

ANALITSKE METODE KAZEINOV IN KAZEINATOV

1. SPLOŠNO

2. DOLOČANJE VSEBNOSTI VLAGE v:

- kisljih kazeinih z uporabo metode 1 iz II. dela te priloge,
- sladkih kazeinih z uporabo metode 1 iz II. dela te priloge,
- kazeinatih z uporabo metode 1 iz II. dela te priloge.

3. DOLOČANJE VSEBNOSTI BELJAKOVIN v:

- kisljih kazeinih z uporabo metode 2 iz III. dela te priloge,
- sladkih kazeinih z uporabo metode 2 iz III. dela te priloge,
- kazeinatih z uporabo metode 2 iz III. dela te priloge.

4. DOLOČANJE TITRABILNE KISLOSTI v:

- kisljih kazeinih z uporabo metode 3 iz IV. dela te priloge.

5. DOLOČANJE PEPELA (VKLJUČNO Z P₂O₅) v:

- kisljih kazeinih z uporabo metode 4 iz V. dela te priloge,
- sladkih kazeinih z uporabo metode 5 iz VI. dela te priloge.

6. DOLOČANJE pH v:

- kazeinatih z uporabo metode 6 iz VII. dela te priloge.

I. SPLOŠNO

1. Priprava vzorca za analizo

1.1. Splošno

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

1.2. Priprava vzorca za analizo v laboratoriju

1.2.1. S stresanjem in obračanjem posode temeljito premešamo laboratorijski vzorec pri tem pa moramo paziti, da razdrobimo vse grude itd. (če je potrebno laboratorijski vzorec prenesemo v neprodušno posodo zadostne prostornine (dvakratna prostornina vzorca), ki omogoča tak postopek).

1.2.2. Na preskusno sito (3.3) prenesemo reprezentativni del vzorca, t.j. približno 50 g dobro premešanega laboratorijskega vzorca (1.2.1).

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

1.2.4. Sicer zmeljemo 50 gramski del z uporabo naprave za mletje (3.4), dokler ni izpolnjen kriterij sejanja (1.2.3). Takoj prenesemo ves presejani vzorec v neprodušno posodo, ki je dovolj velika (dvojna prostornina vzorca) ter ga temeljito premešamo s stresanjem in obračanjem. Med postopkom pazimo, da se ne spremeni vsebnost vlage v izdelku.

1.2.5. Potem, ko smo pripravili preskusni vzorec, moramo kakor hitro je mogoče nadaljevati z določanjem.

1.3. Posode

Vzorec moramo vedno hraniti v zračnotesni in vlagotesni posodi.

2. Reagenti

2.1. Voda

2.1.1. Kadarkoli se omenja vodo za raztapljanje, redčenje ali izpiranje, moramo uporabiti destilirano vodo ali demineralizirano vodo vsaj enakovredne čistosti.

2.1.2. Kadarkoli 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 prepoznane kakovosti za analizo (p.a.), razen če s to prilogo ni drugače določeno.

3. Oprema

3.1 Seznami opreme

Seznami opreme vsebujejo samo predmete za posebno uporabo in predmete s posebno specifikacijo.

3.2. Analitska tehtnica

Analitska tehtnica pomeni tehtnico, s točnostjo vsaj 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 - 1. del: Mrežica iz kovinske žice. ISO 3310/1 -1975).

Sita morajo imeti posodo za prestrezanje.

3.4. Naprava za mletje

Če je potrebno mletje laboratorijskega vzorca (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 preskusnem poročilu, naj bo povprečna vrednost, dobljena iz dveh določanj, ki zadovoljuje kriteriju ponovljivosti za to metodo.

4.2 Izračunavanje odstotka

Kadar je drugače opredeljeno, moramo rezultat izračunati kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec.

5. Preskusno poročilo

Preskusno poročilo mora navesti uporabljeno analitsko metodo kot tudi dobljene rezultate. Poleg tega mora vsebovati vse podrobnosti postopka, ki niso opredeljeni v analitski metodi ali so opcija, kot tudi vse okoliščine, ki bi lahko vplivale na dobljene rezultate. Preskusno poročilo mora podati vse informacije potrebne, za popolno identifikacijo vzorca.

II. DOLOČANJE VSEBNOSTI VLAGE

METODA 1

1. Namen in področje uporabe

S to metodo se določa vsebnost vlage v:

- kisljih kazeinih
- sladkih kazeinih
- kazeinatih

2. Definicija

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

3. Princip

Po sušenju preskusnega vzorca, v sušilniku pri $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, do konstantne mase, pri atmosferskem tlaku, določimo maso ostanka. Izgubo mase izračunamo kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec.

4. Oprema

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, a 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, s termostatsko regulacijo temperature (pri $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Temperatura mora biti enakomerna v celotnem sušilniku.

4.4 *Eksikator*, ki vsebuje sveže aktivirani silikagel z indikatorjem za vsebnost vode, ali enakovredno sušilno sredstvo.

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

5. Postopek

5.1. Priprava preskusnega vzorca

Kot je opisano v oddelku 1.2, 1. poglavja, I. dela te priloge.

5.2 Priprava tehtičev

5.2.1. V sušilniku (4.3) z nadzorovano temperaturo $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ segrevamo nepokriti tehtič in njegov pokrov (4.2) vsaj eno uro.

5.2.2. Tehtič pokrijemo s pokrovom in ga prenesemo v eksikator (4.4), kjer naj se ohladi na sobno temperaturo, nato pa ga stehamo s točnostjo 0,1 mg (m_0).

5.3 Preskusni del vzorca

3 do 5 gramov preskusnega vzorca (5.1) prenesemo v tehtič, pokrijemo s pokrovom in stehamo s točnostjo 0,1 mg (m_1).

5.4. Določitev

5.4.1 Tehtič odkrijemo ter ga s pokrovom vred postavimo v sušilnik (4.3) z vzdrževano temperaturo $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ za štiri ure.

5.4.2 Tehtič ponovno pokrijemo s pokrovom, prenesemo v eksikator, kjer naj se ohladi na sobno temperaturo in ga nato stehamo do 0,1 mg točno.

5.4.3. Tehtič odkrijemo ter 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, postopek pod 5.4.3 ponovimo.

Če pride do povečanja mase, pri izračunu (6.1) uporabimo najnižjo zapisano maso. Naj bo zapisana končna masa m_2 , izražena v g. Skupni čas sušenja naj ne bi presegel šestih ur.

6. Podajanje rezultatov

6.1 Metoda izračunavanja

Izgubo mase pri sušenju vzorca, izraženo kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec, izračunamo po naslednji formuli:

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

kjer je:

m_0 - masa tehtiča s pokrovom po postopku 5.2, v g;

m_1 - masa tehtiča s pokrovom in preskusnega vzorca pred sušenjem (postopek 5.3), v g;

m_2 - masa tehtiča s pokrovom in preskusnega vzorca po sušenju (postopek 5.4.3 ali 5.4.4), v g.

Izgubo mase pri sušenju izračunamo s točnostjo 0,01 %.

6.2 Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh določanj, izvedenih istočasno ali drugo za drugim, na istem vzorcu, z istim analitikom, pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,1 g vlage na 100 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov pravilno izvedene metode.

III. DOLOČANJE VSEBNOSTI BELJAKOVIN

METODA 2

1. Namen in področje uporabe

S to metodo določamo beljakovine v:

- kisljih kazeinih
- sladkih kazeinih
- kazeinatih

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

2. Definicija

Vsebnost beljakovin: vsebnost dušika, določena po navedeni metodi, potem pa pomnožena s 6,38 in podana kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec.

3. Princip

Preskusni vzorec 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, nato pa titriramo s standardno raztopino klorovodikove kisline. Vsebnost dušika pretvorimo v vsebnost beljakovin z množenjem s 6,38.

4. Reagenti

4.1. Žveplove (VI) kislina, koncentrirana, $\delta_{20} = 1,84$ g/ml.

4.2. Brezvodni kalijev sulfat, (K_2SO_4).

4.3. Bakrov (II) sulfat pentahidrat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).

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

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. Oprema

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 tekočine.

5.4. Hladilnik z ravno notranjo cevjo

5.5. Odtočna cev s povratno varnostno zaporo, povezana s spodnjim delom hladilnika (5.4) s spojem iz brušenega stekla ali gumijasto cevko. Če uporabimo gumijasto cevko, se morata steklena konca stikati.

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

5.7. Erlenmajerica, 500 ml

5.8. Menzura, 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 oddelku 1.2, 1. poglavja, I. dela te priloge.

6.2. Preskus za prisotnost amonijevega dušika

Ob sumu na prisotnost amonijevega kazeinata ali drugih amonijevih spojin izvedemo naslednji preskus. 1. g vzorca, v erlenmajerici, dodamo 10 ml vode in 100 mg magnezijevega oksida. Magnezijev oksid, ki se je oprijel sten speremo in bučko zapremo z zamaškom iz plute, pri tem pa med zamašek in vrat bučke vstavimo košček navlaženega rdečega lakmusovega papirja. Skrbno premešamo vsebino bučke in jo segrevamo 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. Slep preskus

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

6.4. Preskusni vzorec

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

6.5. Določanje

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

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

Zmerno segrevamo na napravi za razklop (5.3), dokler morebitno penjenje ne preneha, nato pa rahlo segrevamo, dokler se raztopina ne zbistri v obstojno blede zeleno-modro barvo. Med segrevanjem občasno zavrtimo bučko.

Nadaljujemo z vretjem in uravnavamo segrevanje tako, da se pare kondenzirajo 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). Premešamo in ponovno ohladimo.

6.5.2. 50 ml raztopine borove kisline (4.5) in štiri kapljice indikatorja (4.8) prenesemo v erlenmajerico (5.7) in dobro premešamo. Erlenmajerico postavimo pod hladilnik (5.4) tako, da je konica odtočne cevi (5.5) potopljena v raztopino borove kisline. S pomočjo menzure (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 robu bučke in se na dnu nabere plast.

Kjeldahlovo bučko takoj povežemo s hladilnikom s pomočjo glave za vnos (5.6).

Kjeldahlovo bučko previdno obračamo, da premešamo njeno vsebino. Najprej zmerno segrevamo do vretja in pri tem 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 spustimo erlenmajerico, tako da konica iztočne cevke ni več potopljena v raztopino kisline in konico speremo z malo vode. Prekinemo segrevanje, odstranimo iztočno cev in speremo njene zunanje in notranje stene z malo vode, pri čemer vodo za izpiranje lovimo v erlenmajerico.

6.5.3 Z uporabo standardne volumetrične raztopine klorovodikove kisline (4.7) titriramo destilat v erlenmajerici.

7. Podajanje rezultatov

7.1 Formula in metoda izračunavanja

Vsebnost beljakovin v vzorcu, izražena kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec, izračunamo po naslednji formuli:

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

kjer je:

V_1 - volumen standardne volumetrične raztopine klorovodikove kisline (4.7), uporabljene pri določanju, v ml;

V_2 - volumen standardne volumetrične raztopine klorovodikove kisline (4.7), uporabljene pri slepem preskusu (6.3), v ml;

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

m - masa preskusnega dela vzorca, v g.

Vsebnost beljakovin izračunamo na 0,1 % točno.

7.2. Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh določanj, izvedenih istočasno ali drugo za drugim, na istem vzorcu, z istim analitikom, pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,5 g beljakovin na 100 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov pravilno izvedene metode.

IV. DOLOČANJE TITRABILNE KISLOSTI

METODA 3

1. Namen in področje uporabe

Metoda določa titrabilno kislost v:

- kisljih kazeinih.

2. Definicija

Titrabilna kislost kisljih kazeinov: prostornina v ml 0,1 mol/l standardne raztopine natrijevega hidroksida, potrebna za nevtralizacijo vodnega ekstrakta 1 g izdelka.

3. Princip

Pridobimo vodni ekstrakt vzorca pri 60 °C in filtriramo. 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 z 10-minutnim vrenjem vode, 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. Oprema

5.1. Analitska tehtnica

5.2. Erlenmajerica, 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. Erlenmajerica, 250 ml.
- 5.6. Menzura, 250 ml.
- 5.7. Bireta, graduirana v 0,1 ml.
- 5.8. Vodna kopel, ki omogoča vzdrževanje temperature pri $60\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.
- 5.9. Ustrezen filter.

6. Postopek

6.1. Priprava preskusnega vzorca

Kot opisano v oddelku 1.2, 1. poglavja, I. dela te priloge.

6.2. Preskusni vzorec

Stehtamo približno 10 g preskusnega vzorca (6.1) s točnostjo 10 mg in ga prenesemo v erlenmajerico (5.2).

6.3. Določanje

S pomočjo 250 ml menzure (5.6) dodamo 200 ml sveže prevrete in ohlajene vode, predhodno segrete na 60 °C . Bučko zamašimo, premešamo z vrtenjem ter postavimo za 30 minut v vodno kopel pri 60 °C (5.8). Bučko stresamo v presledkih, približno na 10 minut, filtriramo in filtrat ohladimo na približno 20 °C . Filtrat mora biti prozoren.

100 ml ohlajenega filtrata s pomočjo pipete (5.3) odpipetiramo v erlenmajerico (5.5). 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 uporabljeni volumen do 0,01 ml točno.

7. Podajanje rezultatov

7.1 Formula in metoda izračunavanja

Titribilna kislost kislega kazeina izračunamo po naslednji formuli:

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

kjer je:

V - volumen uporabljene standardne volumetrične raztopine natrijevega hidroksida (4.1), v ml;

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

m - masa preskusnega dela vzorca, v g.

Titribilno kislost izračunamo na dve decimalni mesti.

7.2 Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh določanj, izvedenih istočasno ali drugo za drugim, na istem vzorcu, z istim analitikom, pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,02 ml 0,1 mol/l natrijevega hidroksida na 1 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov pravilno izvedene metode.

V. DOLOČANJE PEPELA (vključno s P_2O_5)

METODA 4

1. Namen in področje uporabe

Metoda določa vsebnost pepela (vključno s P_2O_5) v:

- kisljih kazeinih.

2. Definicija

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

3. Princip

Del vzorca upepelimo pri $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ v prisotnosti magnezijevega acetata, ki 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. 120 g magnezijevega acetata tetrahidrata $[Mg(CH_3CO_2)_2 \cdot 4H_2O]$ raztopimo v vodi in dopolnimo z vodo do 1 l.

5. Oprema

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, ki omogoča vzdrževanje temperature pri $102\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.*

5.5. *Žarilna peč, ki omogoča vzdrževanje temperature pri $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$*

5.6. *Vodna kopel, vrela*

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 oddelku 1.2, 1. poglavja, I. dela te priloge.

6.2. *Priprava izparilnic*

Izparilnici (A, B) (5.3) segrevamo v žarilni peči (5.5), ki omogoča vzdrževanje temperature pri $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ 30 minut. Počakamo, da se izparilnici nekoliko shladita, nato ju postavimo v eksikator (5.7), da dosežeta sobno temperaturo in stehamo s točnostjo 0,1 mg.

6.3. *Preskusni del vzorca*

Stehamo približno 3 g preskusnega vzorca (6.1) s točnostjo 0,1 mg neposredno v eno od pripravljenih izparilnic (A).

6.4. *Določanje*

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

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

Vsebino obeh izparilnic (A in B) izparimo do suhega na vodni kopeli (5.6). Obe izparilnici postavimo v sušilnik (5.4), ki omogoča vzdrževanje temperature pri $102\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, za 30 minut.

Izparilnico A segrevamo skupaj z vsebino na majhnem plamenu, vroči plošči ali pod infrardečo lučjo, dokler preskusni del vzorca povsem ne zogleni, pri tem pa pazimo, da ne vzplamti.

Izparilnici (A in B) prenesemo v žarilno peč (5.5), ki omogoča vzdrževanje temperature pri $825\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$, in segrevamo vsaj eno uro, dokler iz izparilnice A ne izgine vse oglje. Pustimo, da se obe izparilnici nekoliko ohladita in ju nato postavimo v eksikator (5.7) da dosežeta sobno temperaturo in stehamo s točnostjo 0,1 mg.

Postopek segrevanja, ohlajanja in tehtanja, dokler masa ne ostaja konstantna (v mejah 1 mg) ali ne začne naraščati, ponavljamo, v žarilni peči (5.5) približno 30 minut. Zapišemo najnižjo maso.

7. Podajanje rezultatov

7.1 *Metoda izračunavanja*

Vsebnost pepela, vključno s P_2O_5 , v vzorcu kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec izračunamo na podlagi formule:

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

kjer je:

m_0 - masa preskusnega vzorca, v g;

m_1 - masa izparilnice A in ostanka, v g;

m_2 - masa pripravljene izparilnice A, v g;

m_3 - masa izparilnice B in ostanka, v g;

m_4 - masa pripravljene izparilnice B, v g.

Končni rezultat izračunamo na 0,01 % točno.

7.2 *Ponovljivost*

Razlika med rezultatoma dveh določanj, izvedenih istočasno ali drugo za drugim, na istem vzorcu, z istim analitikom, pod enakimi pogoji, ne sme presežati 0,1 g na 100 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov pravilno izvedene metode.

VI. DOLOČANJE PEPELA (vključno s P₂O₅)

METODA 5

1. Namen in področje uporabe

Ta metoda določa vsebnost pepela (vključno s P₂O₅) v:
- sladkih kazeinih.

2. Definicija

Vsebnost pepela (vključno s P₂O₅): vsebnost pepela, določena z navedeno metodo.

3. Princip

Del vzorca upepelimo pri 825 °C ± 25 °C do konstantne mase. Ostanek določimo s tehtanjem in izračunamo kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec.

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*, ki omogoča vzdrževanje temperature pri 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 oddelku 1.2, 1. poglavja, I. dela te priloge.

5.2. *Priprava izparilnice*

Izparilnico (4.2) segrevamo 30 minut v žarilni peči (4.3), ki omogoča vzdrževanje temperature pri 825 °C ± 25 °C. Počakamo, da se izparilnica nekoliko ohladi, nato jo postavimo v eksikator (4.4), da doseže sobno temperaturo in stehtamo s točnostjo 0,1 mg.

5.3. *Preskusni del vzorca*

Približno 3 g preskusnega vzorca (5.1) stehtamo s točnostjo 0,1 mg neposredno v pripravljeno izparilnico.

5.4. *Določanje*

Izparilnico skupaj z vsebino segrevamo na nizkem plamenu, vroči plošči ali pod infrardečo lučjo, dokler preskusni del vzorca povsem ne zogleni in pri tem pazimo, da ne vzplamti.

Izparilnico prenesemo v žarilno peč (4.3), ki omogoča vzdrževanje temperature pri 825 °C ± 25 °C in segrevamo vsaj eno uro, dokler iz izparilnice ne izgine vse oglje. Pustimo, da se izparilnica nekoliko shladi ter jo nato postavimo v eksikator (4.4), dokler ne doseže sobne temperature nato pa stehtamo s točnostjo 0,1 mg.

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

6. Podajanje rezultatov

6.1. *Metoda izračunavanja in formula*

Vsebnost pepela, vključno s P₂O₅, v vzorcu kot masni delež, izražen v odstotkih, glede na vzorec izračunamo po naslednji formuli:

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

kjer je:

m₀ - masa preskusnega vzorca, v g;

m₁ - masa izparilnice in ostanka, v g;

m₂ - masa pripravljene izparilnice, v g.

Končni rezultat izračunamo na 0,01 % točno.

6.2. *Ponovljivost*

Razlika med rezultatoma dveh določanj, izvedenih istočasno ali drugo za drugim, na istem vzorcu, z istim analitikom, pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,15 g pepela na 100 g izdelka.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov pravilno izvedene metode.

VII. DOLOČANJE pH

METODA 6

1. Namen in področje uporabe

S to metodo se določa pH:

- kazeinativ.

2. Definicija

pH kazeinativ: pH vodne raztopine kazeinativ 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 ter 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. *Tehnika*, s točnostjo 0,1 g.

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. *Erlenmajerica*, 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 oddelku 1.2, 1. poglavja, I. dela te priloge.

6.2. *Določanje*

6.2.1. Umeritev pH metra

Temperaturo pufernih raztopin (4.1) uravnamo 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 standardnih pufernih raztopin najmanj vsakih 30 minut.

6.2.2. Priprava preskusne raztopine

V čašo z (5.7) 95 ml vode, dodamo 5,0 g 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. V čašo (5.5) vlijemo približno 20 ml raztopine in takoj odčitamo pH te tekočine s pomočjo pH metra (5.2). Pred tem skrbno speremo 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, izvedenih istočasno ali drugo za drugim, na istem vzorcu, z istim analitikom, pod enakimi pogoji, ne sme presegati 0,05 enote pH.

Ta interval ponovljivosti bi bilo treba doseči v 95 % primerov pravilno izvedene metode.