu kwasu chlorowodorowego (4.7), w mol/l;

m to masa próbki do analizy wyrażona w gramach.

Obliczyć zawartość białka z dokładnością do 0,1 %.

## 7.2. Powtarzalność

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń wykonanych równocześnie lub w krótkich odstępach na tej samej próbce przez tego samego analityka i w tych samych warunkach nie może przekraczać 0,5 g białka na 100 g produktu.

Odstęp czasu między następującymi po sobie oznaczeniami dla określenia powtarzalności nie powinien przekraczać 95 % czasu potrzebnego do prawidłowego wykonania metody.

## METODA 3

### OZNACZANIE KWASOWOŚCI MIARECZKOWEJ

#### 1. ZAKRES STOSOWANIA

Metoda służy oznaczaniu kwasowości miareczkowej:

— kazein kwasowych

#### 2. DEFINICJA

Kwasowość miareczkowa kazein kwasowych to wyrażona w mililitrach objętość standardowego roztworu 0,1 mol/l wodorotlenku sodu niezbędnego do zneutralizowania wyciągu wodnego 1 g produktu.

#### 3. ZASADA OZNACZANIA

Zasada polega na przefiltrowaniu ekstraktu wodnego próbki uzyskanego w temperaturze 60 °C. Filtrat jest miareczkowany wobec standardowego wodorotlenku sodu przy użyciu fenoloftaleiny jako wskaźnika.

#### 4. ODCZYNNIKI

Wszelka woda stosowana w metodzie analitycznej lub w przygotowaniu odczynników musi być wolna od dwutlenku węgla, co uzyskuje się poprzez 10-minutowe utrzymywanie wrzenia przed użyciem.

##### 4.1. **Roztwór wodorotlenku sodu:** 0,1 mol/l.

##### 4.2. **Roztwór wskaźnika fenoloftaleiny,** 10 g/l w etanolu (95 % V/V), zneutralizowanym wobec wskaźnika.

#### 5. APARATURA

##### 5.1. **Waga analityczna**

##### 5.2. **Kolba stożkowa** o pojemności 500 ml ze szlifowaną szyjką, posiadająca korek ze szkła szlifowanego.

##### 5.3. **Pipeta jednomiarowa,** o pojemności 100 ml.

##### 5.4. **Pipeta dostosowana** do odmierzenia 0,5 ml roztworu wskaźnika.

##### 5.5. **Kolba stożkowa,** o pojemności 250 ml.

##### 5.6. **Cylinder pomiarowy** o pojemności 250 ml.

##### 5.7. **Biureta** wyskalowana co 0,1 ml.

##### 5.8. **Łaźnia wodna** umożliwiająca utrzymanie temperatury 60 °C ± 2 °C.

##### 5.9. **Odpowiedni filtr.**

#### 6. METODA OZNACZANIA

##### 6.1. **Przygotowanie próbki do analizy**

Patrz sekcja 1.2 przepisów ogólnych.



**6.2. Próbkę do badania**

Odważyć około 10 g próbki do badania (6.1) z dokładnością do 10 mg i przenieść ją do kolby stożkowej (5.2).

**6.3. Oznaczanie**

Stosując cylinder pomiarowy o pojemności 250 ml (5.6), dodać 200 ml świeżo przegotowanej i schłodzonej wody, uprzednio ogrzanej do 60 °C. Zamknąć kolbę korkiem, wymieszać, wprawiając w ruch wirowy i umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 60 °C (5.8) na 30 minut. Wyrzucić kolbę w odstępach około 10 minut.

Przefiltrować i schłodzić filtrat do około 20 °C. Filtrat musi być klarowny.

Przenieść 100 ml schłodzonego filtratu do kolby stożkowej (5.5), używając pipety (5.3). Dodać 0,5 ml roztworu wskaźnika fenoloftaleiny (4.2), posługując się pipetą (5.4). Miareczkować standardowym objętościowym roztworem wodorotlenku sodu (4.1) aż do pojawienia się bladoróżowego zabarwienia, utrzymującego się co najmniej przez 30 sekund. Oznaczyć i zanotować użytą objętość z dokładnością do 0,01 ml.

**7. WYRAŻANIE WYNIKÓW****7.1. Wzór i metoda obliczeń**

Kwasowość miareczkową kazeiny kwasowej określa się wzorem:

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

w którym:

V to objętość użytego standardowego objętościowego roztworu wodorotlenku sodu (4.1), w mililitrach;

T to stężenie standardowego objętościowego roztworu wodorotlenku sodu (4.1), w mol/l;

m to masa próbki do badania, w gramach.

Obliczyć kwasowość miareczkową do drugiego miejsca po przecinku.

**7.2. Powtarzalność**

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń wykonanych równocześnie lub w krótkich odstępach czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka i w tych samych warunkach nie może przekraczać 0,02 ml, 0,1 mol/l wodorotlenku sodu na 1 g produktu.

Odstęp czasu między następującymi po sobie oznaczeniami dla określenia powtarzalności nie powinien przekraczać 95 % czasu potrzebnego do prawidłowego wykonania metody.

**METODA 4****OZNACZANIE POPIOŁU**

(łącznie z P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)

**1. ZAKRES STOSOWANIA**

Metoda służy oznaczaniu zawartości popiołu (łącznie z P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>):

— w kazeinach kwasowych

**2. DEFINICJA**

Zawartość popiołu (łącznie z P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) to zawartość popiołu oznaczona przy zastosowaniu niniejszej metody.

**3. ZASADA OZNACZANIA**

Próbka do analizy zostaje spopielona w temperaturze 825 °C ± 25 °C w obecności octanu magnezu dla związania całego fosforu pochodzenia organicznego. Końcową zawartość popiołu oblicza się po zważeniu pozostałości i odjęciu masy popiołu pochodzącego z octanu magnezu.

**4. ODCZYNNIKI**

4.1. **Roztwór 4-hydratu octanu magnezu**, 120 g/l. Rozpuścić w wodzie 120 g 4•hydratu octanu magnezu [Mg (CH<sub>3</sub> CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 4 H<sub>2</sub>O] i uzupełnić wodą do 1 litra.

**5. APARATURA****5.1. Waga analityczna**

5.2. **Pipeta jednomiarowa**, 5 ml.

5.3. **Krzemionkowe lub platynowe tygle** o średnicy około 70 mm i głębokości od 25 do 50 mm.

5.4. **Suszarka** umożliwiająca utrzymanie temperatury 102 °C ± 1 °C.

5.5. **Piec elektryczny** umożliwiający utrzymanie temperatury 825 °C ± 25 °C.

5.6. **Wrząca łaźnia wodna.**

- 5.7. **Eksykator** zawierający świeżo aktywowany żel krzemionkowy wraz z wskaźnikiem zawartości wody lub równorzędny środek osuszający.
6. METODA OZNACZANIA
- 6.1. **Przygotowanie próbki do analizy**
- Patrz sekcja 1.2 przepisów ogólnych.
- 6.2. **Przygotowanie tygli**
- Ogrzewać przez 30 minut dwa tygłe (A, B) (5.3) w piecu elektrycznym (5.5) w temperaturze  $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ . Ostudzić nieco tygłe, a następnie umieścić je w eksykatorze (5.7) w temperaturze pokoju wagowego oraz zważyć z dokładnością do 0,1 mg.
- 6.3. **Próbka do badania**
- Odważyć z dokładnością do 0,1 mg około 3 g próbki do badania bezpośrednio do jednego z przygotowanych tygli (A).
- 6.4. **Oznaczanie**
- Posługując się pipetą (5.2) dodać do tygla (A) dokładnie 5 ml roztworu octanu magnezu (4.1) celem zwilżenia całej badanej próbki i pozostawić na 20 minut.
- Posługując się pipetą (5.2), dodać dokładnie 5 ml roztworu octanu magnezu (4.1) do drugiego przygotowanego tygla (B).
- Odparować zawartości obydwu tygli (A i B) do suchości na wrzącej łaźni wodnej (5.6).
- Umieścić na 30 minut oba tygłe w suszarce (5.4) w temperaturze  $102\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ .
- Ogrzewać tygiel A wraz z zawartością na małym ogniu, płycie grzejnej lub w podczerwieni do czasu, aż badana próbka zostanie całkowicie zwęglona. Uważać, aby się nie zapaliła.
- Przenieść oba tygłe (A i B) do pieca elektrycznego (5.5) w temperaturze  $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$  i ogrzewać co najmniej przez godzinę, dopóki nie zniknie cały węgiel z tygla A. Ostudzić nieco oba tygłe i następnie umieścić w eksykatorze (5.7) o temperaturze pokoju wagowego oraz zważyć z dokładnością do 0,1 mg.
- Powtórzyć czynność ogrzewania w piecu elektrycznym przez około 30 minut, schładzając i ważąc do czasu, aż masa pozostanie niezmienną w granicach 1 mg lub zacznie wzrastać. Zanotować masę minimalną.
7. WYRAŻANIE WYNIKÓW
- 7.1. **Metoda obliczeń**
- Zawartość popiołu w próbce, łącznie z  $P_2O_5$ , wyrażona w procentach masy, określa się wzorem:
- $$\frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100$$
- w którym:
- $m_0$  to masa badanej próbki, w gramach.
- $m_1$  to masa tygla A i pozostałości, w gramach.
- $m_2$  to masa przygotowanego tygla A, w gramach.
- $m_3$  to masa tygla B i pozostałości, w gramach.
- $m_4$  to masa przygotowanego tygla B, w gramach.
- Obliczyć ostateczny wynik z dokładnością do 0,01 %.
- 7.2. **Powtarzalność**
- Różnica wyników między oznaczeniami wykonanymi jednocześnie lub w krótkich odstępach czasu na tej samej próbce przez tego samego analityka i w tych samych warunkach nie powinna przekraczać 0,1 g na 100 g produktu.
- Odstęp czasu między następującymi po sobie oznaczeniami dla określenia powtarzalności nie powinien przekraczać 95 % czasu potrzebnego do prawidłowego wykonania metody.

## METODA 5

## OZNACZANIE POPIOŁU

(łącznie z  $P_2O_5$ )

## 1. ZAKRES STOSOWANIA

Metoda służy oznaczaniu zawartości popiołu (łącznie z  $P_2O_5$ ):

— w kazeinach podpuszczkowych

## 2. DEFINICJA

Zawartość popiołu (łącznie z  $P_2O_5$ ) to zawartość popiołu oznaczona przy zastosowaniu niniejszej metody.

## 3. ZASADA OZNACZANIA

Próbka do badania zostaje spopieleno w temperaturze  $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$  do stałej masy. Pozostałość jest oznaczana wagowo i obliczana jako procent masy próbki.

## 4. APARATURA

## 4.1. Waga analityczna

4.2. **Tygiel krzemionkowy lub platynowy** o średnicy około 70 mm i głębokości 25 do 50 mm.

4.3. **Piec elektryczny** z cyrkulacją powietrza, umożliwiającą kontrolę temperatury  $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ .

4.4. **Eksykator** zawierający świeżo aktywowany żel krzemionkowy ze wskaźnikiem zawartości wody lub równorzędny środek osuszający.

## 5. METODA OZNACZANIA

5.1. **Przygotowanie próbki do analizy**

Patrz sekcja 1.2 przepisów ogólnych.

5.2. **Przygotowanie tygla**

Ogrzewać tygiel (4.2) w piecu elektrycznym (4.3) przez 30 min. Ostudzić nieco tygiel i następnie umieścić w suszarce (4.4) w temperaturze pokoju wagowego oraz zważyć z dokładnością do 0,1 mg.

5.3. **Próbka do badania**

Zważyć z dokładnością do 0,1 mg około 3 g badanej próbki (5.1) bezpośrednio do przygotowanego tygla.

5.4. **Oznaczanie**

Ogrzewać tygiel z zawartością na małym ogniu, płycie grzejnej lub w podczerwieni do czasu, aż badana próbka zostanie całkowicie zwęglona. Uważać, aby się nie spaliła.

Przenieść tygiel do pieca elektrycznego (4.3) o temperaturze  $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$  i ogrzewać co najmniej przez godzinę, aż cały węgiel zniknie z tygla. Ostudzić nieco tygiel i następnie umieścić go w eksykatorze (4.4) o temperaturze pokoju wagowego oraz zważyć z dokładnością do 0,1 mg.

Powtórzyć czynność ogrzewania w piecu elektrycznym (4.3) przez 30 minut, schładzając i ważąc do czasu, aż masa pozostanie niezmienną w granicach 1 mg lub zacznie wzrastać. Zanotować masę minimalną.

## 6. WYRAŻANIE WYNIKÓW

6.1. **Metoda obliczania i wzór:**

Zawartość popiołu w próbce (łącznie z  $P_2O_5$ ), wyrażoną w procentach masy podaje wzór:

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

w którym:

$m_0$  masa badanej próbki, w gramach;

$m_1$  masa tygla i pozostałości, w gramach;

$m_3$  masa przygotowanego tygla, w gramach.

Obliczyć ostateczny wynik z dokładnością do 0,01 %.

## 6.2. Powtarzalność

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń wykonanych jednocześnie lub w krótkich odstępach czasu na tej samej próbce, przez tego samego analityka i w tych samych warunkach nie może przekraczać 0,15 g popiołu na 100 g produktu.

Odstęp czasu między następującymi po sobie oznaczeniami dla określenia powtarzalności nie powinien przekraczać 95 % czasu potrzebnego do prawidłowego wykonania metody.

## METODA 6

### OZNACZANIE pH

#### 1. ZAKRES STOSOWANIA

Metoda służy oznaczaniu pH:

— w kazeinianach

#### 2. DEFINICJA

pH kazeinianów to pH w temperaturze 20 °C roztworu wodnego kazeinianów, oznaczone przy zastosowaniu niniejszej metody.

#### 3. ZASADA OZNACZANIA

Potencjometryczne oznaczanie pH w wodnym roztworze kazeinianu, przy użyciu pehametru.

#### 4. ODCZYNNIKI

Woda używana do przygotowania odczynników lub stosowana w metodzie 6 musi być wodą świeżo destylowaną, która została zabezpieczona przed absorpcją dwutlenku węgla.

##### 4.1. Roztwory buforowe, służące do skalowania pehametru (5.2).

Dwa standardowe roztwory buforowe o wartościach pH w temperaturze 20 °C, które są znane do drugiego miejsca po przecinku oraz obejmujące zakres wartości badanej próbki np. ftalanowy roztwór buforowy o pH około 4 oraz boraksowy roztwór buforowy o pH około 9.

#### 5. APARATURA

##### 5.1. Waga analityczna o dokładności do 0,1 g.

##### 5.2. Pehametr, minimalna czułość 0,05 jednostki pH, wraz z odpowiednio wyskalowaną elektrodą, np. szklaną oraz kalomelową lub inną równorzędną elektrodą.

##### 5.3. Termometr o dokładności do 0,5 °C.

##### 5.4. Kolba stożkowa o pojemności 100 ml z korkiem ze szkła szlifowanego.

##### 5.5. Zlewka o pojemności 50 ml.

##### 5.6. Mieszarka

##### 5.7. Zlewka do mieszarki (5.6) o pojemności co najmniej 250 ml.

#### 6. METODA OZNACZANIA

##### 6.1. Przygotowanie próbki do analizy

Patrz sekcja 1.2 przepisów ogólnych

**6.2. Oznaczanie****6.2.1. Kalibracja pehametru**

Uregulować roztwory buforowe (4.1) do temperatury 20 °C i wyskalować pehametr zgodnie z instrukcją producenta.

**UWAGI**

1. Kalibrację należy przeprowadzać, gdy kolby stoją przez 20 minut (patrz 6.2.2).
2. Jeśli bada się szereg próbek, sprawdzać wyskalowanie pehametru co najmniej co 30 minut, używając jednego lub więcej standardowych roztworów buforowych.

**6.2.2. Przygotowanie roztworu do badania**

Przenieść do zlewki (5.7) 95 ml wody, dodać 5,0 g próbki do analizy (6.1) i mieszać przez 30 sekund, posługując się mieszarką (5.6).

Odstawić na 20 minut w temperaturze ok. 20 °C pod przykryciem ze szkiełka zegarowego.

**6.2.3. Pomiar pH**

6.2.3.1. Wlać ok. 20 ml roztworu do zlewki (5.5) i niezwłocznie oznaczyć pH tej cieczy, posługując się pehametrem (5.2), po starannym przepłukaniu szklanej elektrody wodą.

6.2.3.2. Zmierzyć pH.

**7. WYRAŻANIE WYNIKÓW****7.1. Rejestrowanie pH**

Zanotować jako pH wodnego roztworu kazeinianu, wartość odczytaną ze skali pehametru przynajmniej do drugiego miejsca po przecinku.

**7.2. Powtarzalność**

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń wykonanych jednocześnie lub w krótkich odstępach czasu na tej samej próbce przez tego samego analityka i w tych samych warunkach nie może przekroczyć 0,05 jednostki pH.

Odstęp czasu między następującymi po sobie oznaczeniami dla określenia powtarzalności nie powinien przekraczać 95 % czasu potrzebnego do prawidłowego wykonania metody.

---