

Специфични наименования и изисквания към състава на някои частично или напълно дехидратирани млека

1. Датското наименование "kondenseret kaffefløde" и немското наименование "kondensierte Kaffeesahne" се използват за обозначаване на продукта по чл. 2.
2. Английското наименование "evaporated milk" се използва за обозначаване на продукта по чл. 3 с масленост не по-ниска от 9 % w/w и с млечно сухо вещество 31 % w/w.
3. Нидерландското наименование "koffiemelk" се използва за обозначаване на продукта по чл. 3.
4. Френските наименования "lait demi-écrémé concentré" и "lait demi-écrémé concentré non sucré", испанското наименование "leche evaporada semidesnatada", нидерландските наименования "geëvaporeerde halfvolle melk" или "halfvolle koffiemelk" и английското наименование "evaporated semi-skimmed milk" се използват за обозначаване на продукта по чл. 4 с масленост не по-ниска от 4 % w/w и не по-висока от 4,5 % w/w и с млечно сухо вещество не по-малко от 24 % w/w.
5. Френското наименование "lait demi-écrémé concentré sucré", испанското наименование "leche condensada semidesnatada" и нидерландското наименование "gecodenseerde halfvolle melk met suiker" се използват за обозначаване на продукта по чл. 7 с масленост не по-ниска от 4 % w/w и не по-висока от 4,5 % w/w и с млечно сухо вещество не по-малко от 28 % w/w.
6. Датското наименование "flødepulver", немските наименования "Rahmpulver" и "Sahnepulver", френското наименование "crème en poudre", нидерландското наименование "roompoeder", шведското наименование "gräddpulver" и финландското наименование "kermaijauhe" се използват за обозначаване на продукта по чл. 9.
7. Френското наименование "lait demi-écrémé en poudre", нидерландското наименование "halfvolle melkpoeder" и английските наименования "semi-skimmed milk powder" или "dried semi-skimmed milk" се използват за обозначаване на продукта по чл. 11 с масленост не по-ниска 14 % w/w и не по-висока от 16% w/w.
8. Португалското наименование "leite em pó meio gordo" се използва за обозначаване на продукта по чл. 11 с масленост не по-ниска от 13 % w/w и не по-висока от 26 % w/w.
9. Испанското наименование "leche en polvo semidesnatada" се използва за обозначаване на продукта по чл. 11 с масленост не по-ниска от 10 % w/w и не по-висока от 16 % w/w.
10. Финландското наименование "rasvaton maitojauhe" се използва за обозначаване на продукта по чл. 12.
11. Малтийското наименование "Halib evaporat" се използва за обозначаване на продукта по чл. 3.
12. Малтийското наименование "Halib evaporat b'kontenut baxx ta' хаћам" се използва за обозначаване на продукта по чл. 4.
13. Естонското наименование "koogepulber" се използва за обозначаване на продукта по чл. 9.
14. Естонското наименование "piimapulber" се използва за обозначаване на продукта по чл. 10.
15. Естонското наименование "väherasvane kondenspiim" се използва за обозначаване на продукта по чл. 4.
16. Естонското наименование "magustatud väherasvane kondenspiim" се използва за обозначаване на продукта по чл. 7.
17. Естонското наименование "väherasvane piimapulber" се използва за обозначаване на продукта по чл. 11.
18. Чешкото наименование "zahuštěná neslazená smetana" се използва за обозначаване на продукта по чл. 2.
19. Чешкото наименование "zahuštěné neslazené plnotučné mléko" се използва за обозначаване на продукта по чл. 3.
20. Чешкото наименование "zahuštěné neslazené polotučné mléko" се използва за обозначаване на продукта по чл. 4 с масленост не по-ниска от 4 % w/w и не по-висока от 4,5 % w/w.
21. Чешкото наименование "zahuštěné slazené plnotučné mléko" се използва за обозначаване на продукта по чл. 6.
22. Чешкото наименование "zahuštěné slazené polotučné mléko" се използва за обозначаване на продукта по чл. 7 с масленост не по-ниска от 4 % w/w и не по-висока от 4,5 % w/w.

23. Чешкото наименование "sušená smetana" се използва за обозначаване на продукта по чл. 9.

24. Чешкото наименование "sušené polotučné mléko" се използва за обозначаване на продукта по чл. 11 с масленост не по-ниска от 14 % w/w и не по-висока от 16 % w/w.

Приложение № 2
към чл. 22

Методи за вземане на проби за химичен анализ от някои частично или напълно дехидратирани млека

I. Общи положения

1. Основни указания

1.1. Персонал

1.1.1. Вземането на проби се извършва от упълномощено квалифицирано лице, съгласно действащата нормативна уредба.

1.2. Запечатване и етикетирание на пробите

1.2.1. Проба, взета за целите на официалния контрол, се затваря и запечатва на мястото на вземането и се маркира по начина, определен в чл. 9 от Наредба № 7 от 2020 г. за условията и реда за вземане на проби и лабораторно изпитване на храни (обн., ДВ, бр. 89 от 2020 г.).

1.3. Двойни проби

1.3.1. За анализ се вземат едновременно не по-малко от две еднакви представителни проби. Взетите проби се изпращат за анализ във възможно най-кратък срок, съгласно т. 5.2.

1.4. Придружаваща документация

1.4.1. Взетите проби се придружават от Акт за вземане на проби съгласно чл. 4, ал. 2 от Наредба № 7 от 2020 г. за условията и реда за вземане на проби и лабораторно изпитване на храни.

2. Оборудване за вземане на проби

2.1. Спецификации

2.1.1. Оборудването за вземане на проби трябва да е изработено от подходящ материал с необходимата устойчивост. Използваният материал не трябва да води до промени в пробата, които да влияят на резултатите при последващия анализ, както и не трябва да предизвиква никакви промени в пробата по време на вземането ѝ. Използването на неръждаема стомана е препоръчително.

2.1.2. Всички повърхности трябва да са гладки, без цепнатини и всички ъгли да са заоблени. Оборудването за вземане на проби трябва да съответства на изискванията, определени за всеки продукт, от който се взема пробата.

3. Съдове за вземане на проби

3.1. Спецификации

3.1.1. Съдовете за проби и запушалките трябва да са изработени от такъв материал и да имат такава конструкция, че да предпазват пробата и да не причиняват промяна в нея, която може да влияе на резултата при последващия анализ или изпитване. Подходящи са материалите от стъкло, някои метали и пластмаси. Използването на непрозрачни съдове е препоръчително. Прозрачните или полупрозрачните съдове със съдържанието се съхраняват на тъмно.

3.1.2. Съдовете и запушалките трябва да са чисти и сухи. Формата и вместимостта на съдовете трябва да е подходяща съобразно изискванията, определени за продукта, от който се взема пробата. Могат да се използват съдове от пластмаса, както и съдове за еднократна употреба, ламинати, включително алуминиево фолио, или найлонови торби с подходящо затваряне. Съдовете, различни от найлонови торби, трябва да се затварят добре посредством запушалка или капачка с винт от метал или пластмаса, при необходимост снабдена с пластмасов уплътнител за херметично затваряне. Използваните запушалки или уплътнители трябва да са неразтворими, да не абсорбират миризми, да са устойчиви на мазнини и не влияят върху миризмата, вкуса, свойствата или състава на пробата.

4. Техника за вземане на проби

Съдовете за вземане на проби се затварят веднага след вземането на пробите.

5. Съхранение и транспортиране на пробите

5.1. Температурата за съхранение на пробите не трябва да превишава 25°C.

5.2. Взетите проби се транспортират до изпитвателната лаборатория във възможно най-кратък срок (при възможност до 24 часа от вземането на пробата). По време на транспортирането се вземат мерки за предотвратяване излагането на миризми, на пряка слънчева светлина и на температури, по-високи от 25°C.

II. Методи за вземане на проби от частично дехидратирани млека

1. Обхват и сфера на приложение

Този метод е предназначен за вземане на проби за целите на химичния анализ на продуктите по чл. 2 - 8.

2. Оборудване

Оборудването за вземане на проби трябва да отговаря на изискванията на раздел I, т. 2.

2.1. Бутала и бъркалки

Буталата или бъркалките за размесване на големи количества течности трябва да са с подходяща повърхност за постигане на необходимото хомогенизиране, така че да не се получи гранив вкус. Поради различните форми и размери на съдовете за вземане на проби не се препоръчва специфична конструкция бутало за всички цели, но буталата трябва да са конструирани по начин, който да не позволява издраскване на вътрешната повърхност на съда по време на размесването.

Подходящият материал е описан в раздел I, т. 2.1.

Формата на буталата за размесване на течности в кофи или в гюмове е съгласно фиг. 1 със следните размери: диск с диаметър 150 mm, върху който са перфорирани шест кръгли отвора с диаметър 12,5 mm всеки, разположени върху окръжност с диаметър 100 mm. Дискът е фиксиран централно върху метален прът. Другият край на пръта представлява дръжка с формата на примка. Дължината на пръта заедно с дръжката трябва да е около 1 m.

Подходящото бутало за малки съдове (фиг. 2) е със следните размери: прът не по-къс от 2 m, прикрепен към диск с диаметър 300 mm, който е перфориран с 12 отвора върху окръжност с диаметър 230 mm, като всеки от отворите е с диаметър 30 mm.

За хомогенизиране на продукта в големи съдове се препоръчва механично разбъркване или разбъркване с използване на чист сгъстен въздух. За предотвратяване появата на гранив вкус се използва въздух с минимално налягане и обем.

Забележка: Когато се изисква използването на "чист сгъстен въздух", се използва сгъстен въздух, от който са премахнати всички замърсители, като мазнина, вода и прах.

2.1.2. Бъркалка

Бъркалната трябва да има широка лопатка и да е достатъчно дълга, за да достига дъното на съда. За предпочитане е единият ѝ ръб да е с профила на съда (фиг. 3).

2.2. Съдове за изгребване (черпаци)

Големината и формата на черпака за събиране на пробата са съгласно фиг. 4. Черпакът трябва да е прикрепен към здрава дръжка с дължина най-малко 150 mm. Вместимостта на черпака не трябва да е по-малка от 50 ml. При възможност дръжката трябва да бъде извита. Конусовидната форма на чашата позволява поставянето на съдовете един в друг.

Друга възможност е използването на черпак с подобна вместимост, който да е с успоредни стени, градуиран на 5 еднакви деления, за да улеснява вземането на пропорционално равни количества проба, когато продуктът се съхранява в повече от един съд.

2.3. Прът

Прътът трябва да е кръгъл с дължина около 1 m и диаметър 35 mm.

2.4. Съд за вземане на средна проба

При вземане на средна проба се използва съд с широк отвор и вместимост 5 L.

2.5. Лъжица или шпатула

Шпатулата трябва да има широка работна лопатка.

2.6. Съдове за проби

Изискванията за съдове за проби са съгласно раздел I, т. 3.

3. Процедура

3.1. За неподсладени частично дехидратирани млека се взема проба в количество не по-малко от 200 g.

3.1.1. Продуктът трябва да е много добре размесен чрез постъпателно-възвратно или въртеливо движение, механично разбъркване, преливане от един съд в друг или чрез използване на чист сгъстен въздух (виж забележката в т. 2.1) до постигане на хомогенност.

Пробата се взема с черпак веднага след размесването ѝ. Ако постигането на достатъчна хомогенност е трудно, пробите трябва да се вземат от различни места на съда, така че общото количество на пробата да е не по-малко от 200 g. Върху етикета на пробата и в придружаващия протокол трябва да се отбележи дали пробата е смес от първоначални проби.

3.1.2. Вземане на проби от продукти, опаковани в малки разфасовки за продажба на дребно.

Като съставна част на пробата може да се вземе единична опаковка с ненарушена цялост и неразпечатана. Вземат се една или повече опаковки от една и съща партида или с един и същ кодов номер, така че общото количество на пробата да не е по-малко от 200 g.

3.2. Вземане на проба от подсладено частично дехидратирано мляко.

3.2.1. Общи указания

Вземането на проби от подсладено частично дехидратирано мляко от големи съдове може да е затруднено, когато продуктът е недостатъчно хомогенизиран и е с висок вискозитет.

Трудности при вземането на проби може да възникнат при наличие на големи кристали захар или лактоза, при утаяване на различни соли, които е вероятно да се образуват в продукта и да полепнат по стените на съда, както и при наличие на бучки. Такива трудности се установяват, като в съда с продукта се въведе прът за изследване на колкото е възможно по-голяма част от съдържанието на съда с продукта и след това се извади. Когато размерът на захарните кристали е не по-голям от 6 mm, не се очакват трудности при вземането на проби. В случаите, когато продуктът не е достатъчно хомогенен, това трябва да се отбележи на етикета на пробата на придружаващия протокол. За получаване на представителна проба съдържанието трябва да се остави при температура не по-ниска от 20°C, тъй като подсладеното кондензирано мляко обикновено се съхранява при стайна температура.

3.2.2. Процедура.

Количеството на взетата проба трябва да е не по-малко от 200 g.

3.2.2.1. Вземане на проба от отворени съдове.

Единият край на съда се отваря, като предварително се извършва почистване и подсушаване, за да не се допусне попадането на чужда материя по време на отварянето. Съдържанието се разбърква с помощта на бъркалка (фиг. 3). Ръбът на бъркалката се изстързва от полепналите по стените и дъното на съда частици. Съдържанието се размесва добре чрез комбинация от вертикални и въртеливи движения. Бъркалката се накланя диагонално, за да се избегне навлизането на въздух в пробата. Бъркалката се изважда и полепналото по нея кондензирано мляко се прехвърля в съд с вместимост 5 L (т. 2.4) посредством шпатула или лъжица. Размесването на съдържанието и изваждането на бъркалката се повтарят до събиране на количество от 2 l до 3 l от продукта. Сместа се разбърква, докато се постигне хомогенност, и се взема проба в количество не по-малко от 200 g.

3.2.2.2. Вземане на проба от затворени барабани с канелка в единия край или от едната страна.

Поради причините, посочени в т. 3.2.1, вземането на проби през отвора на канелката е подходящо само за кондензирано мляко, което изтича лесно и е с равномерна консистенция. Съдържанието се размесва, като прътът се вкарва през отвора на канелката и след пълно размесване във всички посоки се изважда, като пробата се подготвя, както е описано в т. 3.2.1. Съдържанието може също така да се прехвърли в подходящ съд, като се внимава да се излее възможно най-голямо количество от барабана. След размесването с бъркалка пробата се взема, както е описано в т. 3.2.1.

3.2.3. Вземане на проба от продукти, опаковани в малки разфасовки, за продажба на дребно.

Като съставна част на пробата може да се вземе единична опаковка с ненарушена цялост и неразпечатана. Вземат се една или повече опаковки от една и съща партида или с един и същ кодов номер, така че общото количество на пробата да не е по-малко от 200 g.

3.3. Съхранение и транспортиране на пробата

Съхранение и транспортиране на пробата се извършва в съответствие с изискванията на раздел I, т. 5.

III. Методи за вземане на проби от напълно дехидратирани млека

1. Обхват и сфера на приложение

Този метод е предназначен за вземане на проби за целите на химичния анализ на продуктите по чл. 9 - 12.

2. Оборудване

Оборудването за вземане на проби трябва да отговаря на изискванията на раздел I, т. 2.

2.1. Сонди

Сондите трябва да са с достатъчна дължина за достигане дъното на съда с продукта, като подходящи са описаните в раздел IV.

2.2. Черпак, лъжица или шпатула с широка лопатка

2.3. Съдове за проби

Съдовете за проби трябва да отговарят на изискванията на раздел I, т. 3.

3. Процедура

3.1. Общи указания

3.1.1. Вземането на проба трябва да се организира по начин, при който да се сведе до минимум вероятността за проникване на атмосферна влага в съдържанието на съда преди и по време на процеса. След вземането на проба, съдът с продукта се затваря плътно.

3.2. Техника за вземане на проба

3.2.1. Количеството на пробата трябва да е не по-малко от 200 g.

3.2.2. Сондата се въвежда в съда добре почиствена и суха. Когато е необходимо, това става при наклонено или легнало положение на вече отворения съд. Отворът на сондата се насочва надолу, вертикално. Когато тя достигне дъното на съда, се завърта на 180°, след което се изтегля. Съдържанието на сондата се прехвърля в съда, предназначен за пробата. За

получаване на проба с маса не по-малка от 200 g тази процедура може да се приложи един или повече пъти. Съдът с пробата се затваря веднага след вземането ѝ. По този начин се вземат проби от цялата партида.

3.3. Вземане на проби от продукти, опаковани в малки разфасовки, предназначени за продажба на дребно

3.3.1. Като съставна част на пробата може да се вземе единична опаковка с ненарушена цялост и неразпечатана. Вземат се една или повече опаковки от една и съща партида или с един и същ кодов номер, така че общото количество на пробата да не е по-малко от 200 g.

Забележка: Когато продуктите са описани като "бързо разтворими", пробата представлява цялата неразпечатана опаковка.

3.4. Запазване, съхранение и транспортиране на пробата

Запазването, съхранението и транспортирането на пробата се извършват в съответствие с изискванията на раздел I, т. 5.

IV. Сонди за вземане на проби от напълно дехидратирани млека в големи количества

1. Видове сонди

Тип А - дълга сонда – виж фиг. 5.

Тип Б - къса сонда – виж фиг. 5.

2. Материали

2.1. Острият край на сондата и нейното основно тяло трябва да са изработени от полиран материал, за предпочитане неръждаема стомана.

2.2. Дръжката на дългата сонда се препоръчва да бъде изработена от неръждаема стомана.

2.3. Късата сонда трябва да има сваляща се дръжка, изработена от дърво или пластмаса, като връзката между тях е тип байонет.

3. Конструкция на сондите

3.1. Формата, материалите и изработката на сондите трябва да позволяват доброто им почистване.

3.2. Издаденият край на острието на сонда тип А трябва да е достатъчно остър, за да служи и за изстъргване на материала.

3.3. Върхът на острието трябва да е достатъчно остър, за да улеснява вземането на пробата.

4. Основни параметри

Сондите трябва да отговарят на размерите, посочени в таблицата (с допустимо отклонение от 10 %):

Размери (mm)	Дълга сонда (тип А)	Къса сонда (тип Б)
Дължина на острието	800	400
Дебелина на метала на острието	1 – 2	1 – 2
Вътрешен диаметър на острието при върха	18	32
Вътрешен диаметър на острието при дръжката или основата	22	28
Широчина на отвора при върха	4	20
Широчина на отвора при дръжката или основата	14	14

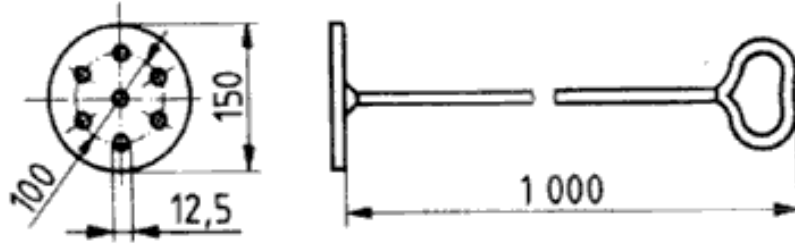
5. Забележка при работа със сондите

5.1. При работа с по-малко летливи продукти сондите могат да се въвеждат вертикално. Така сондите от тип А се запълват изцяло при завъртане и могат да се изваждат вертикално.

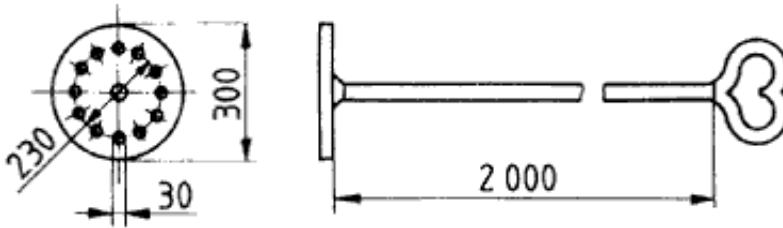
5.1.1. По време на въвеждането сондите тип Б са вече изцяло запълнени и трябва да се изтеглят в наклонено положение, за да се избегнат загуби от долния им край.

5.2. При работа с по-летливи продукти съдът трябва да се наклони, а сондите да се въвеждат в почти хоризонтално положение, като отворът им е насочен надолу. Изтеглянето на сондата трябва да става с отвора нагоре.

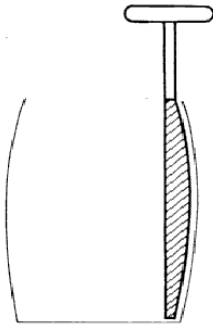
Фиг. 1
Препоръчително бутало за кофи и гюмове
(размерите са в mm)



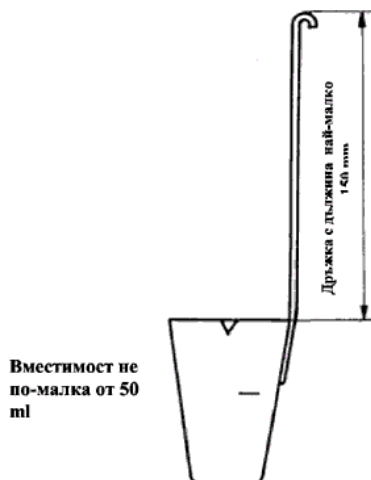
Фиг. 2
Препоръчително подходящо бутало за малки съдове
(размерите са в mm)



Фиг. 3
Подходяща бъркалка за разбъркване на подсладено кондензирано мляко

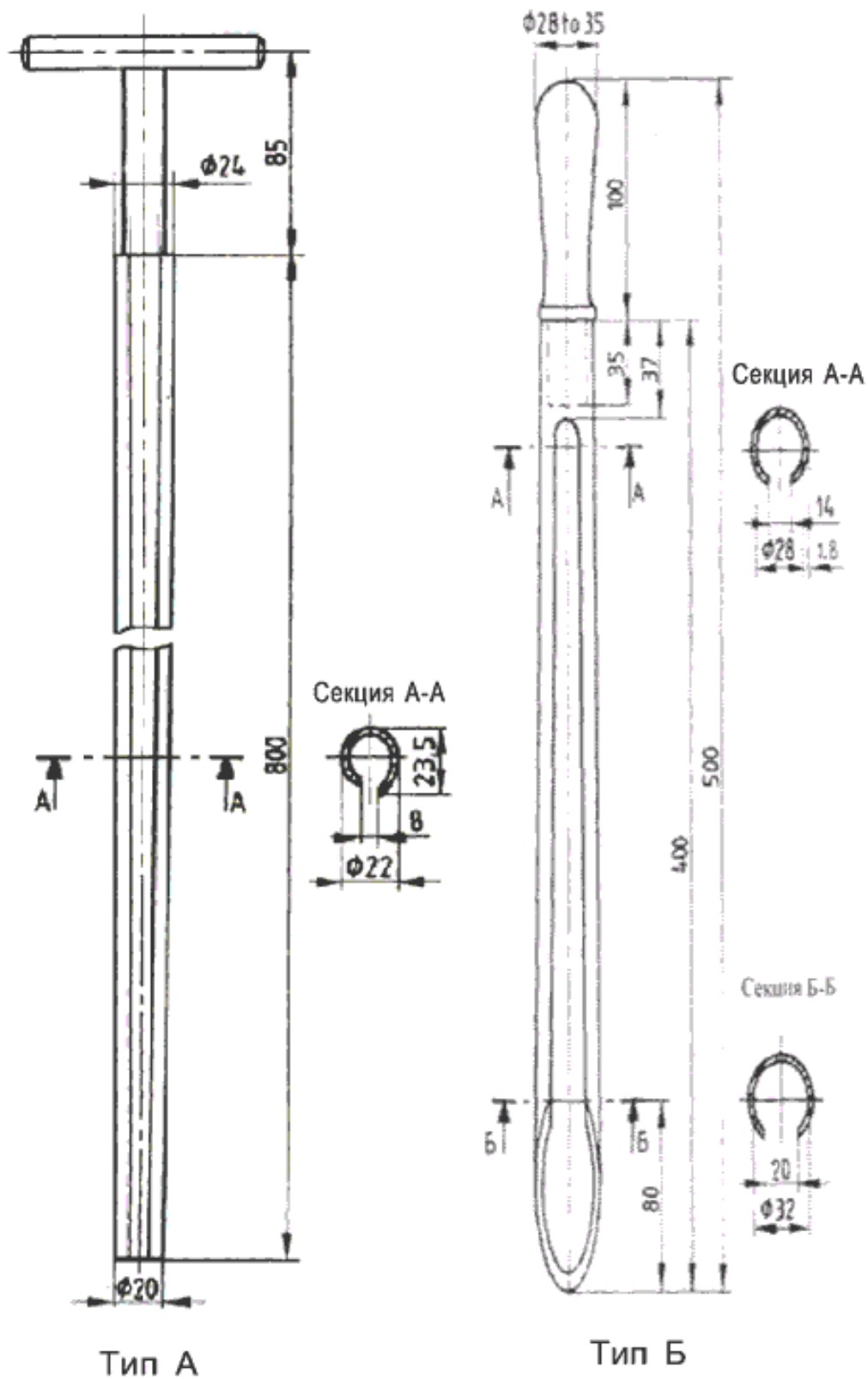


Фиг. 4
Подходящ черпак за течности



Фиг. 5

Сонди за напълно дехидратирани млека
(размерите са в mm)



**Методи за анализ на състава на някои частично или напълно дехидратирани
млека, предназначени за консумация от човека**

Изпитване/продукт	Метод
1	2
<p>Определяне съдържанието на сухо вещество във:</p> <ul style="list-style-type: none"> – неподсладено кондензирано високомаслено мляко – неподсладено кондензирано мляко – неподсладено кондензирано частично обезмаслено мляко – неподсладено кондензирано обезмаслено мляко – подсладено кондензирано мляко – подсладено кондензирано частично обезмаслено мляко – подсладено обезмаслено кондензирано мляко 	<p>1</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p> <p>1</p>
<p>Определяне на влагата във:</p> <ul style="list-style-type: none"> – сухо високомаслено мляко или високомаслено мляко на прах – сухо пълномаслено мляко или пълномаслено мляко на прах – сухо частично обезмаслено мляко или частично обезмаслено мляко на прах – сухо обезмаслено мляко или обезмаслено мляко на прах 	<p>2</p> <p>2</p> <p>2</p> <p>2</p>
<p>Определяне на масленото съдържание във:</p> <ul style="list-style-type: none"> – неподсладено кондензирано високомаслено мляко – неподсладено кондензирано мляко – неподсладено кондензирано частично обезмаслено мляко – неподсладено кондензирано обезмаслено мляко – подсладено кондензирано мляко – подсладено кондензирано частично обезмаслено мляко – подсладено кондензирано обезмаслено мляко – сухо високомаслено мляко или високомаслено мляко на прах – сухо пълномаслено мляко или пълномаслено мляко на прах – сухо частично обезмаслено мляко или частично обезмаслено мляко на прах – сухо обезмаслено мляко или обезмаслено мляко на прах 	<p>3</p> <p>3</p> <p>3</p> <p>3</p> <p>3</p> <p>3</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>4</p> <p>4</p> <p>4</p>
<p>Определяне съдържанието на захароза във:</p> <ul style="list-style-type: none"> – подсладено кондензирано мляко – подсладено кондензирано частично обезмаслено мляко – подсладено кондензирано обезмаслено мляко 	<p>5</p> <p>5</p> <p>5</p>
<p>Определяне съдържанието на млечна киселина и лактати във:</p> <ul style="list-style-type: none"> – сухо високомаслено мляко или високомаслено мляко на прах – сухо пълномаслено мляко или пълномаслено мляко на прах – сухо частично обезмаслено мляко или частично обезмаслено мляко на прах – сухо обезмаслено мляко или обезмаслено мляко на прах 	<p>6</p> <p>6</p> <p>6</p> <p>6</p>
<p>Определяне на фосфатазната активност във:</p> <ul style="list-style-type: none"> – сухо високомаслено мляко или високомаслено мляко на прах – сухо пълномаслено мляко или пълномаслено мляко на прах – сухо частично обезмаслено мляко или частично обезмаслено мляко на прах – сухо обезмаслено мляко или обезмаслено мляко на прах 	<p>7 или 8</p> <p>7 или 8</p> <p>7 или 8</p> <p>7 или 8</p>

I. Общи положения

1. Подготовка на пробата за анализ

1.1. Подготовка на проба за анализ на млеката по чл. 2 - 5

Затвореният бидон се разклаща и се обръща обратно, отваря се и млякото бавно се прелива в друг съд, който се затваря херметично. Съдържанието се размесва чрез неколкостранно прехвърляне. Цялото количество мляко, останало по стените и ръбовете на бидона, и масленият слой се включват в пробата. Съдът се затваря. Когато съставките не са добре хомогенизирани, съдът се слага на водна баня при 40°C, като се разклаща енергично на всеки 15 min. След 2 часа се изважда от водната баня и се оставя на стайна температура. Капакът се маха, съдържанието на съда се размесва с лъжица или шпатула (ако мазнината се е отделила, пробата не се изпитва). Съхранява се на хладно.

1.2. Подготовка на проба за анализ на млеката по чл. 6 - 8

1.2.1. Бидони

Затвореният бидон се слага на водна баня при 30°C - 40°C за около 30 min. Капакът се отваря и съдържанието се размесва добре с шпатула или лъжица с движения нагоре-надолу и с въртеливи движения за получаване на хомогенна смес. В пробата се включва цялото количество мляко, включително и полепналото по стените и дъното на бидона. Съдържанието се изсипва в друг съд, снабден с херметичен капак, затваря се и се съхранява на хладно.

1.2.2. Туби

Краят на тубата се срязва и съдържанието се изсипва в съд, снабден с херметичен капак, след което тубата се разрязва по дължина, остъргва се целият материал, полепнал по вътрешността, и внимателно се смесва с останалото количество. Съдът се съхранява на хладно.

1.3. Подготовка на проба за анализ на млеката по чл. 9 - 12

Пробата от сухо мляко (високомаслено, пълномаслено, частично обезмаслено, обезмаслено) се поставя в чист, сух, херметично затварящ се съд с вместимост, равна на двойния обем на сухото мляко. Съдът се затваря веднага, съдържанието му се размесва добре чрез разклащане и обръщане. По време на подготовката на пробата се избягва достъпът на въздух с цел намаляване до минимум абсорбцията на влага.

2. Реактиви

2.1. Вода

2.1.1. Водата, използвана за разтваряне, разреждане или измиване, трябва да е дестилирана или деминерализирана с еквивалентна чистота.

2.1.2. Думите "разтваряне", "разтвор" или "разреждане", когато към тях няма допълнителни указания, трябва да се разбират като "разтваряне във вода", "воден разтвор" или "разреждане с вода".

2.1.3. Химикали

Всички химикали трябва да са с квалификация чист за анализ (ч.з.а.), освен ако не е упоменато друго.

3. Апаратура

3.1. Включва се само апаратурата за специализирана употреба и такава с отделна спецификация.

3.2. Аналитична везна с разделителна способност най-малко 0,1 mg.

4. Изразяване на резултатите

4.1. Резултатите се изчисляват в проценти от масата на пробата, освен ако не е упоменато друго.

4.2. Резултатите се изразяват с цифри, според изискването за точност на използвания метод за анализ.

5. Протокол от изпитване

В протокола от изпитването се посочват:

- използваният метод за анализ;

- получените резултати;

- всички подробности относно начина на работа, когато не са специфицирани в метода за анализ или такива по избор;

- посочват се и условия, които може да са повлияли на получените резултати.

Протоколът от изпитването трябва да съдържа цялата информация за идентифициране на пробата.

II. Метод 1. Определяне съдържанието на сухо вещество

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя сухото вещество в млеката по чл. 2 - 8.

2. За целите на това приложение "съдържание на сухо вещество в кондензираните млека" е сухото вещество, определено по този специфициран метод.

3. Принцип на работа

Определено количество от пробата се разрежда с вода, разбърква се с пясък и се изсушава при температура $99^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$. Получената след изсушаване маса представлява съдържанието на сухо вещество и се изчислява като процент от масата на пробата.

4. Реактиви

Кварцов или морски пясък, обработен със солна киселина (размер на песъчинките от 0,18 mm до 0,5 mm, прекарани през сито 500 μ и задържани в сито 180 μ).

В сушилнята се нагряват около 25 g от пясъка в продължение на 2 h (т. 5.3), както е описано в т. 6.1 - 6.3. Добавят се 5 ml вода, отново се нагрява в сушилнята за 2 h, охлажда се и се претегля. Разликата между двете маси не трябва да надвишава 0,5 mg.

Ако е необходимо, пясъкът се обработва с 25 % разтвор на солна киселина в продължение на 3 дни, като от време на време се разбърква. Промива се с вода до изчезване на киселинната реакция или с промиваща вода, която няма свободни хлориди. Изсушава се при 160°C , след което изпитването се повтаря.

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна

5.2. Метални тигли, изработени от некорозиращ при условията на изпитването материал, като никел, алуминий или неръждаема стомана. Тиглите трябва да са снабдени с капаци, които да се затварят плътно, но могат да бъдат отворени лесно. Подходящи размери са: диаметър от 60 mm до 80 mm и дълбочина около 25 mm.

5.3. Сушилня при атмосферно налягане с добра вентилация, термостатично регулирана при $99^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$. Температурата трябва да е равномерна в цялата пещ.

5.4. Ексикатор, съдържащ прясно активиран силикагел с индикатор за водното съдържание или еквивалентен изсушител.

5.5. Стъклени пръчки, сплескани в единия край, с дължина, позволяваща да влизат в металните тигли (т. 5.2).

5.6. Вряща водна баня

6. Начин на работа

6.1. В тигела (т. 5.2) се поставят около 25 g пясък (т. 4) и къса стъклена пръчка (т. 5.5).

6.2. Без да се покрива, тигелът се поставя заедно с капака в сушилната пещ (т. 5.3) за 2 h.

6.3. Слага се капакът на тигела и се поставят в ексикатора (т. 5.4), оставят се да се охладят до стайна температура, след което се измерва масата с точност до 0,1 mg (M_0).

6.4. Тигелът се накланя на една страна и в свободната част се поставят около 1,5 g от пробата подсладено кондензирано мляко или 3 g от неподсладено кондензирано мляко. Слага се капакът. Масата се претегля с точност до 0,1 mg (M_1).

6.5. Капакът се маха, добавят се 5 ml вода (80°C - 90°C) и с помощта на стъклена пръчка течностите се смесват. След това получената течност се смесва с пясъка. Стъклената пръчка се оставя в сместа.

6.6. Тигелът се поставя на вряща водна баня (т. 5.6) до изпаряване на водата.

Това продължава около 20 min. С цел поддържане на доброто аериране на сместа, тя трябва от време на време да се разбърква с пръчката, така че след като се изсуши, да не бъде във формата на пита. Пръчката се оставя в тигела.

6.7. Тигелът и капакът се слагат в сушилнята за 90 min.

6.8. Капакът се маха и тигелът се прехвърля в ексикатора (т. 5.4), охлажда се до стайна температура и се претегля с точност до 0,1 mg.

6.9. Тигелът и капакът се поставят отново в сушилната пещ, като капакът се маха и се загрева за още 1 h.

6.10. Повтаря се процесът от т. 6.8.

6.11. Повтарят се описаните процеси в т. 6.9 и 6.10, докато разликата в масите при две последователни измервания стане по-малка от 0,5 mg или докато масата започне да се увеличава. Когато бъде установено увеличение на масата, се използва най-малката маса, необходима за изчислението (т. 7.1). Крайната записана маса е M_2 (g).

7. Изразяване на резултатите

7.1. Метод на изчисление

Съдържанието на сухо вещество, изчислено като процент от масата на пробата, се изчислява по формулата:

$$\frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100,$$

където:

M_0 е масата (g) на съда и на капака му след процеса в т. 6.3;

M_1 - масата (g) на съда, на капака му и пробата преди сушене след процеса в т. 6.4;

M_2 - масата (g) на съда, на капака му и пробата след сушене след процеса в т. 6.11.

7.2. Повторяемост

Не е допустимо, разликата между резултатите от два анализа, проведени едновременно или в бърза последователност на една и съща проба, от един и същ лаборант, при еднакви условия, да превишава 0,2 g сухо вещество на 100 g продукт.

8. Изчисляване на общо млечно сухо вещество и на сух безмаслен остатък.

8.1. Общото съдържание на млечно сухо вещество на подсладено кондензирано мляко се определя, като от общото сухо вещество (получено по метод 1) се извади съдържанието на захароза (получено по метод 5).

8.2. Съдържанието на сухия безмаслен остатък в подсладени кондензирани млека се определя, като от общото сухо вещество (получено по метод 1) се извадят съдържанието на захароза (получено по метод 5) и масленото съдържание (получено по метод 3).

8.3. Съдържанието на сухия безмаслен остатък в неподсладени кондензирани млека се определя, като от общото сухо вещество (получено по метод 1) се извади масленото съдържание (получено по метод 3).

III. Метод 2. Определяне съдържанието на влага (сушилна пещ 102°C)

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя загубата на маса при изсушаване на млеката по чл. 9 - 12.

2. За целите на това приложение "Съдържание на влага" означава загубата на маса при сушене, когато е определена чрез посочения метод.

3. Принцип на работа

Остатъчната маса на изпитваната проба се определя след изсушаване в сушилна пещ при атмосферно налягане и при температура $102^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Загубата на маса се изчислява като процент от масата на пробата.

4. Апаратура

4.1. Аналитична везна.

4.2. Тигли с плоско дъно, изработени от некорозиращ материал, като никел, алуминий, неръждаема стомана или стъкло. Тиглите трябва да са снабдени с капаци, които да се затварят плътно се и да се отварят лесно. Подходящите размери са: диаметър от 60 mm до 80 mm и дълбочина около 25 mm.

4.3. Сушилня при атмосферно налягане с добра вентилация, термостатично контролирана при $102^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Изисква се температурата в цялата пещ да е равномерна.

4.4. Ексикатор, съдържащ прясно активиран силикагел с индикатор за водно съдържание или еквивалентен изсушител.

5. Начин на работа

5.1. Тигелът се отваря (т. 4.2) и се поставя заедно с капака в сушилната пещ (т. 4.3). Загрява се за около 1 h.

5.2. Тигелът се затваря с капака и се прехвърля в ексикатора (т. 4.4). Охлажда се до стайна температура и се претегля с точност до 0,1 mg (M_0).

5.3. В тигела се поставят около 2 g от пробата сухо мляко, затваря се с капака и се претегля с точност до 0,1 mg, колкото е възможно по-бързо (M_1).

5.4. Тигелът се отваря и се слага заедно с капака в пещта за 2 h.

5.5. Поставя се капакът и тигелът се прехвърля в сушилнята, оставя се да се охлади до стайна температура и се претегля с точност до 0,1 mg.

5.6. Тигелът се отваря и се поставя заедно с капака в пещта за 1 h.

5.7. Повтаря се процесът от т. 5.5.

5.8. Повтарят се процесите от т. 5.6 и 5.5, докато разликата в масите при две последователни измервания стане по-малка от 0,5 mg или докато масата започне да се увеличава. Ако се установи увеличение на масата, трябва да се използва най-малката маса, необходима за изчислението (т. 6.1). Крайната записана маса трябва да е M_2 (g).

6. Изразяване на резултатите

6.1. Метод на изчисление

Загубата на маса при сушене на пробата се изчислява в проценти по формулата:

$$\frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100,$$

където:

M_0 е масата (g) на тигела и на капака след процеса в т. 5.2;

M_1 – масата (g) на тигела и на капака и пробата преди сушене;

M_2 – масата (g) на тигела и на капака и пробата след сушене.

6.2. Повтаряемост

Не е допустимо, разликата между резултатите от два анализа, проведени едновременно или в бърза последователност на една и съща проба, от един и същ лаборант, при еднакви условия, да превишава 0,1 g влага на 100 g продукт.

IV. Метод 3. Определяне на масленото съдържание в кондензирани млека (метод на Rose-Gottlieb)

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя масленото съдържание на млеката по чл. 2 - 8.

2. За целите на това приложение "Съдържание на мазнини в кондензирани млека" е съдържанието на мазнини, определено по този специфициран метод.

3. Принцип на работа

Масленото съдържание се определя чрез екстрахиране на мазнините от амонячно-алкохолен разтвор на пробата посредством диетилов или петролев етер, изпаряване на разтворителите и претегляне на утайката. Изчислява се като процент от масата на пробата съгласно метода на Rose-Gottlieb.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да отговарят на изискванията, определени при празната проба (т. 6.1). Когато е необходимо реактивите се редестилират в присъствието на около 1 g млечна мазнина на 100 ml разтворител.

4.1. Амонячен разтвор приблизително 25 % (w/w) NH_3 (с плътност 0,91 g/ml при 20°C) или по-силен разтвор с известна концентрация

4.2. Етанол 96 % \pm 2 % (v/v) като етанолът може да бъде заменен с етилов алкохол, денатуриран с метилов алкохол, етил-метилкетон или петролев етер.

4.3. Диетилов етер, свободен от пероксиди

Забележка 1:

Изпитването за пероксиди се извършва, като в малък цилиндър със стъклена запушалка (предварително промит с етер) се поставят 10 ml от етера и се прибавя 1 ml прясно приготвен 10 % разтвор на калиев йодид. Сместа се разклаща и се оставя да престои 1 min. Не трябва да се появи жълто оцветяване в нито един от двата слоя.

Забележка 2:

Диетиловият етер се предпазва от образуване на пероксиди чрез поставяне в съд на мокро цинково фолио, което предварително е било потопено в разреден подкиселен разтвор на меден сулфат ($\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) в продължение на 1 min и е било измито с вода. За 1 l диетилов етер се използва приблизително 8 000 mm^2 цинково фолио, нарязано на ленти, чиято дължина трябва да стига най-малко до половината от височината на съда.

4.4. Петролев етер с точка на кипене от 30°C до 60°C.

4.5. Смесен разтворител, приготвен непосредствено преди употреба чрез смесване на равни обеми диетилов етер (т. 4.3) и петролев етер (т. 4.4). Смесеният разтворител може да се замени с диетилов или петролев етер.

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна.

5.2. Подходящи екстракционни епруветки или колби, снабдени със запушалки от матово стъкло или други запушалки, нереагиращи на използваните разтворители.

5.3. Колби - тънкостенни и с плоско дъно, с вместимост от 150 ml до 250 ml.

5.4. Сушилна пещ при атмосферно налягане с добра вентилация, термостатично контролирана при 102°C \pm 1°C.

5.5. Антипенителни гранули, които не съдържат мазнини, не са порьозни и ронливи, например стъклени перли или гранули от силиконов карбид (по избор - виж т. 6.2.1).

5.6. Сифон, който съответства на екстракционните епруветки.

5.7. Центрофуга (по избор).

6. Начин на работа

6.1. Празна проба

Едновременно с определяне на масленото съдържание на пробата се провежда и т.нар. „празна проба“ с 10 ml вода, като се използват същите съдове за екстракция, същите количества реактиви и същите процедури, както са описани в т. 6.2, с изключение на т. 6.2.2. Ако резултатът превишава 0,5 mg, реактивите трябва да се проверят и замърсеният реактив или реактиви трябва да се пречистват или сменят.

6.2. Определяне

6.2.1. Изсушава се колба (т. 5.3) в сушилната (т. 5.4) за 30 min до 60 min (ако е необходимо се поставят и няколко антипенителни гранули (т. 5.5) с цел да се подпомогне разтворът да заври спокойно чрез последващо отстраняване на разтворителите). Колбата се охлажда до стайна температура, след което се претегля с точност до 0,1 mg.

6.2.2. Приготвената проба се размесва директно във или чрез разликата в съдовете за екстракция (т. 5.2), след което с точност до 1 mg се претеглят от 2 g до 2,5 g от пробата - когато е подсладена, или от 4 g до 5 g от пробата, когато не е подсладена, както е посочено в т. 5.2. Добавя се вода до 10,5 ml, размесва се внимателно при леко затопляне до 40° - 50°C до пълно диспергиране на продукта. Пробата трябва да е напълно диспергирана; в противен случай определянето се повтаря.

6.2.3. Прибавя се 1,5 ml 25 % амонячен разтвор (т. 4.1) или еквивалентен обем от разтвор с по-висока концентрация и се смесват.

6.2.4. Прибавят се 10 ml етанол (т. 4.2) и течностите се смесват спокойно и внимателно в отворения съд.

6.2.5. Прибавят се 25 ml диетилов етер (т. 4.3). Охлажда се под течаща вода. Съдът се затваря, енергично се разклаща и се обръща многократно в продължение на 1 min.

6.2.6. Запушалката се маха внимателно, прибавят се 25 ml петролев етер (т. 4.4), като с първите няколко милилитра се промиват запушалката и отворът на съда, така че разтворителят да изтече в съда. Запушалката се поставя и съдът се разклаща и обръща в продължение на 30 s. Не се разклаща прекомерно силно, ако не се предвижда центрофугиране, както е описано в т. 6.2.7.

6.2.7. Съдът се оставя в покой за 90 min - 120 min до избистряне на горния пласт и пълното му разделяне от водния слой. Разделянето на двата пласта може да се постигне и чрез центрофугиране с подходяща центрофуга (т. 5.7).

Забележка: При използване на центрофуга, която не е снабдена с трифазен двигател, може да се появят искри, поради което е необходимо да се вземат мерки за предпазване от експлозия или пожар в резултат на изпаряване на етера, примерно, поради счупване на епруветка.

6.2.8. Запушалката се маха и се промива едновременно с отвора на съда с няколко милилитра от смесения разтворител (т. 4.5), при което течността трябва да се стече в съда. В колбата (т. 6.2.1) се прехвърля внимателно възможно най-голямо количество от плаващия по повърхността слой чрез декантиране или с помощта на сифон (т. 5.6).

Забележка: Когато прехвърлянето не се извършва със сифон, може да се наложи прибавяне на малко количество вода, за да се повдигне нивото на граничната повърхност между двата пласта, което улеснява декантирането.

6.2.9. Външната и вътрешната страна на отвора на съда или края и долната част на сифона се изплакват с няколко милилитра от смесения разтворител (т. 4.5). Утайката от външната част на съда се събира в колбата, а утайката от вътрешната част на отвора и от сифона се събира в съда за екстракция.

6.2.10. Екстракцията се повтаря по процедурата описана в т. 6.2.5 - 6.2.9, като при това се използват само 15 ml диетилов етер и 15 ml петролев етер.

6.2.11. Екстрахира се трети път по процедурата, описана в т. 6.2.10, като не се стига до крайно утаяване (т. 6.2.9).

Забележка: При анализ на проби от неподсладено обезмаслено кондензирано мляко и подсладено обезмаслено кондензирано мляко, трето екстрахиране не е задължително.

6.2.12. Внимателно се изпарява или се дестилира, колкото е възможно повече от разтворителя (включително и етанола). Когато колбата е с малка вместимост, известна част от разтворителя се отстранява след всяка екстракция.

6.2.13. Когато миризмата на разтворителите не е напълно отстранена, колбата се поставя в сушилната печ и се загрева в продължение на 60 min.

6.2.14. Колбата се изважда от печта, охлажда се до стайна температура и се претегля с точност до 0,1 mg.

6.2.15. Процедурите от т. 6.2.13 и 6.2.14 се повтарят, като колбата се нагрива в продължение на 30 min до 60 min, докато разликата в масите при две последователни измервания стане по-малко от 0,5 mg или докато масата започне да се увеличава. Ако се установи увеличение на масата, се използва най-малката маса, необходима за изчислението (т. 7.1). Крайната записана маса трябва да е M_1 (g).

6.2.16. Прибавят се 15 ml до 25 ml петролев етер, с цел да се установи, дали екстрахираният материал е напълно разтворим. Затопля се умерено и разтворителят се разклаща чрез завъртане на колбата, докато цялото количество мазнина се разтвори.

6.2.16.1. Когато екстрахираният материал е напълно разтворим в петролев етер, масата на мазнината се определя от разликата между стойностите от т. 6.2.1 и 6.2.15.

6.2.16.2. Когато е налице или има съмнение за наличие на неразтворим материал, мазнината се екстрахира напълно от колбата чрез три последователни промивания с топъл петролев етер и неразтвореният материал се оставя да се утаи преди всяко декантиране. Външната страна на отвора на колбата се промива трикратно. Колбата се поставя в сушилната и се нагрива в продължение на 1 h. Колбата се охлажда до стайна температура както е посочено в

т. 6.2.1 и се претегля с точност до 0,1 mg. Масата на мазнината се определя като разлика между масата, получена както е посочено в т. 6.2.15 и крайната маса.

7. Изразяване на резултатите

7.1. Изчисления

Масата на екстрахираните мазнини (g) е:

$$(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)$$

Масленото съдържание в пробата, изразено в проценти, се определя по формулата:

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100,$$

където:

M_1 е масата (g) на колба М с мазнината след процеса в т. 6.2.15;

M_2 – масата (g) на колба М след процеса в т. 6.2.1 или след процеса в т. 6.2.16.2 в случаите на неразтворим материал или на съмнение за такъв;

B_1 – масата (g) на колба В на празната проба след процеса в т. 6.2.15;

B_2 – масата (g) на колба В след процеса в т. 6.2.1 или след процеса в т. 6.2.16.2 в случаите на неразтворим материал или на съмнение за такъв;

S – масата (g) на използваната проба.

7.2. Повтаряемост

Не е допустимо, разликата в резултатите от две изпитвания на една и съща проба, когато са проведени едновременно или в бърза последователност, от един и същ лаборант и при еднакви условия, да превишава 0,05 g мазнина в 100 g продукт.

V. Метод 4. Определяне на масленото съдържание в сухи млека (метод на Rose-Gottlieb)

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя масленото съдържание на млеката по чл. 9 - 12.

2. За целите на това приложение "Маслено съдържание" е съдържанието на мазнини, както е определено по съответния специфициран метод.

3. Принцип на работа

Масленото съдържание се определя гравиметрично чрез екстрахиране на мазнината от амонячно-алкохолен разтвор на мляко посредством диетилов или петролев етер, изпаряване на разтворителите и претегляне на остатъка. Изчислява се като процент от масата на пробата съгласно метода на Rose-Gottlieb.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да отговарят на изискванията, определени в празната проба (т. 6.1). Ако е необходимо, реактивите може да се редестилират в присъствието на около 1 g млечна мазнина в 100 ml разтвор.

4.1. Амонячен разтвор приблизително 25 % (w/w) NH_3 (с плътност около 0,91 g/ml при 20°C) или по-силен разтвор с известна концентрация.

4.2. Етилов алкохол 96±2 % (v/v) или етилов алкохол, денатуриран с метилов алкохол, етил-метил кетон или петролев етер.

4.3. Диетилов етер, свободен от пероксиди.

Забележка 1:

Изпитването за пероксиди се извършва, като в малък цилиндър със стъклена запушалка (предварително промит с етер) се поставят 10 ml от етера и се прибавя 1 ml прясно приготвен 10 % разтвор на калиев йодид. Сместа се разклаща и се оставя да престои 1 min. В нито един от двата слоя не би трябвало да се прояви жълто оцветяване.

Забележка 2:

Диетиловият етер се предпазва от образуване на пероксиди чрез добавяне на мокро цинково фолио, предварително потопено в подкиселен разреден разтвор на меден сулфат ($\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) за една минута и промито с вода. За 1 L диетилов етер се използва приблизително 8 000 mm^2 цинково фолио, нарязано на ленти, с дължина най-малко половината от височината на съда.

4.4. Петролев етер с температура на кипене от 30°C до 60°C.

4.5. Смесен разтворител, приготвен непосредствено преди употреба чрез смесване на равни обеми диетилов (т. 4.3) и петролев етер (т. 4.4). Смесеният разтворител може да се замени с диетилов или петролев етер.

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна

5.2. Подходящи екстракционни епруветки или колби, снабдени със запушалки от матово стъкло или друг материал, който не влиза в реакция с използваните разтворители.

5.3. Колби – тънкостенни и с плоско дъно, с вместимост от 150 ml до 250 ml.

5.4. Сушилня при атмосферно налягане, с добра вентилация, термостатично контролирана при $102^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$.

5.5. Антипенителни гранули, които не съдържат мазнини, не са порьозни и ронливи, като стъклени перли или гранули от силиконов карбид (използването на този материал е по избор - виж т. 6.2.1).

5.6. Водна баня от 60°C до 70°C .

5.7. Сифон, който съответства на екстракционните епруветки.

5.8. Центрофуга (по избор).

6. Начин на работа

6.1. Празна проба

Едновременно с определяне на масленото съдържание на пробата се провежда и т.нар. празна проба с 10 ml вода, като се използват същите съдове за екстракция, същите количества реактиви и същите процедури, както са описани в т. 6.2, с изключение на т. 6.2.2. Ако резултатът превишава 0,5 mg, реактивите трябва да се проверят и замърсеният реактив или реактиви трябва да се пречистят или подменят.

6.2. Определяне

6.2.1. Изсушава се колба (т. 5.3) в сушилнята (т. 5.4) за 30 min до 60 min (ако е необходимо, се поставят и няколко антипенителни гранули (т. 5.5), с цел разтворът да заври умерено при отстраняване на разтворителите). Колбата се охлажда до стайна температура, след което се претегля с точност до 0,1 mg.

6.2.2. Около 1 g пълномаслено мляко на прах или около 1,5 g частично обезмаслено или обезмаслено мляко на прах се претегля прецизно, с точност до 1 mg, директно във или чрез разлика в съдовете за екстракция (т. 5.2). Прибавят се 10 ml вода и внимателно се разклаща, докато млякото на прах се разтвори напълно. За някои проби може да се наложи и загряване.

6.2.3. Прибавят се 1,5 ml 25 % амонячен разтвор (т. 4.1) или еквивалентен обем от разтвор с по-висока концентрация. Поставя се на водна баня (т. 5.6) за 15 min при 60°C - 70°C , като от време на време се разбърква. Допустимо е да бъде охладен под течаща вода.

6.2.4. Прибавят се 10 ml етанол (т. 4.2) и течностите се смесват бавно и внимателно в отворения съд.

6.2.5. Прибавят се 25 ml диетилов етер (т. 4.3). Охлажда се под течаща вода. Съдът се затваря, енергично се разклаща и се обръща многократно в продължение на 1 min.

6.2.6. Запушалката се маха внимателно, прибавят се 25 ml петролев етер (т. 4.4), като с първите няколко милилитра се промиват запушалката и отворът на съда, така че разтворителят да изтече в съда. Запушалката се поставя и съдът се разклаща и обръща в продължение на 30 sec. Не се разклаща прекомерно силно, освен ако не се предвижда центрофугиране, както е описано в т. 6.2.7.

6.2.7. Съдът се оставя в покой до избистряне на горния пласт и пълното му разделяне от водния слой. Разделянето на двата пласта може да се постигне и чрез центрофугиране с подходяща центрофуга (т. 5.8).

Забележка: При използване на центрофуга, която не е снабдена с трифазен двигател, може да възникнат искри, което налага предпазни мерки за предотвратяване на експлозия или пожар в резултат на изпаряване на етера, например поради счупване на епруветка.

6.2.8. Запушалката се маха и едновременно отворът на съда се промива с няколко милилитра от смесения разтворител (т. 4.5), при което течността трябва да се стече в съда. В колбата (т. 6.2.1) се прехвърля внимателно възможно най-голямо количество от отделилия се на повърхността слой, което се постига чрез декантиране или с помощта на сифон (т. 5.6).

Забележка: В случаите, когато прехвърлянето не се извършва със сифон, може да се наложи прибавяне на малко количество вода, с цел повдигне нивото на граничната повърхност между двата пласта, което улеснява декантирането.

6.2.9. Външната и вътрешната страна на отвора на съда или краят и долната част на сифона се изплакват с няколко милилитра от смесения разтворител (т. 4.5). Утайката от външната част на съда се събира в колбата, а утайката от вътрешната част на отвора и от сифона се събира в съда за екстракция.

6.2.10. Извършва се повторна екстракция, като се повтаря процедурата от т. 6.2.5 - 6.2.9, но се използват само 15 ml диетилов етер и 15 ml петролев етер.

6.2.11. Екстрахира се трети път, като процедурата, описана в т. 6.2.10, се повтаря, но не се провежда крайното промиване (т. 6.2.9).

Забележка: При анализ на проби от обезмаслено сухо мляко провеждането на третото екстрахиране не е задължително.

6.2.12. Внимателно се изпарява или се дестилира колкото е възможно повече от разтворителя (включително и етанола). Ако колбата е с малка вместимост, известна част от разтворителя се отстранява след всяка екстракция.

6.2.13. Когато миризмата на разтворителите не е напълно отстранена, колбата се поставя в сушилната пещ и се загрява в продължение на 60 min.

6.2.14. Колбата се изважда от пещта, охлажда се до стайна температура (т. 6.2.1) и се претегля с точност до 0,1 mg.

6.2.15. Процедурите от т. 6.2.13 и 6.2.14 се повтарят, като колбата се нагрива в продължение на 30 min до 60 min, докато разликата в масите при две последователни измервания стане по-малко от 0,5 mg или докато масата започне да се увеличава. Ако се установи увеличение на масата, трябва да се използва най-малката маса, необходима за изчислението (т. 7.1). Крайната записана маса трябва да е M_1 (g).

6.2.16. Прибавят се 15 ml до 25 ml петролев етер, за да се потвърди, че екстрахираният материал е напълно разтворим. Затопля се внимателно и разтворителят се разклаща чрез завъртане на колбата, докато цялото количество мазнина се разтвори.

6.2.16.1. Когато екстрахираният материал е напълно разтворим в петролев етер, масата на мазнината се определя от разликата между стойностите в т. 6.2.1 и 6.2.15.

6.2.16.2. Когато съществува или има съмнение за наличие на неразтворим материал, мазнината се екстрахира напълно от колбата чрез три последователни промивания с топъл петролев етер и се оставя неразтвореният материал да се утаи преди всяко декантиране. Външната страна на отвора на колбата се промива трикратно. Колбата се поставя в сушилната и се нагрива в продължение на 1 h, след което се охлажда до стайна температура, съгласно т. 6.2.1, и се претегля с точност до 0,1 mg. Масата на мазнината се определя като разлика между масата, получена по т. 6.2.15 и крайната маса.

7. Изразяване на резултатите

7.1. Изчисления

Масата на екстрахирания мазнини (g) е:

$$(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)$$

Масленото съдържание в пробата, изразено в проценти, се определя по формулата:

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100,$$

където:

M_1 е масата (g) на колба М с мазнината след процеса в т. 6.2.15;

M_2 - масата (g) на колба М след процеса в т. 6.2.1 или след процеса в т. 6.2.16.2 в случаите на неразтворим материал или на съмнение за такъв;

B_1 - масата (g) на колба В на празната проба след процеса в т. 6.2.15;

B_2 - масата (g) на колба В след процеса в т. 6.2.1 или след процеса в т. 6.2.16.2 в случаите на неразтворим материал или на съмнение за такъв;

S - масата (g) на взетата проба за анализ.

7.2. Повтаряемост

Разликата между резултатите от два анализа, проведени едновременно или в бърза последователност на една и съща проба, от един и същ лаборант, при еднакви условия, не трябва да превишава 0,2 g мазнина в 100 g продукт, с изключение на сухо обезмаслено мляко на прах, за което разликата не трябва да превишава 0,1 g мазнина в 100 g продукт.

VI. Метод 5. Определяне съдържанието на захароза (поляриметричен метод)

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя съдържанието на захароза на млеката по чл. 6 - 8.

Пробите не трябва да съдържат инвертна захар.

2. За целите на това приложение "Съдържание на захароза в подсладени кондензирани млека" е съдържанието на захароза, както е определено в съответния специфициран метод.

3. Принцип на работа

Методът е изграден на принципа на инверсия на Clerget: Третирането на пробата с разредена киселина предизвиква пълна хидролиза на захарозата, но почти не влияе на лактозата и другите захари. Съдържанието на захароза се получава чрез промяната на силата на въртене на разтвора.

Прозрачният филтрат на пробата (без мутаротация на лактозата) се получава чрез третиране с амонячен разтвор, последвано от неутрализация и избистряне, чрез последователно добавяне на разтвор от цинков ацетат и калиев хексаферицианат II.

В част от филтратата захарозата се хидролизира по специфичен начин. Съдържанието на захароза се изчислява по изменението на оптичското въртене на филтратата вследствие на хидролизата на захарозата, като се използва подходяща формула.

4. Реактиви

4.1. Разтвор на цинков ацетат 1 M; 21,9 g кристален цинков ацетат $[Zn(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O]$ и 3 ml ледена оцетна киселина се разтварят и се доливат с вода до 100 ml.

4.2. Разтвор на калиев хексафероцианат (II) 0,25 M; разтваря се във вода 10,6 g кристален калиев хексафероцианат (II) трихидрат $\{K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O\}$ и се допълва до 100 ml с вода.

4.3. Разтвор на солна киселина $6,35 \pm 0,20$ M (от 20 до 22 %) или $5,0 \pm 0,2$ M (от 16 % до 18 %).

4.4. Амонячен разтвор $2,0 \pm 0,2$ M (3,5 %).

4.5. Разтвор на оцетна киселина $2,0 \pm 0,2$ M (12 %).

4.6. Разтвор на бромтимолово синьо: 1 % (w/v) в етанол.

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна с разделителна способност 10 mg.

5.2. Поляриметрична епруветка - с прецизно калибрирана дължина от 2 dm.

5.3. Поляриметър или глюкометър

а) използва се поляриметър, снабден с натриева или зелена живачна лампа (лампа на живачни пари с призма или специален екран на Wratten № 77 А), с точност на деленията на скалата най-малко 0,05 ъглови градуса;

б) глюкометърът трябва да разполага с международна захарна скала, при която се използва бяла светлина, преминаваща през филтър с дебелина 15 mm, запълнен с 6 % разтвор на калиев бихромат или натриева светлина с точност на едно деление по международната захарна скала най-малко 0,1°.

5.4. Водна баня, регулирана при $60^\circ C \pm 1^\circ C$.

6. Начин на работа

6.1. Контролно определяне

С оглед стандартизиране начина на работа с реактивите и апаратурата, се извършват две контролни определяния, като се използва смес от 100 g мляко и 18 g чиста захароза или смес от 110 g обезмаслено мляко и 18 g чиста захароза, като всяка от смесите съответства на 40 g кондензирано мляко със съдържание на 45 % захароза.

Съдържанието на захар се изчислява по формулите, посочени в т. 7, като във формула 1 M, F и P се заменят съответно с количеството на взетото мляко, съдържанието на мазнина и белтък в него, а във формула 2 M се заменя със стойността 40,00.

Средната аритметична стойност на резултатите получени от двата анализа поотделно, не бива да се отклонява с повече от 0,2 % от 45,0 %.

6.2. Определяне

6.2.1. В бехерова чаша от 100 ml се претеглят с точност до 10 mg около 40 g от добре разбърканата проба. Прибавят се 50 ml топла вода ($80^\circ C - 90^\circ C$) и се разбърква добре.

6.2.2. Сместа се прехвърля в 200 ml обемна колба и чашата се изплаква последователно с вода, загрята до $60^\circ C$ до достигане на общ обем на сместа 120 ml - 150 ml. Сместа се разбърква и охлажда до стайна температура.

6.2.3. Добавят се 5 ml разреден амонячен разтвор (т. 4.4). Сместа се разбърква отново и се оставя в покой 15 min.

6.2.4. Амонякът се неутрализира чрез добавяне на еквивалентно количество разреден разтвор на оцетна киселина (т. 4.5), което предварително се определя в милилитри чрез титриране на амонячния разтвор с оцетна киселина, използвайки като индикатор бромтимоловосиньо (т. 4.6). Сместа се разбърква.

6.2.5. Добавят се при внимателно смесване чрез въртене на наклонената колба 12,5 ml разтвор на цинков ацетат (т. 4.1).

6.2.6. Добавят се 12,5 ml разтвор на калиев хексафероцианат (II) (т. 4.2) по същия начин, както при ацетатния разтвор.

6.2.7. Колбата се загрява така, че температурата на съдържанието ѝ да достигне $20^\circ C$, и се долива с вода ($20^\circ C$) до 200 ml.

Забележка: По време на описания процес добавянето на водата или реактивите трябва да се извършва по такъв начин, че да се избегне образуването на въздушни мехурчета. По същата причина и хомогенизирането се прави чрез въртене на колбата, а не чрез разклащане. Ако се появят въздушни мехурчета преди колбата да се долее до обем от 200 ml, въздухът се отстранява, като колбата се свързва с вакуумна помпа и се върти.

6.2.8. Колбата се затваря със суха запушалка и съдържанието се размесва старателно, като се разклаща енергично.

6.2.9. Колбата се оставя в покой няколко минути, след което течността се филтрира през суха филтърна хартия. Първите 25 ml от филтрата се изхвърлят.

6.2.10. Директна поляризация: определя се оптичното въртене на филтратата при температура $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

6.2.11. Инверсия: отмерват се с пипета 40 ml от филтратата, получен по т. 6.2.9, в мерителна колба от 50 ml и се добавят 6,0 ml 6,35 M солна киселина или 7,5 ml 5,0 M солна киселина (т. 4.3).

Колбата се поставя на водна баня при температура 60°C за 15 min, като крушовидната ѝ част изцяло се потапя във водната баня. През първите 5 min съдържанието на колбата се разбърква посредством въртеливи движения, като през това време то достига температурата на водната баня. След охлаждане до 20°C , разликата в обема се допълва с вода (20°C). Разбърква се и се оставя да престои 1 h при тази температура.

6.2.12. Инвертна поляризация

Определя се въртенето (поляризация след инверсия) на филтратата след инверсия при температура $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Ако през времето на измерването температурата на течността T в поляризационната тръба се различава с повече от $0,2^{\circ}\text{C}$, се правят температурните корекции съгласно т. 7.2.

7. Изразяване на резултатите

7.1. Метод на изчисление

Съдържанието на захароза се определя по формулата:

$$1) v = \frac{M}{100} (1,08F + 1,55P)$$

$$2) S = \frac{D - 1,25I}{Q} \times \frac{V - v}{V} \times \frac{V}{L \times M} \%,$$

където:

S - съдържание на захароза;

M - масата на претеглената проба (g);

F - масленото съдържание на пробата (%);

P - белтъчното съдържание на пробата ($N \times 6,38$) в проценти;

V - обемът на пробата (ml), до който тя е била разреждана, преди филтрацията;

v - корекцията на обема (ml) на утайката, образувана през време на избистрянето;

D - отчитането на директната поляризация преди инверсията;

I - отчитането на поляризацията след инверсията;

L - дължината (dm) на поляриметричната тръба;

Q - коефициентът на инверсия със стойности по т. 7.2.

Забележки:

а) претеглят се точно 40,00 g кондензирано мляко, използва се поляриметър с натриева лампа, а отчитането се прави в ъглови градуси в поляриметрична тръба с дължина 2 dm при температура $20,0^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$; съдържанието на захароза в нормално кондензирано мляко ($C = 9$) се изчислява по формулата:

$$S = (D - 1,25I) \times (2,833 - 0,00612F - 0,00878P)$$

б) ако поляризацията след инверсия се измерва при температура, различна от 20°C , получените резултати трябва да се умножат по:

$$1 + 0,0037 (T - 20)$$

7.2. Стойности на коефициента на инверсия Q

Следните формули дават точни стойности за Q при използване на различни източници на светлина с корекции за концентрация и температура:

Натриева лампа и поляриметър, градуирани в ъглови градуси:

$$Q = 0,8825 + 0,0006 (C - 9) - 0,0033 (T - 20)$$

Живачна лампа със зелена светлина и поляриметър, градуирани в ъглови градуси:

$$Q = 1,0392 + 0,0007 (C - 9) - 0,0039 (T - 20)$$

Бяла светлина с филтър от бихромат и глюкомер с международна скала за захар в градуси, където в посочените формули:

C - общото съдържание на захарите в поляризирания инвертен разтвор (%);

T - температурата на инвертния разтвор при отчитане на поляризацията (градуса C).

Забележка 1:

Общото съдържание на захарите C в инвертния разтвор може да се изчисли от показанията за директна поляризация и промяната на инверсията по общоприетия начин, като се използват общоприетите величини за специфично въртене на захарозата, лактозата и инвертната захар.

Корекцията $0,0006 (C - 9)$ и т.н. е точна само когато C е приблизително 9. За нормално кондензирано мляко тази корекция може да се пренебрегне, тъй като C е близко до 9.

Забележка 2:

Отклонението на температурата от 20°C с 1°C оказва слабо влияние на показанията за директната поляризация, но за поляризацията след инверсия е необходима корекция, ако температурата се отклонява с повече от $0,2^{\circ}\text{C}$.

Корекцията $0,0033 (T - 20)$ и т.н. е точна само за температурния интервал от 18°C до 22°C .

7.3. Повторяемост

Не е допустимо, разликата в резултатите от изпитване на една и съща проба, проведено едновременно или в бърза последователност от един и същ лаборант, при еднакви условия, да превишава $0,3$ g захароза в 100 g кондензирано мляко.

VII. Метод 6. Определяне съдържанието на млечна киселина и лактати

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя млечна киселина и лактати (изразени като млечна киселина) в млеката по чл. 9 - 12.

2. За целите на приложението, "Съдържание на млечна киселина и лактати в сухи млека" означава, съдържанието на млечна киселина и лактати, изразени по посочения метод.

3. Принцип на работа

Мазнините, белтъчините и лактозата се извличат едновременно от пробата чрез добавяне на меден сулфат и калциев хидроксид с последваща филтрация.

Посредством концентрирана сярна киселина и в присъствието на меден сулфат (II), млечната киселина и лактатите във филтрата се превръщат в ацетилдехид.

Съдържанието на млечна киселина се определя колориметрично, като се използва р-хидроксиdifенил.

Съдържанието на млечна киселина и лактати се изразява в милиграми млечна киселина на 100 g сух безмаслен остатък.

4. Реактиви

4.1. Разтвор на меден сулфат (II): 250 g меден сулфат (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) се разтварят във вода до обем $1\ 000$ ml.

4.2. Суспензия на калциев хидроксид

4.2.1. Триста грама (300 g) калциев хидроксид [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] се стриват в хаван с вода, като се използват общо 900 ml. Суспензията трябва да е прясно приготвена преди използване.

4.2.2. Суспензия на калциев хидроксид: 300 g калциев хидроксид [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] се стриват с вода в хаван, като се използват общо $1\ 400$ ml. Суспензията се приготвя непосредствено преди използването ѝ (ex tempore).

4.3. Разтвор на сярна киселина - меден сулфат (II): към 300 ml сярна киселина (от $95,9\%$ до $97,0\%$) (w/w) се прибавят $0,5$ ml разтвор на меден сулфат (II) (т. 4.1).

4.4. Разтвор на р-хидроксиdifенил ($\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$): разтварят се $0,75$ g р-хидроксиdifенил посредством разклащане и слабо загряване в 5 ml воден разтвор на натриев хидроксид (NaOH), съдържащ 5 g NaOH на 100 ml. Разрежда се с вода до 50 ml в мерителна колба. Разтворът се съхранява в кафява стъклена бутилка на тъмно и хладно място. Разтворът не се използва когато е с променен цвят или е помътнял. Разтворът е с максимална трайност 72 h.

4.5. Стандартен разтвор на млечна киселина: разтваря се (непосредствено преди употреба) $0,1067$ g литиев лактат ($\text{CH}_3\text{CHONCOOLi}$) във вода и се разрежда до $1\ 000$ ml в обемна колба. Един милилитър от този разтвор съдържа $0,1$ mg млечна киселина.

4.6. Стандартно възстановено мляко: предварително се анализират няколко проби от висококачествено сухо мляко. За изработване на калибровъчната крива се избира пробата с най-ниско съдържание на млечна киселина - не повече от 30 mg/100 g сух безмаслен остатък. Следва се процедурата на работа, описана в т. 6.2.1 и 6.2.2.

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна

5.2. Спектрофотометър, подходящ за отчитане дължина на вълната 570 nm

5.3. Водна баня при $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

5.4. Хаван и чукало

5.5. Филтърна хартия (Schleicher или Schull 595, Whatman 1, или еквивалентна)

5.6. Епруветки, пирекс или еквивалентни съдове (с размери 25 x 150 mm)

Забележка: Всички стъклени съдове трябва да са абсолютно чисти и предназначени за използване само за това определяне. Остатъците от утайки трябва да се отстранят с концентрирана солна киселина преди измиване.

6. Начин на работа

6.1. Празна проба

Празната проба: поставят се 30 ml вода в 50 ml градуирана епруетка и същата се обработва, както е описано от т. 6.2.4 до т. 6.2.11. Когато стойностите на водата превишават 20 mg млечна киселина на 100 g сух безмаслен остатък, реактивите се проверяват и тези, които са замърсени, се подменят.

6.2. Определяне

Забележка: Да се избягват замърсявания с примеси, особено със слюнка и пот.

6.2.1. Определя се съдържанието на сухия безмаслен остатък (a) g на пробата, като от 100 се извади масленото съдържание (получено по метод 4) и съдържанието на влага (получено по метод 2).

6.2.2. Претеглят се $[1\ 000/(a - 10)]g$ от пробата с точност до 0,1 g. Това количество проба се добавя към 100 ml вода и се размесва внимателно.

6.2.3. Вземат се 5 ml от така получения разтвор с пипета и се поставят в 50 ml градуирана епруетка, след което се разрежда с вода до около 30 ml.

6.2.4. Добавят се (бавно при едновременно разклащане) 5 ml разтвор на меден сулфат (II) (т. 4.1) и се оставя в покой 10 min.

6.2.5. Добавят се (бавно, при едновременно разклащане) 5 ml суспензия на калциев хидроксид (т. 4.2.1) или 10 ml суспензия на калциев хидроксид (т. 4.2.2).

6.2.6. Разрежда се с вода до 50 ml, разклаща се енергично и се оставя в покой 10 min. Филтрира се. Първата порция от филтратата се изхвърля.

6.2.7. С пипета се поставя в епруетка (т. 5.6) 1 ml от филтратата.

6.2.8. С бюрета или градуирана пипета, към епруетката се добавят 6,0 ml разтвор на сярна киселина - меден сулфат (II) (т. 4.3). Разтворът се хомогенизира.

6.2.9. Загрява се на вряща водна баня за 5 min. Охлажда се под течаща вода до стайна температура.

6.2.10. Добавят се 2 капки от реактива р-хидроксибензил (т. 4.4) и се разклаща енергично с цел равномерното разпределяне на реактива в течността. Епруетката се поставя на водна баня при температура $30^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ за 15 min, като от време на време се разклаща.

6.2.11. Епруетката се поставя на вряща водна баня за 90 s. Охлажда се под течаща вода до стайна температура.

6.2.12. Измерва се оптичната плътност спрямо празната проба (т. 6.1) не по-късно от 3 h при дължина на вълната, посочена в т. 5.2.

6.2.13. Ако оптичната плътност превишава най-високата точка на стандартната крива, изпитването се повтаря, като се използва подходящо разреждане на филтратата, получен в т. 6.2.6.

6.3. Подготовка на стандартния разтвор.

6.3.1. С пипета се прехвърлят 5 ml от възстановеното мляко (т. 4.6) в пет 50 ml градуирани епруетки, в които се поставят съответно по 0 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml и 4 ml от стандартния разтвор на млечна киселина (т. 4.5), така че да се получи диапазон от стандарти, отговарящ на 0 mg; 20 mg; 40 mg; 60 mg и 80 mg добавена млечна киселина на 100 g сух безмаслен остатък от сухото мляко.

6.3.2. Разрежда се до около 30 ml и се продължава, както е описано от т. 6.2.4 до т. 6.2.11.

6.3.3. Измерва се оптичната плътност на стандартите (т. 6.3.1) спрямо празната проба (т. 6.1) при дължина на вълната, посочена в т. 5.2. Чертае се диаграма на оптичните плътности в зависимост от количеството млечна киселина, представено в т. 6.3.1, т.е. 0 mg; 20 mg; 40 mg; 60 mg и 80 mg на 100 g сух безмаслен остатък. Чертае се най-подходящата непрекъсната линия през точките и се прави стандартна крива чрез движение на тази линия успоредно на самата себе си по такъв начин, че да преминава през началото.

7. Изразяване на резултатите

7.1. Метод на изчисление

Измерената в т. 6.2.12 или в т. 6.2.13 оптична плътност се превръща в mg млечна киселина на 100 g сух безмаслен остатък в пробата чрез отнасяне към стандартната крива. Полученият резултат се умножава по фактора на разреждане, когато филтратът е бил разреждан съгласно т. 6.2.13.

7.2. Повторяемост

Разликата между резултатите от два анализа, проведени едновременно или в бърза последователност на една и съща проба, от един и същ лаборант, при еднакви условия, не

трябва да превишава 8 mg млечна киселина на 100 g сух безмаслен остатък за съдържание до 80 mg. За по-високи стойности тази разлика не трябва да превишава 10 % от най-ниската стойност.

VIII. Метод 7. Определяне на фосфатазната активност (модификация на Sanders и Sager)

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя фосфатазната активност на млеката по чл. 9 - 12.

2. По смисъла на този метод "Фосфатазна активност на сухите млека" е показател за количеството на наличната активна алкална фосфатаза. Тя се изразява като количество фенол (μg), освободен от 1 ml възстановено мляко, както е описано в съответния специфициран метод.

3. Принцип на работа

Фосфатазната активност на сухите млека се изразява със способността на фосфатазата да освобождава фенол от натриевфенилфосфат. Количеството освободен фенол съгласно определените условия се определя чрез спектрометрични измервания на цвета, проявен с реактива на Gibb.

4. Реактиви

4.1. Разтвор А

Буферен бариено-боратен хидроксид: рН $10,6 \pm 0,1$ при 20°C .

Разтварят се 25,0 g бариен хидроксид $[\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}]$ във вода и се разреждат с вода до 500 ml.

Разтварят се 11,0 g борна киселина (H_3BO_3) във вода и се разреждат с вода до 500 ml.

Двата разтвора се смесват и се загряват до 50°C . Сместа се разклаща и охлажда до стайна температура. рН се довежда до $10,6 \pm 0,1$ с помощта на разтвор на бариен хидроксид, след което сместа се филтрира. Разтворът се съхранява в плътно затворен съд.

Преди употреба буферът се разрежда с равно количество вода.

4.2. Разтвор Б

Цветопроявяващ буфер

Разтварят се 6,0 g натриев метаборат (NaBO_2) [или 12,6 g ($\text{NaBO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)] и 20,0 g натриев хлорид (NaCl) във вода и се разреждат с вода до 1 000 ml.

4.3. Разтвор В

Разтвор на буферен субстрат

4.3.1. Разтварят се 0,5 g двунариев фенилфосфат ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) в 4,5 ml от разтвор Б (т. 4.2). Добавят се две капки от разтвор Д и се оставя за 30 min. Цветът се екстрахира с 2,5 ml бутанол (т. 4.10). При необходимост цветната екстракция се повтаря. След отделянето бутанолът се изхвърля. Разтворът може да се съхранява в хладилник няколко дни. Преди употреба цветът трябва да се прояви и извлече още веднъж.

4.3.2. С пипета се прехвърля 1 ml от този разтвор в обемна колба от 100 ml и колбата се допълва до обема ѝ с разтвор А. Буферният разтвор се приготвя непосредствено преди употреба.

4.4. Разтвор Г

Угител

Разтварят се 3,0 g цинков сулфат ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и 0,6 g меден сулфат (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) във вода и се допълват с вода до 100 ml.

4.5. Разтвор Д

Реактив на Gibb

Разтварят се 0,040 g 2,6-дибромхинин 1,4-хлорамид ($\text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_2\text{Br}_2 \cdot \text{NCl}$) в 10 ml 96 % етанол. Разтворът се съхранява в тъмна стъклена бутилка в хладилник. При обезцветяване реактивът се изхвърля.

4.6. Цветоразредителен буфер

10 ml от разтвор Б (т.4.2) (цветопроявяващият се буфер) се разреждат с вода до 100 ml.

4.7. Разтвор на меден сулфат

Разтваря се 0,05 g меден сулфат (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) с вода и се долива с вода до 100 ml.

4.8. Стандартен разтвор на фенол

Разтваря се $0,200 \pm 0,001$ g чист фенол и се долива в обемна колба с вода до 100 ml. Разтворът може да се съхранява в хладилник няколко месеца. Разреждат се 10 ml от този разтвор с вода до 100 ml. Така полученият разреден разтвор съдържа 200 μg фенол в 1 ml и може да бъде използван за приготвяне на по-разредени разтвори.

4.9. Вряща дестилирана вода

4.10. N-Butanol

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна

5.2. Водна баня, термостатично контролирана при $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3. Спектрофотометър, подходящ за отчитане дължина на вълната 610 nm.

5.4. Филтърна хартия (Schleicher или Schull 597, Whatman 42, или еквивалентна)

5.5. Вряща водна баня

5.6. Алюминиево фолио

6. Начин на работа

Предпазни мерки:

1. Да се избягва прякото излагане на слънчева светлина.

2. Всички стъклени съдове, запушалки и преносни материали трябва да бъдат идеално чисти. Препоръчва се да се изплакват и изваряват с вода или да се третираат на пара.

3. Да се избягва използването на пластмасови материали, тъй като те могат да съдържат фенол.

4. Слюнката съдържа фосфатаза. Да се следи внимателно за замърсяване със следи от слюнка.

6.1. Подготовка на пробата

6.1.1. Претеглят се с точност до 0,1 g 10 g от пробата и се разтварят в 90 ml вода. Температурата на разтваряне на сухото мляко не трябва да превишава 35°C.

6.2. Определяне

6.2.1. Поставят се в две епруветки по 1 ml от възстановеното мляко, както е описано в т.

6.1.1.

6.2.2. Едната от епруветките се загрява във вряща вода за 2 min. Епруветката и водната баня (т. 5.5) или бехеровата чаша се покриват с алуминиево фолио (т. 5.6), за да се гарантира затоплянето на цялата епруветка. Охлажда се в студена вода до стайна температура. Тази епруветка се използва за празна проба. При всички следващи действия двете епруветки се третираат еднакво.

6.2.3. Прибавят се 10 ml от разтвор В (т. 4.3.2), разбърква се и епруветката се поставя на водна баня при 37°C (т. 5.2).

6.2.4. Загрява се на водна баня за 60 min, като периодически се разклаща.

6.2.5. Епруветките веднага се прехвърлят във вряща водна баня (т. 5.5) за 2 min. Охлаждат се до стайна температура в студена вода.

6.2.6. Добавя се 1 ml от разтвор Г (т. 4.4), смесва се и се филтрира през суха филтърна хартия. Първите филтрати се изхвърлят до получаване на прозрачна течност.

6.2.7. От всеки филтрат се поставят по 5 ml в епруветките, добавят се 5 ml от разтвор Б (т. 4.2) и 0,1 ml от разтвор Д (т. 4.5). Полученият разтвор се хомогенизира.

6.2.8. Разтворът се оставя до проявяване на цвета при стайна температура за 30 min, но далеч от пряка слънчева светлина.

6.2.9. Измерва се оптичната плътност на пробата спрямо празната проба при дължина на вълната, посочена в т. 5.3.

6.2.10. Анализът се повтаря, ако оптичната плътност на разтвора превишава стандартната проба с 20 µg фенол, приготвена съгласно т. 7.

Ако тази граница е превишена, се разрежда подходящ обем от възстановеното мляко съгласно т. 6.1.1 с подходящ обем от свареното мляко, както е посочено в т. 6.2.2, с цел дезактивиране на алкалната фосфатаза.

7. Подготовка на стандартната крива

7.1. В четири 100 ml обемни колби се прехвърлят посредством пипета съответно по 1 ml; 3 ml; 5 ml и 10 ml от стандартния разтвор на фенол, разреден съгласно т. 4.8, и се доливат до марката с вода. Тези разредени разтвори съдържат съответно 2 µg; 6 µg; 10 µg и 20 µg фенол/ml.

7.2. Поставя се посредством пипета 1 ml вода или 1 ml от всеки стандартен разтвор (т. 7.1) в епруветките с цел получаване на серия от проби, съдържащи 0 µg (стойност на празната проба, получена чрез използване на 1 ml вода); 2 µg; 6 µg; 10 µg или 20 µg фенол.

7.3. Последователно във всяка епруветка посредством пипета се поставят 1 ml от разтвора меден сулфат (II) (т. 4.7), 5 ml разтвор на цветоразредителен буферен разтвор (т. 4.6), 3 ml вода и 0,1 ml от разтвор Д (т. 4.5). Полученият разтвор се разбърква.

7.4. Епруветките се оставят далеч от пряка слънчева светлина при стайна температура за 30 min.

7.5. Измерва се поглъщаемостта на разтворите във всяка една от епруветките, сравнена със стойността на празната проба при дължина на вълната, посочена в т. 5.3.

7.6. Стандартната крива се изработва чрез нанасяне на стойностите на поглъщане срещу стойностите на фенол в микрограма, както е посочено в т. 7.2.

8. Изразяване на резултатите

8.1. Изчисление

8.1.1. Стойностите се превръщат в микрограма фенол, както е посочено в т. 6.2.9, чрез нанасяне на стандартната крива.

8.1.2. Изчислява се фосфатазната активност в µg фенол/ml възстановено мляко съгласно следната формула:

Фосфатазна активност = $2,4 \times P$,

където:

P е количеството фенол (μg) съгласно т. 8.1.1.

8.1.3. Ако е било необходимо разреждане, както е посочено в т. 6.2.10, полученият резултат в т. 8.1.2 се умножава с фактора на разреждане.

8.2. Повтаряемост

Разликата между резултатите от два анализа, проведени едновременно или в бърза последователност на една и съща проба, от един и същ лаборант, при еднакви условия, не трябва да превишава $2 \mu\text{g}$ освободен фенол на 1 ml възстановено мляко.

IX. Метод 8. Определяне на фосфатазната активност (процедура на Aschaffenburg и Mullen)

1. Обхват и сфера на приложение

С този метод се определя фосфатазната активност на млеката по чл. 9 - 12.

2. По смисъла на този метод "фосфатазна активност на сухите млека" е показател за количеството на наличната активна алкална фосфатаза. Тя се изразява като количество p -нитрофенол (μg), освободен от 1 ml възстановена проба, както е описано в съответния специфициран метод.

3. Принцип на работа

Възстановената проба се разрежда с буферен субстрат при $\text{pH } 10,2$, загрява се при температура 37°C за 2 h . При тези условия цялата налична алкална фосфатаза в пробата освобождава p -нитрофенол в резултат на прибавения динатриев p -нитрофенил фосфат. Освободеният p -нитрофенол се определя чрез директно сравняване със стандартните цветни стъкла в прост калибратор чрез използване на отразена светлина.

4. Реактиви

4.1. Буферен разтвор на натриев карбонат-бикарбонат

Разтварят се $3,5 \text{ g}$ дехидриран натриев карбонат и $1,5 \text{ g}$ натриев бикарбонат във вода и се разреждат с вода в обемна колба до $1\ 000 \text{ ml}$.

4.2. Буферен субстрат

Разтварят се $1,5 \text{ g}$ дунатриев p -нитрофенилфосфат в буферния разтвор натриев карбонат-бикарбонат (т. 4.1) и се разреждат в обемна колба с буфер (т. 4.1) до $1\ 000 \text{ ml}$. Този разтвор е стабилен за срок от един месец, ако се съхранява в хладилник ($\leq 4^\circ\text{C}$), но трябва да се провежда тест за контрол относно цвета на такива разтвори (т. 6 - предпазна мярка 3).

4.3. Избистрящи разтвори

4.3.1. Разтвор на цинков сулфат

Разтварят се $30,0 \text{ g}$ цинков сулфат (ZnSO_4) и се разреждат в обемна колба с вода до 1000 ml .

4.3.2. Разтвор на калиев фeroцианат (II)

Разтварят се $17,2 \text{ g}$ калиев фeroцианат (II) трихидрат [$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$] и се разреждат в обемна колба с вода до 100 ml .

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна

5.2. Водна баня - термостатично контролирана при $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3. Уред за сравняване със стандартен образец, снабден със специален диск с цветни стъкла, калибрани в μg p -нитрофенол/ ml мляко и с клетки $2 \times 25 \text{ mm}$.

6. Начин на работа

Предпазни мерки:

1. След използване епруветките трябва да се изпразнят, да се изплакнат с вода, да се измият с топла вода, съдържаща алкален миеш препарат, след което да се изплакнат с чиста топла чешмяна вода, накрая да се изплакнат с вода и да се подсушат.

Пипетите трябва да се изплакнат със студена чешмяна вода веднага след употреба, последвано от изплакване с вода и подсушаване преди употреба.

2. Запушалките на епруветките трябва да се изплакнат с топла чешмяна вода веднага след употреба, след което се изваряват във вода за 2 min .

3. Разтворът на буферния субстрат (т. 4.2) може да остане стабилен най-малко един месец, ако се съхранява в хладилник при температура не по-висока от 4°C . Нестабилността му се изразява с появата на жълто оцветяване. Макар че изпитването винаги се отчита спрямо вряща контрола, съдържаща същия разтвор на буферен субстрат, препоръчва се да не се използва разтворът, ако той дава отчитане на цвета повече от $10 \mu\text{g}$ при отчитане на 25 mm клетка в уред за сравняване със стандартен образец при използване на дестилирана вода в другата 25 mm клетка.

4. За всяка проба се използва отделна пипета, като се избягва замърсяването ѝ със слюнка.

5. Пробата не трябва да бъде излагана на директна слънчева светлина.

6.1. Подготовка на пробата

Разтварят се 10 g от продукта в 90 ml вода. Температурата на разтваряне не трябва да е по-висока от 35°C.

6.2. Определяне

6.2.1. С пипета се поставят 15 ml от буферния субстрат (т. 4.2) в чиста и суха епруветка, последвано от 2 ml от възстановената проба (т. 6.1), която ще бъде изпитвана. Епруветката се затваря със запушалка, съдържанието се хомогенизира чрез обръщане и се оставя на водна баня при 37°C (т. 5.2).

6.2.2. В същото време на водна баня се поставя контролна епруветка, съдържаща 15 ml от буферния субстрат и 2 ml от заврялата възстановена проба, подобна на изпитваната.

6.2.3. Двете епруветки се махат от водната баня след 2 h и към тях се добавя 0,5 ml цинков сулфат като утаител (т. 4.3.1). Епруветката се запушва, разклаща се енергично и се оставя в покой за 3 min. Добавят се 0,5 ml калиев фероцианат (II) утаител (т. 4.3.2), размесва се добре и се филтрира през фуния с филтърна хартия (т. 5.4). Прозрачният филтрат се събира в чиста епруветка.

6.2.4. Филтратът се прехвърля в 25 mm клетка и се сравнява с филтрата на кипналата контролна проба в уреда за сравняване, като се използва специален диск (т. 5.3).

7. Изразяване на резултатите

7.1. Изчисляване

Директното отчитане, получено в т. 6.2.4, се записва като μg р-нитрофенол/ml проба или на милилитър от възстановената проба.

7.2. Повторяемост

Не е допустимо, разликата между резултатите от два анализа, проведени едновременно или в бърза последователност на една и съща проба, от един и същ лаборант, при еднакви условия, да превишава 2 μg освободен р-нитрофенол на 1 ml възстановено мляко.