

3. melléklet a .../2010. (... ..) VM rendelethez

„32. melléklet a 152/2009. (XI. 12.) FVM rendelethez

A Magyar Élelmiszerkönyv 3-1-79/1067 számú előírása a sűrített tej és tejporfélék vizsgálatáról

A rész

1. A B részben felsorolt sűrített tej- és tejporfélék vizsgálatára a C részben leírt módszereket kell alkalmazni.
2. Ha azonos célra többféle módszer alkalmazható, ezek bármelyikével vizsgálhatunk. Az alkalmazott módszert a C rész szerint elkészített vizsgálati jegyzőkönyvben meg kell adni.

B rész

Sűrített tej és tejporfélék vizsgálati módszereinek alkalmazási területe

1. Bevezetés, általános előírások

2. Szárazanyag-tartalom meghatározás:

- cukrozatlan sűrített nagy zsírtartalmú tej (*C rész*, 1. módszer)
- cukrozatlan sűrített tej (*C rész*, 1. módszer)
- cukrozatlan sűrített félzsíros tej (*C rész*, 1. módszer)
- cukrozatlan sűrített sovány tej (*C rész*, 1. módszer)
- cukrozott sűrített tej (*C rész*, 1. módszer)
- cukrozott sűrített félzsíros tej (*C rész*, 1. módszer)
- cukrozott sűrített sovány tej (*C rész*, 1. módszer)

3. Víztartalom meghatározás:

- nagy zsírtartalmú tejpor (*C rész*, 2. módszer)
- zsíros (teljes) tejpor (*C rész*, 2. módszer)
- félzsíros tejpor (*C rész*, 2. módszer)
- sovány tejpor (*C rész*, 2. módszer)

4. Zsírtartalom meghatározás:

- cukrozatlan sűrített nagy zsírtartalmú tej (*C rész*, 3. módszer)
- cukrozatlan sűrített tej (*C rész*, 3. módszer)
- cukrozatlan sűrített félzsíros tej (*C rész*, 3. módszer.)
- cukrozatlan sűrített sovány tej (*C rész*, 3. módszer)
- cukrozott sűrített tej (*C rész*, 3. módszer)
- cukrozott sűrített félzsíros tej (*C rész*, 3. módszer)
- cukrozott sűrített sovány tej (*C rész*, 3. módszer)
- nagy zsírtartalmú tejpor (*C rész*, 4. módszer)
- zsíros (teljes) tejpor (*C rész*, 4. módszer)
- félzsíros tejpor (*C rész*, 4. módszer)
- sovány tejpor (*C rész*, 4. módszer)

5. Szacharóz meghatározás:

- cukrozott sűrített tej (*C rész*, 5. módszer)
- cukrozott sűrített félzsíros tej (*C rész*, 5. módszer)
- cukrozott sűrített sovány tej (*C rész*, 5. módszer)

6. Tejsav és laktát meghatározás:

- nagy zsírtartalmú tejpör (*C rész*, 6. módszer)
- zsíros (teljes) tejpör (*C rész*, 6. módszer)
- félzsíros tejpör (*C rész*, 6. módszer)
- sovány tejpör (*C rész*, 6. módszer)

7. Foszfát-aktivitás meghatározás:

- nagy zsírtartalmú tejpör (*C rész*, 7. vagy 8. módszer)
- zsíros (teljes) tejpör (*C rész*, 7. vagy 8. módszer)
- félzsíros tejpör (*C rész*, 7. vagy 8. módszer)
- sovány tejpör (*C rész*, 7. vagy 8. módszer)

C rész

Sűrített tej és tejpörfélék vizsgálati módszerei

Bevezetés, általános előírások

1. A minta előkészítése

1.1. Cukrozatlan sűrített nagy zsírtartalmú tej

- Cukrozatlan sűrített tej
- Cukrozatlan sűrített félzsíros tej
- Cukrozatlan sűrített sovány tej

A lezárt dobozt összerázzuk és megforgatjuk. A dobozt kinyitjuk és a tejet lassan egy másik, légmentesen zárható edénybe töltjük át, majd ismételt áttöltögetéssel összekeverjük. Gondoskodjunk arról, hogy a doboz falán és alján tapadó zsír- és tejrészecskék a mintába kerüljenek. Az edényt lezárjuk.

Ha a tartalom nem homogén, akkor az edényt 40 °C hőmérsékletű vízfürdőn melegítjük, 15 percenként erősen megrázzuk. 2 óra múlva az edényt a vízfürdőről levesszük, szobahőmérsékletre hűtjük. A fedőt levesszük és az edény tartalmát kanállal, vagy spatulával alaposan összekeverjük (amennyiben a zsír kivált, a minta nem vizsgálható). Hűtve tároljuk.

1.2. Cukrozott sűrített tej

- Cukrozott sűrített félzsíros tej
- Cukrozott sűrített sovány tej

Doboz: a lezárt dobozt vízfürdőben 30–40 °C-on kb. 30 percig melegítjük. A dobozt kinyitjuk és tartalmát kanállal vagy spatulával felfelé-, lefelé- és körkörös irányú mozzgatással jól összekeverjük a felső és alsó rétegek elegyedése végett. Gondoskodjunk arról, hogy a doboz karimáján, falán és alján tapadó tejrészecskék a mintába jussanak. A doboz tartalmát amilyen gyorsan csak lehet, légmentesen záró fedéllel ellátott másik dobozba öntjük. Az edényt lezárjuk, és hidegen tároljuk.

Tubus: alját levágjuk, és tartalmát egy légmentesen záró fedéllel ellátott edénybe nyomjuk. Aztán a tubust hosszában is felvágjuk. Belsejéből az összes anyagot kikaparjuk, és a többivel gondosan összekeverjük. Az edényt hűtve tároljuk.

1.3. Nagy zsírtartalmú tejpör

Zsíros (teljes) tejpör

Félzsíros tejpör

Sovány tejpör

A tejpört tiszta, száraz, légmentesen záródó fedővel ellátott edénybe töltjük. Az edény térfogata a por térfogatának kétszerese legyen. Az edényt azonnal lezárjuk és a tejpört az edény ismételt rázásával és forgatásával alaposan összekeverjük. A minta előkészítése során amennyire csak lehet, kerüljük el, hogy a tejpör a levegővel érintkezzen, s ez által nedvességet vegyen fel.

2. Vegyszerek

2.1. Víz

2.1.1. Minden olyan esetben, amikor oldásra, hígításra vagy mosásra vizet használunk, az mindig desztillált vagy legalább azzal azonos minőségű, ionmentesített víz legyen.

2.1.2. Minden olyan esetben, amikor „oldás” vagy „hígítás” minden további adat nélkül szerepel, mindig „vízben való oldást” vagy „vízzel való hígítást” kell értenünk.

2.2. Tisztasági követelmény

Minden alkalmazott vegyszer analitikai tisztaságú legyen, hacsak nincs más kikötés.

3. Eszközök

3.1. Készülékek és segédanyagok felsorolása

A módszereknél a felsorolás csak a speciális készülékeket és eszközöket tartalmazza.

3.2. Analitikai mérleg, amelynek pontossága legalább 0,1 mg.

4. Az eredmények kiszámítása

4.1. A beltartalom kiszámítása

Ha nincs egyéb előírás, a laboratórium által számított eredményt mindig a minta tömegszázalékában adjuk meg.

4.2. Az eredmény megadásának pontossága

Az eredményben nem szabad több tizedesjegyet megadni, mint amennyit az alkalmazott analitikai módszer pontossága megenged.

5. Vizsgálati jegyzőkönyv

A vizsgálati jegyzőkönyvben az analitikai módszereket és az eredményeket kell megadni. Kiegészítésként adjunk meg minden olyan részletet, amelyet a vizsgálati módszer nem ír elő, vagy választható és minden olyan körülményt, amely az eredményt befolyásolhatja. A vizsgálati jegyzőkönyv tartalmazza a minta azonosításához szükséges összes adatot.

1. MÓDSZER

Száranyag-tartalom meghatározás (szárítószekrényben 99 °C-on)

1. Tárgy és alkalmazási terület

Ezzel a módszerrel a következő termékek szárazanyag-tartalmát határozzuk meg:

- cukrozatlan sűrített nagy zsírtartalmú tej,
- cukrozatlan sűrített tej,
- cukrozatlan sűrített félzsíros tej,
- cukrozatlan sűrített sovány tej,
- cukrozott sűrített tej,
- cukrozott sűrített félzsíros tej,
- cukrozott sűrített sovány tej.

2. Fogalommeghatározás

A sűrített tej szárazanyaga: az ezzel a módszerrel meghatározott szárazanyag.

3. A módszer elve

A minta ismert mennyiségét vízzel hígítjuk, homokkal elkeverjük és 99 ± 1 °C-on szárítjuk. A szárítás utáni tömeg a szárazanyag. A szárazanyagot a minta tömegszázalékában adjuk meg.

4. Vegyszerek és segédanyagok

Kvarchomok vagy tengeri homok, sósavval kezelt (szemcsemérete: 0,18–0,5 mm, ez azt jelenti, hogy 500 mikronos szitaszöveten átesik, de 180 mikronos szitán fennmarad). Végezzük el a következő vizsgálatot:

Körülbelül 25 g homokot 2 órán keresztül szárítószekrényben (5.3.) a 6.1. és 6.3. pontokban leírtak szerint szárítsunk. Adjunk hozzá 5 ml vizet és szárítószekrényben 2 órán keresztül ismét szárítsuk, majd hűtsük le és még egyszer mérjük le. A két tömeg közötti különbség 0,5 mg-nál nem lehet több.

Ha szükséges, a homokot sósavoldattal (25%) 3 napig kezeljük, időnként megkeverjük. Vízzel mossuk sav-, illetve kloridmentesre. 160 °C-on szárítsuk, és a fentiek szerint újra vizsgáljuk meg.

5. Eszközök

5.1. Analitikai mérleg

5.2. Bemérőedény fémből, nikkelből, alumíniumból, rozsdamentes acélból, vagy üvegből. A bemérőedénynek jól záró, de gyorsan levehető fedele legyen.

Megfelelő méretek: átmérő 60–80 mm, mélység kb. 25 mm.

5.3. Szárítószekrény, atmoszférikus nyomású, jól szellőző, $99 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ -ra beállítható. A hőmérséklet az egész szekrényben azonos legyen.

5.4. Exszikkátor, nedvességindikátort tartalmazó, frissen aktivált szilikagéllal vagy azonos hatékonyságú szárító közeggel.

5.5. Üvegbot, az egyik végén lapos és olyan hosszú, hogy a bemérőedénybe (5.2.) beleférjen.

5.6. Vízfürdő, forrásban tartható.

6. A vizsgálat menete

6.1. Körülbelül 25 g homokot (4) és egy rövid üvegbotot (5.5) a bemérőedénybe (5.2.) viszünk.

6.2. Az edényt (levett fedővel), a fedőt és a bemért homokot 2 órán keresztül szárítószekrényben (5.3.) szárítjuk.

- 6.3. A fedőt újra rátesszük, és a bemérőedényt az exsziátorba helyezzük. Szobahőmérsékletre hűtjük és 0,1 mg pontossággal mérjük (M_0)
- 6.4. A homokot az edény egyik oldalára döntjük. A szabad térbe a cukrozott sűrített tejből kb. 1,5 g-ot, a cukrozatlan sűrített tejből 3,0 g-ot adagolunk. A fedőt rátesszük, és 0,1 mg pontossággal lemérjük. (M_1).
- 6.5. A fedőt levesszük, 5 ml vizet adunk hozzá és az üvegbot (5.5) segítségével keverjük össze előbb a folyadékokat, majd a homokot és a folyékony részt. A botot a keverékben hagyjuk.
- 6.6. A bemérőedényt forrásban lévő vízfürdőn (5.6.) tartjuk, amíg a víz el nem párolog. Ez általában 20 percig tart. A keveréket időnként üvegbottal megkeverjük, hogy az anyagot jól átszellőztessük, és hogy a szárítás alatt pogácsává ne álljon össze. Az üvegbotot a bemérőedényben hagyjuk.
- 6.7. Az edényt és a fedőt 1 óra 30 percre szárítószekrénybe helyezzük.
- 6.8. A fedőt újra rátesszük, és az edényt exsziátorba (5.4.) helyezzük, szobahőmérsékletre hűtjük, majd 0,1 mg pontossággal lemérjük.
- 6.9. Az edényt kinyitjuk és fedelével együtt 1 órán át szárítószekrényben szárítjuk.
- 6.10. A munkafolyamatot a 6.8. pontban leírtak szerint ismétljük.
- 6.11. A 6.9 és 6.10. pontban leírt munkafolyamatot addig ismétljük, amíg két egymásutáni mérés közötti tömegkülönbség 0,5 mg-nál kisebb, vagy a tömeg nőni nem kezd. Tömegnövekedés esetén a számolásnál (7.) a legalacsonyabb tömegértéket vesszük figyelembe. A végleges tömeget M_2 -vel jelöljük.

7. Az eredmények kiszámítása

A minta tömegszázalékában megadott szárazanyag-tartalmát a következő képlettel számítjuk ki:

$$\frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \cdot 100$$

ahol:

M_0 = a bemérőedény, az üvegbot, a fedő és a homok együttes tömege g-ban a 6.3. művelet után,

M_1 = a bemérőedény, az üvegbot, a fedő, a homok és a minta tömege g-ban a 6.4. művelet után,

M_2 = a bemérőedény, az üvegbot, a fedő, a homok és a kiszárított minta tömege g-ban a 6.11. művelet után.

- 7.1. A cukrozott sűrített tej tejszárazanyagát megkapjuk, ha az összes szárazanyagból (*C rész*, 1. módszer) levonjuk a szacharózt (*C rész*, 5. módszer).
- 7.2. A cukrozott sűrített tej zsírmentes tejszárazanyagát a következőképpen kapjuk meg: az összes szárazanyagtartalomból (*C rész*, 1. módszer) levonjuk a szacharóztartalmat (*C rész*, 5. módszer) és a zsírtartalmat (*C rész*, 3. módszer)
- 7.3. A cukrozatlan sűrített tej zsírmentes tejszárazanyagát a következőképpen kapjuk meg: az összes szárazanyagból (*C rész*, 1. módszer) levonjuk a zsírtartalmat (*C rész*, 3. módszer).

8. Ismételhetség

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 0,2 g szárazanyag/100 g termék lehet.

2. MÓDSZER

Víztartalom meghatározás (szárítószekrényben 102 °C-on)

1. Tárgy és alkalmazási terület

Ezzel a módszerrel határozzuk meg a következő termékek víztartalmát:

- nagy zsírtartalmú tejpör,
- zsíros (teljes) tejpör,
- félzsíros tejpör,
- sovány tejpör.

2. Fogalommeghatározás

Víztartalom: ezzel a módszerrel meghatározott, a szárítás során bekövetkezett tömegveszteség.

3. A módszer elve

Szárítószekrényben 102 ± 1 °C-on, atmoszférikus nyomáson, tömegállandóságig szárított minta tömegét határozzuk meg. A tömegveszteséget a minta tömegszázalékában számítjuk.

4. Eszközök

4.1. Analitikai mérleg

4.2. Bemérőedény nikkeltől, alumíniumból, rozsdamentes acéltől vagy üvegtől. Az edénynek jól záró, de gyorsan levehető fedele legyen. Megfelelő méretek: átmérő: 60–80 mm, mélység: kb. 25 mm.

4.3. Szárítószekrény, atmoszférikus nyomású, jól szellőző, 102 ± 1 °C-ra beállítható. A hőmérséklet az egész szekrényben azonos legyen.

4.4. Exszikkátor, nedvességindikátort tartalmazó, frissen aktivált szilikagéllal vagy azzal azonos hatékonyságú szárítóanyaggal.

5. A vizsgálat menete

5.1. A bemérőedényt (4.2.) levett fedővel körülbelül 1 órára szárítószekrénybe (4.3.) tesszük.

5.2. Az edényre a fedelet rátesszük, és exszikkátorba (4.4.) helyezzük, szobahőmérsékletre hűtjük, és 0,1 mg pontossággal megmérjük. (M_0)

5.3. Körülbelül 2 g tejpormintát az edénybe teszünk, az edényt a fedelével lefedjük, és 0,1 mg pontossággal gyorsan lemérjük (M_1)

5.4. Az edényt levett fedővel 2 órára szárítószekrénybe helyezzük.

5.5. Az edényt lefedjük, exszikkátorba helyezzük, és szobahőmérsékletre hűtjük. Lehülés után 0,1 mg pontossággal gyorsan lemérjük. (M_2)

5.6. Az edényt levett fedővel 1 órán át szárítószekrényben szárítjuk.

5.7. Az 5.5. pont alatt leírt műveletet megismételjük.

5.8. Az 5.6. és 5.7. szerinti műveleteket addig ismételjük, amíg a két egymás utáni mérés tömege közötti különbség 0,5 mg-nál kisebb, vagy a tömeg nőni nem kezd. Ha tömegnövekedés lép fel, a számolásnál a legkisebb tömegértéket vesszük figyelembe (6.). A végleges tömeget M_2 -vel jelöljük.

6. Az eredmények kiszámítása

A minta tömegveszteségét tömegszázalékban kifejezve a következő képlettel számítjuk ki:

$$\frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \cdot 100$$

ahol:

M_0 = a bemérőedény és a fedél tömege g-ban az 5.2. művelet után,
 M_1 = a bemérőedény, a fedél, a minta tömege g-ban az 5.3. művelet után,
 M_2 = a bemérőedény, a fedél és a kiszáritott minta tömege g-ban az 5.5. művelet után.

7. *Ismételhetőség*

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 0,1 g víz/100 g termék lehet.

3. MÓDSZER

Zsirtartalom meghatározás sűrített tejből (Röse-Gottlieb-módszer)

1. *Tárgy és alkalmazási terület*

E módszerrel határozzuk meg a zsirtartalmat a következő termékekben:

- cukrozatlan sűrített nagy zsirtartalmú tej,
- cukrozatlan sűrített tej,
- cukrozatlan sűrített félzsíros tej,
- cukrozatlan sűrített sovány tej,
- cukrozott sűrített tej,
- cukrozott sűrített félzsíros tej,
- cukrozott sűrített sovány tej.

2. *Fogalommeghatározás*

A sűrített tej zsirtartalma: a megadott módszerrel meghatározott zsirtartalom.

3. *A módszer elve*

A zsirtartalmat Röse–Gottlieb-módszerrel határozzuk meg. A minta ammóniás-alkoholos oldatából a zsírokat dietil-éterrel vagy petroléterrel extraháljuk, majd az oldatot bepároljuk, a maradékot mérjük, és a zsirtartalmat a minta tömegszázalékában fejezzük ki.

4. *Vegyszerek*

Minden reagensnek meg kell felelnie a vakpróbára vonatkozó részben (6.1.) megadott feltételeknek.

Ha szükséges, a reagenseket 1 g vajzsír/100 ml oldószer jelenlétében újra desztilláljuk.

- 4.1. Ammónia-oldat, kb. 25% (m/m) NH_3 tartalommal, sűrűsége 20 °C-on kb. 0,91 g/ml (vagy ismert koncentrációjú, töményebb oldat.)
- 4.2. Etanol, 96 ± 2%-os (v/v) vagy metanollal, metil-etil-ketonnal, illetve petroléterrel denaturált etanol.
- 4.3. Dietiléter, peroxidmentes.

1. megjegyzés:

A peroxid vizsgálatához 10 ml dietil-étert öntünk üveg dugóval lezárható, kis mérőhengerbe, amelyet előzetesen kevés éterral átöblítettünk. Hozzáadunk 1 ml frissen készített 10%-os kálium-jodid oldatot, összerázzuk és 1 percig állni hagyjuk. Egyik fázisban sem lehet sárga elszíneződés.

2. megjegyzés:

A dietil-éter peroxidmentesen eltartható, ha olyan nedves cinkfóliát adunk hozzá, amelyet előzőleg 1 percre híg, savas réz-szulfátoldatba merítettünk, majd vízzel leöblítettünk. 1 liter dietil-éterhez kb. 8000 mm² felületű, hosszú csíkokra felvágott cinkfóliát használunk. A csíkok legalább az edény feléig érjenek

- 4.4. Petroléter, 30-60 °C közötti forrponú
- 4.5. Oldószer elegy, közvetlenül a felhasználás előtt azonos térfogatú dietil-éterből (4.3.) és petroléterből készítjük (4.4). Az oldószeranyag dietil-éterrel vagy petroléterrel helyettesíthető.

5. Eszközök

- 5.1. Analitikai mérleg
- 5.2. Megfelelő extrahálócső vagy- lombik, becsiszolt üveg dugóval vagy egyéb, az alkalmazott oldószernek megfelelő zárással.
- 5.3. Vékonyfalú állólombikok, 150-250 ml névleges térfogatúak.
- 5.4. Szárítószekrény atmoszférikus nyomású, jól szellőző, hőmérséklete 102 ± 1 °C-ra beállítható.
- 5.5. Forrást segítő anyag, zsírmentes, nem porózus, használat közben nem törékeny, például üvegyöngy vagy szilícium-karbid darabkák. (lásd 6.2.1. pont).
- 5.6. Pipetta, az extraháló csőhöz megfelelő.
- 5.7. Centrifuga

6. A vizsgálat menete

6.1. Vakpróba

A minta zsirtartalmának meghatározásával egyidőben vakpróbát végzünk 10 ml desztillált vízzel, azonos extraháló készülékben, a reagens azonos arányával és azonos módon a következőkben leírtak szerint, a 6.2.2. alatt leírtak kivételével. Ha a vakpróbára 0,5 mg-nál nagyobb értéket kaptunk, a reagenset meg kell vizsgálni, tiszta reagenssel kell helyettesíteni vagy meg kell tisztítani.

6.2. Vizsgálat

- 6.2.1. A lombikot (5.3.) az oldószer elpárologtatása során a forrást megkönnyítő anyaggal együtt (5.5), szárítószekrénybe (5.4.) tesszük, és fél-egy óra hosszat szárítjuk. A lombikot a mérlegszoba hőmérsékletére hűtjük és 0,1 mg pontossággal mérjük.
- 6.2.2. Az előkészített mintát megkeverjük, és a cukrozott sűrített tej mintákból 2-2,5 g-ot, a cukrozatlan sűrített tej mintákból 4-5 g-ot közvetlen beméréssel, vagy visszaméréssel 0,1 mg pontossággal az extraháló edénybe mérünk. 10,5 ml térfogatig vízzel feltöltjük, és enyhe melegítés (40–50 °C) közben az anyagok teljes elkeveredése céljából óvatosan összerázzuk. A minta teljesen elosztható legyen, különben a meghatározást meg kell ismételni.
- 6.2.3. 1,5 ml ammónia-oldatot (4.1.) vagy töményebb oldat egyenértékű térfogatát adunk hozzá és jól összekeverjük.
- 6.2.4. 10 ml etanolt (4.2.) adunk hozzá és a folyadékokat a nyitott lombikban lassan, tökéletesen összekeverjük.
- 6.2.5. 25 ml dietil-étert adunk hozzá (4.3.) és folyó vízzel lehűtjük. Az edényt lezárjuk, 1 percig erősen rázzuk és közben többször megfordítjuk.
- 6.2.6. A dugót óvatosan kivesszük, és 25 ml petrolétert (4.4.) adunk hozzá úgy, hogy a petroléter első néhány milliliterével leöblítjük a dugót és az edény nyakának belső falát. Az öblítőfolyadékot az edénybe engedjük. Az edényt a dugóval újra lezárjuk, 30 másodpercig rázzuk és forgatjuk. Ha a 6.2.7. pontban leírt műveletben nem centrifugálunk, nem szabad túl erősen rázni.
- 6.2.7. A vizsgálati anyagot a felső folyadékfázis kitisztulásáig, és a vizes fázistól való teljes elválásáig állni hagyjuk. A fázisok szétválasztása megfelelő centrifugával (5.7.) is elvégezhető.

Megjegyzés:

Az a centrifuga, amelyik nem háromfázisú motorral működik, szikrát kelthet. Ezért különösen ügyelni kell arra, hogy robbanás vagy tűz ne keletkezzék az étergőzők jelenléte miatt (például a lombik törése esetén).

- 6.2.8. A dugót kivesszük, néhány ml oldószer eleggyel a dugót és a lombik nyakának belső falát leöblítjük, az öblítőfolyadékot az extraháló edénybe engedjük. A felső réteget dekantálással vagy pipettával gondosan és lehetőleg teljes mennyiségében a lombikba visszük át (6.2.1.).

Megjegyzés:

Ha a leszivást nem pipettával végezzük, szükség lehet arra, hogy valamennyi vizet hozzáadva a két folyadék közötti fázishatárt a dekantálás megkönnyítésére megemeljük.

- 6.2.9. Az extraháló edény nyakának külső és belső falát vagy a pipetta csúcsát és alsó részét néhány ml oldószer eleggyel leöblítjük. Az edény külső oldaláról az öblítőfolyadékot a lombikba, a pipetta és a belső fal öblítőfolyadékát pedig az extraháló edénybe folytatjuk.

- 6.2.10. A 6.2.5.–6.2.9. műveletek megismétlésével 15 ml dietil-éter és 15 ml petroléter felhasználásával második extrakciót végzünk.

- 6.2.11. Harmadik extrakciót végzünk a 6.2.10. szerint, azonban az utolsó öblítést (6.2.9.) elhagyjuk.

Megjegyzés:

A cukrozatlan és cukrozott sűrített sovány tej esetében a harmadik extrakció nem szükséges.

- 6.2.12. Az oldószert (beleértve az etanolt is) gondos elpárologtatással vagy desztillálással eltávolítjuk. Ha a lombik irtartalma kicsi, akkor minden extrakció után a fent leírt módon a kis mennyiségű oldószert eltávolítjuk.

- 6.2.13. Ha már nem érzünk oldószerszagot, a lombikokat fektetve 1 órára a szárítószekrénybe helyezzük és szárítjuk.

- 6.2.14. A lombikot a mérlegszoba hőmérsékletére hűtjük és 0,1 mg pontossággal mérjük.

- 6.2.15. A 6.2.13. és a 6.2.14. műveleteket addig ismételjük, míg a két egymás utáni mérés különbsége 0,5 mg-nál kisebb lesz, vagy a tömeg növekszik. Tömegnövekedés esetén a számolásnál (7.) a legkisebb értéket vesszük figyelembe. A végső tömeget M_1 -el jelöljük.

- 6.2.16. Ezután 15–25 ml petrolétert adunk hozzá annak vizsgálatára, hogy az extrahált anyag teljesen oldható-e. Az oldószert enyhén melegítjük és rázogatójuk, amíg a zsír egészen fel nem oldódik.

- 6.2.16.1. Ha az extrahált anyag petroléterben teljesen oldható, a 6.2.1. és a 6.2.15. mérések közti különbség a zsír tömege.

- 6.2.16.2. Kétség esetén vagy ha oldhatatlan anyagok vannak jelen, a lombikban lévő zsírt meleg petroléteres mosással ismét extraháljuk, és az oldhatatlan részt minden dekantálás előtt ülepitjük. A lombik nyakának külső oldalát háromszor leöblítjük. A lombikot 1 órán keresztül fekvő helyzetben szárítószekrényben szárítjuk a 6.2.1. szerint, a mérlegszoba hőmérsékletére hűtjük, majd 0,1 mg pontossággal mérjük.

A zsír mennyisége a 6.2.15. szerinti mennyiségnek és ennek a tényleges végső mennyiségnek a különbsége.

7. Az eredmények kiszámítása

Az extrahált zsír grammban kifejezett tömegét a következő képlettel számítjuk ki:

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

A minta zsírtartalma %-ban:

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

ahol:

M_1 = a lombik tömege zsírral együtt g-ban a 6.2.15. művelet után,

M_2 = a lombik tömege g-ban a 6.2.1. művelet után, illetve oldhatatlan anyag jelenléte vagy annak gyanúja esetében a 6.2.16.2. művelet után,

B_1 = a vakpróba lombikjának tömege g-ban a 6.2.15. művelet után,

B_2 = a vakpróba lombikjának tömege g-ban a 6.2.1. művelet után, illetve oldhatatlan anyag jelenléte vagy annak gyanúja esetén a 6.2.16.2. művelet után,

S = a bemért minta mennyisége g-ban.

8. Ismételtetés

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 0,05 g zsír/100 g termék lehet.

4. MÓDSZER

Zsírtartalom meghatározás tejporból (Röse-Gottlieb-módszer)

1. Tárgy és alkalmazási terület

Ezzel a módszerrel határozzuk meg a zsírtartalmat a következő termékekből:

- nagy zsírtartalmú tejpör,
- zsíros (teljes) tejpör,
- félzsíros tejpör,
- sovány tejpör.

2. Fogalommeghatározás

A tejpör zsírtartalma: a megadott módszerrel meghatározott zsírtartalom.

3. A módszer elve

A meghatározást a Röse–Gottlieb-módszer szerint végezzük. A tejpör ammóniás-alkoholos oldatából a zsírt dietil-éterrel és petroléterrel extraháljuk, majd az oldószert elpárologtatjuk, a maradékot mérjük, és a minta tömegszázalékában fejezzük ki.

4. Vegyszerek

Minden reagensnek meg kell felelnie a vakpróbára vonatkozó részben (6.1.) megadott követelményeknek.

Ha szükséges, a reagenseket 1 g vajzsír/100 ml oldószert jelenlétében újra desztilláljuk.

4.1. Ammónia-oldat, kb. 25%-os (m/m) NH_3 tartalommal sűrűsége 20 °C-on kb. 0,91 g/ml (vagy ismert koncentrációjú töményebb oldat).

4.2. Etanol, 96 ± 2%-os (v/v) vagy metanollal, metil-etil-ketonnal, illetve petroléterrel denaturált etanol.

4.3. Dietil-éter, peroxidmentes

1. megjegyzés:

A peroxid vizsgálatához 10 ml dietil-étert öntünk üveg dugóval lezárható kis mérőhengerbe, amelyet előzetesen kevés étérrel öblítettük. Hozzáadunk 1 ml frissen

készített 10%-os kálium-jodid-oldatot, összerázzuk és 1 percig állni hagyjuk. Egyik fázisban sem lehet sárga elszíneződés.

2. megjegyzés.

A dietil-éter peroxidmentesen eltartható, ha olyan nedves cinkfóliát adunk hozzá, amelyet előzőleg 1 percre savas réz-szulfát-oldatba merítettük, majd vízzel leöblítettük.

Egy liter dietil-éterhez kb. 8000 mm² felületű, csíkokra felvágott cinkfóliát használjunk.

A csíkok legalább az edény feléig érjenek.

4.4. Petroléter, 30–60 °C közötti forrponú

4.5. Oldószer elegy, melyet közvetlenül a felhasználás előtt azonos térfogatú dietil-éterből (4.3.) és petroléterből (4.4.) készítünk. Az oldószerelegy dietil-éterrel vagy petroléterrel helyettesíthető.

5. Eszközök

5.1. Analitikai mérleg

5.2. Megfelelő extrahálócső vagy lombik becsiszolt üveg dugóval vagy egyéb, az alkalmazott oldószernek megfelelő zárással.

5.3. Vékonyfalú állólombik, 150–250 ml névleges térfogatú.

5.4. Szárítószekrény, atmoszférikus nyomású, jól szellőző, 102 ± 1 °C-ra beállítható.

5.5. Forrást segítő anyag, zsírmentes, nem porózus, használat közben nem törékeny, például üvegyöngy vagy szilícium-karbid darabkák (lásd a 6.2.1. pont).

5.6. Vízfürdő, 60–70 °C-ra beállítható.

5.7. Pipetta, az extraháló csőhöz megfelelő.

5.8. Centrifuga.

6. A vizsgálat menete

6.1. Vakpróba

A minta zsirtartalmának meghatározásával egyidőben vakpróbát végzünk 10 ml desztillált vízzel, azonos extraháló edényben, a reagensek azonos arányával és azonos módon, a következőkben leírtak szerint, a 6.2.2. alatt leírtak kivételével. Ha a vakpróba 0,5 mg-nál nagyobb értéket kapunk, a reagenseket meg kell vizsgálni, tiszta reagensekkel kell helyettesíteni vagy meg kell tisztítani.

6.2. Vizsgálat

6.2.1. A lombikot (5.3.) az oldószer elpárologtatása során a forrást megkönnyítő anyaggal együtt szárítószekrénybe (5.4.) tesszük és fél-egy óra hosszat szárítjuk. A lombikot a mérlegszoba hőmérsékletére hűtjük, és 0,1 mg pontossággal mérjük.

6.2.2. Kb.1 g zsíros (teljes) tejpont, vagy kb.1,5 g félzsíros tejpont, illetve sovány tejpont közvetlen beméréssel vagy visszaméréssel 0,1 mg pontossággal az extraháló edénybe (5.2.) mérünk. 10 ml vizet adunk hozzá és a tejpont teljes feloldásáig rázogatójuk (egy mintánál melegítésre is szükség lehet).

6.2.3. 1,5 ml ammónia-oldatot (4.1.) vagy töményebb oldat ezzel egyenértékű térfogatát adjuk hozzá, vízfürdőn (5.6.) időnként összerázza 15 percig 60–70 °C-on melegítjük, majd folyóvízzel lehűtjük.

6.2.4. 10 ml etanolt (4.2.) adunk hozzá és a folyadékokat a nyitott extraháló edényben óvatosan összekeverjük.

6.2.5. 25 ml dietil-étert (4.3.) adunk hozzá és folyó vízzel lehűtjük. A készüléket lezárjuk, 1 percen keresztül erősen rázzuk, és közben többször megfordítjuk.

6.2.6. A dugót óvatosan kivesszük és 25 ml petrolétert (4.4.) adunk hozzá úgy, hogy néhány ml-ével leöblítjük a dugót és az extraháló edény nyakának belső falát az öblítőfolyadékot az extraháló edénybe folytatjuk. Az edényt a dugóval újra lezárjuk, 30 másodpercig rázzuk,

- és időnként megfordítjuk. Ha a 6.2.7. pontban leírt műveletben nem centrifugálunk, nem szabad túl erősen rázni.
- 6.2.7. A vizsgálati anyagot állni hagyjuk, a felső folyadék fázis kitisztulásáig és a vizes fázistól való teljes elválásáig. A fázisok elválasztását megfelelő centrifugával (5.8.) is elvégezhetjük.
- Megjegyzés:*
Az a centrifuga, amely nem háromfázisú motorral működik, szikrát kelthet. Ezért különösen ügyelni kell arra, hogy robbanás vagy tűz ne keletkezzék az étergőzők jelenléte miatt (például a lombik eltörése esetén).
- 6.2.8. A dugót kivesszük, néhány ml oldószer eleggyel (4.5.) a dugót és a lombik nyakának belső oldalát leöblítjük, az öblítőfolyadékot az extraháló edénybe folytatjuk. A felső réteget dekantálással vagy pipettával (5.7.) gondosan és lehetőleg teljes mennyiségében a lombikba vesszük át (6.2.1.).
- Megjegyzés:*
Ha a leszivatást nem pipettával végezzük, szükség lehet arra, hogy valamennyi vizet hozzáadva a két folyadék közti fázishatárt, a dekantálás megkönnyítésére, megemeljük.
- 6.2.9. Az extraháló edény nyakának külső és belső falát, vagy a pipetta csúcsát és alsó részét néhány ml oldószer eleggyel leöblítjük. Az extraháló edény külső oldaláról az öblítőfolyadékot a lombikba, a pipetta és a belső fal öblítőfolyadékát pedig az extraháló edénybe folytatjuk.
- 6.2.10. A 6.2.5.– 6.2.9. műveletek megismétlésével 15 ml dietil-éter és 15 ml petroléter felhasználásával második extrakciót végzünk.
- 6.2.11. Harmadik extrakciót végzünk a 6.2.10. szerint, azonban az utolsó öblítést (6.2.9.) elhagyjuk.
- Megjegyzés:*
Sovány tejpor esetében harmadik extrakció nem szükséges.
- 6.2.12. Az oldószert (beleértve az etanolt is) gondos elpárologtatással vagy desztillációval eltávolítjuk. Ha a lombik ürtartalma kicsi, akkor minden extrakció után a fent leírt módon a kis mennyiségű oldószert eltávolítjuk.
- 6.2.13. Ha már nem érzünk oldószerszagot, a lombikot fektetve 1 órára a szárítószekrénybe helyezük és szárítjuk.
- 6.2.14. A lombikot a mérlegszoba hőmérsékletére hűtjük és 0,1 mg pontossággal mérjük.
- 6.2.15. A 6.2.13. és a 6.2.14. műveleteket addig ismételjük, míg a két egymás utáni mérés különbsége 0,5 mg-nál kisebb lesz, vagy a tömeg növekszik. Tömegnövekedés esetén a számolásnál (7.) a legkisebb értéket vegyük figyelembe. A végső tömeget M_1 -el jelöljük.
- 6.2.16. Ezután 15–25 ml petrolétert adunk hozzá annak vizsgálatára, hogy az extrahált anyag teljesen oldható-e. Az oldószert enyhén melegítjük és rázogatjuk, amíg az egész zsír fel nem oldódik.
- 6.2.16.1. Ha az extrahált anyag petroléterben teljesen oldható, a 6.2.1. és 6.2.15. mérések közti különbség a zsír tömege.
- 6.2.16.2. Kétség esetén vagy ha oldhatatlan anyagok vannak jelen, a lombikban lévő zsírt meleg petroléteres mosással ismét extraháljuk, és az oldhatatlan részt minden dekantálás előtt ülepítjük. A lombik nyakának külső oldalát háromszor leöblítjük. A lombikot 1 órán keresztül fekvő helyzetben szárítószekrényben szárítjuk, 6.2.1. szerint a mérlegszoba hőmérsékletére hűtjük, majd 0,1 mg pontossággal mérjük. A zsír mennyisége a 6.2.15. szerinti mennyiség és ennek a tényleges végső mennyiségnek a különbsége.

7. Az eredmények kiszámítása

Az extrahált zsír grammban kifejezett tömegét a következő képlettel számítjuk ki:

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

A minta zsírtartalma %-ban:

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

ahol:

M_1 = a lombik tömege zsírral együtt g-ban a 6.2.15 művelet után,

M_2 = a lombik tömege g-ban a 6.2.1. művelet után, illetve oldhatatlan anyag jelenléte, vagy annak gyanúja esetében a 6.2.16.2. művelet után,

B_1 = a vakpróba lombikjának tömege g-ban a 6.2.15. művelet után,

B_2 = a vakpróba lombikjának tömege g-ban a 6.2.1. művelet után, illetve oldhatatlan anyag jelenléte, vagy annak gyanúja esetén a 6.2.16.2. művelet után,

S = a bemért minta mennyisége g-ban.

8. *Ismételhetőség*

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 0,2 g zsír/100 g termék, sovány tejpör esetében 0,1 g zsír/100 g termék lehet.

5. MÓDSZER

Szacharóz-tartalom meghatározás (polarimetriás módszer)

1. *Tárgy és alkalmazási terület*

Ezzel a módszerrel határozzuk meg a szacharóztartalmat a következő termékekből:

- cukrozott sűrített tej,
- cukrozott sűrített félzsíros tej,
- cukrozott sűrített sovány tej,

A minta nem tartalmazhat invertcukrot.

2. *Fogalommeghatározás*

A cukrozott sűrített tej szacharóztartalma: az ezzel a módszerrel meghatározott szacharóztartalom.

3. *A módszer elve*

A módszer a Clerget-inverzió elvén alapszik: gyengén savas kezelés hatására a szacharóz teljesen hidrolizál, míg a laktóz vagy más cukrok nem változnak. A szacharóztartalmat az oldat forgatóképességének változásából állapítjuk meg.

A minta tiszta szűrletét a laktóz okozta mutarotáció nélkül úgy állítjuk elő, hogy az oldatot ammóniával kezeljük, majd semlegesítjük, és cink-acetát, illetve kálium-hexaciano-ferrát/II/-oldat egymás után történő hozzáadásával csapadékot képzünk.

A szűrlet egy részében a szacharózt megfelelő eljárással hidrolizáljuk.

A szűrlet inverzió előtti és utáni forgatóképességéből számítjuk ki a szacharóztartalmat a megfelelő képlet alapján.

4. *Vegyszerek*

- 4.1. Cink-acetát oldat, 1 mólos: 21,9 g kristályos cink-acetátot ($\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) és 3 ml jégecetet vízzel 100 ml-re feltöltünk.
- 4.2. Kálium-hexaciano-ferrát/II/ oldat 0,25 mólos : 10,6 g kristályos kálium-hexaciano-ferrát/II/-ot ($\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) vízzel 100 ml-re feltöltünk.
- 4.3. Sósav-oldat, $6,35 \pm 0,20$ mólos (20–22 %), vagy $5,0 \pm 0,2$ mólos (16–18%)
- 4.4. Ammónia-oldat, $2,0 \pm 0,2$ mólos, kb. 3,5% (m/m)
- 4.5. Ecetsav-oldat, $2,0 \pm 0,2$ mólos, 12% (m/m)
- 4.6. Brómtimolkék-indikátor 1%-os (m/v) etanolos oldata.

5. Eszközök

- 5.1. Mérleg, 10 mg-os pontosságú,
- 5.2. Polariméter-cső, 2 dm-es, pontosan kalibrált hosszúságú,
- 5.3. Polariméter vagy szachariméter:
 - a) polariméter nátriumfényvel vagy zöld higanyfényvel (higanygőzlámpa prizmával vagy speciális Wrattenszűrővel Nr. 77A), legalább 0,05 szögfok leolvasási pontossággal,
 - b) Szachariméter nemzetközi cukorskálával, 6%-os kálium-bikromát oldat 15 mm vastag szűrőjén átvezetett fehér fényvel vagy nátriumfényvel. A nemzetközi cukorskálán a leolvasási pontosság legalább 0,1 fok legyen.
- 5.4. Vízfürdő, 60 ± 1 °C-ra beállítható.

6. A vizsgálat menete

6.1. Ellenőrző vizsgálat

A módszer, a reagensek és a készülékek ellenőrzésére a következő módszerrel kettős ellenőrző vizsgálatot végzünk 100 g tej, vagy 110 g sovány tej és 18,00 g tiszta szacharóz felhasználásával. Ez a keverék 40,00 g 45% szacharóztartalmú sűrített tejnek felel meg. A cukortartalmat a 7. pontban megadott képlettel számítjuk ki, ahol az 1. képletben szereplő M, F, és P a bemért tejmenyiséget, a tej zsír- és fehérjetartalmát jelenti, a 2. képletben szereplő M helyére 40,00 számot kell beírni. A megállapított értékek középértéke a tényleges 45%-tól legfeljebb 0,2 %-al térhet el.

6.2. Meghatározás

- 6.2.1. A jól összekevert mintából kb. 40 g-ot 10 mg pontossággal 100 ml térfogatú főzőpohárba mérünk. 50 ml forróvizet (80–90 °C) adunk hozzá és alaposan összekeverjük.
- 6.2.2. A keveréket 200 ml-es mérőlombikba maradéktalanul áttöltjük és a főzőpoharat kismennyiségű desztillált vízzel többször átöblítjük. A desztillált víz hőmérséklete 60 °C, összes térfogata 120–150 ml legyen. Összekeverjük, és szobahőfokra hűtjük.
- 6.2.3. 5 ml hígított ammónia-oldatot (4.4) adunk hozzá, újra összekeverjük és 15 percig állni hagyjuk.
- 6.2.4. Az ammóniát ekvivalens mennyiségű ecetsav-oldat (4.5.) hozzáadásával semlegesítjük. Előzetesen a pontos mennyiséget az ammónia-oldat brómtimolkék indikátor (4.6.) jelenlétében történő titrálásával állapítjuk meg. Összekeverjük az oldatot.
- 6.2.5. 12,5 ml cink-acetát oldatot (4.1.) adunk hozzá, miközben a megdöntött lombikot körkörösén forgatjuk.
- 6.2.6. Az acetát-oldat adagolásával azonos módon 12,5 ml kálium-hexaciano-ferrát (4.2.) oldatot adunk hozzá.
- 6.2.7. A lombik tartalmát 20 °C-ra beállítjuk és 20 °C-os vízzel a 200 ml-es jelig töltjük.

Megjegyzés:

Eddig a műveletig a víz vagy a reagensek adagolását úgy kell végezni, hogy a légbuborékok képződését elkerüljük. Ugyanebből a célból minden keverést a lombik

óvatos körkörös forgatásával és nem rázogatóssal kell végezni. A 200 ml végtérfogatra való feltöltést megelőzően keletkezett légbuborékokat a lombikra kapcsolt vákuumszivattyúval és a lombik körkörös mozgatásával távolítjuk el.

- 6.2.8. A lombikot száraz dugóval lezárjuk, és erős rázással alaposan összekeverjük.
6.2.9. Néhány percig állni hagyjuk, majd száraz szűrőpapíron átszűrjük, a szűrlet első 25 ml-ét kiöntjük.
6.2.10. Közvetlen polarizáció: meghatározzuk a szűrlet optikai forgatóképességét 20 ± 1 °C-on.
6.2.11. Inverzió: az előbbieket szerint nyert szűrletből 40 ml-t 50 ml-es mérőlombikba pipetázunk. 6,0 ml 6,35 mólos vagy 7,5 ml 5,0 mólos sósavat (4.3.) adunk hozzá.

A lombikot 15 percre 60 °C-os vízfürdőbe állítjuk úgy, hogy a lombik a nyakáig belemerüljön. Az első 5 percben körkörös mozgatóssal keverjük, ezalatt a lombik tartalmának el kell érnie a vízfürdő hőmérsékletét. 20 °C-ra lehűtjük és 20 °C-os vízzel a 50 ml-es jelig feltöltjük. Összekeverjük és ezen a hőmérsékleten 1 órán keresztül állni hagyjuk.

- 6.2.12. Inverzió utáni polarizáció
Az invertált oldat forgatóképességét $20 \pm 0,2$ °C-on mérjük. (Ha a polarizálócsőben a folyadék hőmérséklete több mint 0,2 °C-kal eltér a 20 °C-tól, akkor a 7.2. pontban megadott hőmérsékletkorrekciót kell alkalmazni.)

7. Az eredmények kiszámítása

7.1. Számítás

A szacharóztartalom kiszámítását a következő képletek szerint végezzük:

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

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

ahol:

S = szacharóztartalom,

M = a bemért minta tömege g-ban,

F = a minta zsírtartalma %-ban,

P = a minta fehérjetartalma ($N \times 6,38$) %-ban,

V = az a térfogat ml-ben, amire a mintát a szűrés előtt felhígítjuk,

v = a szűréskor képződött csapadék térfogat korrekciója ml-ben,

D = a közvetlen polarizációs érték (az inverzió előtti polarizáció),

I = az inverzió utáni polarizációs érték,

L = a polarimétercső hossza dm-ben,

Q = inverziós faktor, amelynek az értéke a következőkben térünk ki.

Megjegyzések:

- a) Ha pontosan 40,00 g sűrített tejet mértünk be, és nátriumlámpás polariméter szögfokot és 2 dm-es polarimétercsövet használunk $20 \pm 0,1$ °C-on, akkor a normál sűrített tej (C=9) szacharóztartalmát a következő képlettel számítjuk ki:

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

- b) Ha a polarizációt inverzió után a megadott 20 °C-tól (T) eltérő hőmérsékleten mértük, az értéket meg kell szorozni a következő faktoral: $[1 + 0,0037 (T - 20)]$

7.2. Az inverziós faktor (Q) értéke

A következő képletek megadják a Q pontos értékét különböző fényforrások, különböző koncentrációk és hőmérsékletek esetén:

nátriumfénynél és polariméter szögfokban mérve:

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

zöld higanyfénynél és polariméter szögfokban mérve:

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

fehér fénynél bikromátszűrővel és nemzetközi cukorskálával ellátott szachariméterrel mérve:

$$Q = 2,549 + 0,0017 (C - 9) - 0,0095 (T - 20).$$

Az előbbi képletekben a betűk jelentése:

C = a polarimetriás mérésnek megfelelő összes cukortartalom az invertált oldatban, százalékban,

T = az invertált oldat hőmérséklete a polarimetriás mérés alatt.

1. megjegyzés:

Az invertált oldatban lévő összes cukortartalmat %-ban (C) a közvetlen polarizációs érték és az inverzió utáni polarizációs érték a szacharóz, laktóz és invertcukor specifikus forgatóképességének normál értékével a szokásos módon lehet kiszámítani.

A $0,0006 (C - 9)$ korrekció csak akkor pontos, ha C kb. = 9, szokásos sűrített tejnél ez a korrekció elhagyható, mivel C 9-hez közel van.

2. megjegyzés:

A 20 °C mérési hőmérséklethez képest 1 °C hőmérséklet eltérés a közvetlen leolvasásban keveset jelent, de az inverzió utáni leolvasásnál a 0,2 °C-nál nagyobb eltérés esetén már korrekcióra van szükség. A $0,0033 (T - 20)$ korrekció, stb. csak 18 °C – 22 °C között pontos.

8. Ismételhetőség

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 0,3 g szacharóz/100 g termék lehet.

6. MÓDSZER

Tejsav és laktáttartalom meghatározás

1. Tárgy és alkalmazási terület

Ezzel a módszerrel a következő termékek tejsav- és laktáttartalmát határozzuk meg:

- nagy zsírtartalmú tejpör,
- zsíros (teljes) tejpör,
- félzsíros tejpör,
- sovány tejpör.

2. Fogalommeghatározás

A tejpör tejsav- és laktáttartalma: az ezzel a módszerrel meghatározott tejsav- és laktáttartalom, tejsavban kifejezve.

3. A módszer elve

Réz-szulfát és kalcium-hidroxid egyidejű adagolása után a zsírt, a fehérjét és laktózt szűréssel eltávolítjuk. A szűrletben lévő tejsavat tömény kénsavval réz-szulfát jelenlétében

acetaldehiddé alakítjuk. Az acetaldehidet 4-hidroxi-difenillel fotometriásan meghatározzuk. A tejsav és laktáttartalmat tejsav mg/100 g zsírmentes szárazanyag értékben adjuk meg.

4. Vegyszerek

- 4.1. Réz(II)szulfát oldat: 250 g réz(II)szulfátot ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) vízben oldunk, és 1000 ml-re feltöltjük.
- 4.2. Kalcium-hidroxid-szuszpenzió:
 - 4.2.1. 300 g kalcium-hidroxidot [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] mozsárban összesen 900 ml víz felhasználásával eldörzsöljük. A szuszpenziót a felhasználás előtt frissen készítjük.
 - 4.2.2. Másik változat: 300 g kalcium-hidroxidot [$\text{Ca}(\text{OH})_2$] mozsárban összesen 1400 ml víz felhasználásával eldörzsölünk. A szuszpenziót a felhasználás előtt frissen készítjük.
- 4.3. Kénsavas réz(II)szulfát oldat: 300 ml kénsavhoz (95,5–97,0% (m/m) H_2SO_4) 0,5 ml réz(II)szulfát oldatot (4.1.) adunk.
- 4.4. 4-hidroxi-difenil oldat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$): 0,75 g 4-hidroxi-difenilt enyhe melegítés és keverés közben 5 gramm NaOH/100 ml koncentrációjú vizes nátrium-hidroxid oldat 5 ml-ében feloldunk. Mérőlombikban vízzel 50 ml-re feltöltjük. Az oldatot sötét, hűvös helyen, barna folyadéküvegben tároljuk. Ne használjuk, ha színváltozás vagy zavarosodás lép fel. Legfeljebb 72 óráig tárolható.
- 4.5. Tejsav kalibráló oldat: közvetlenül a felhasználás előtt 0,1067 g lítium-laktátot ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOLi}$) vízben feloldunk és mérőlombikban 1000 ml-re feltöltünk. Ennek az oldatnak 1 ml-e 0,1 mg tejsavnak felel meg.
- 4.6. Visszaállított normál tej: jó minőségű tejpör mintákat előzőleg megvizsgálunk. A kalibrációs görbe felvételéhez azokat a mintákat választjuk ki, amelyek tejsav tartalma a legkisebb, legfeljebb 30 mg/100 g zsírmentes szárazanyag tartalommal. A műveleteket a 6.2.1. és a 6.2.2. szerint végezzük.

5. Eszközök

- 5.1. Analitikai mérleg
- 5.2. Spektrofotométer, 570 nm hullámhosszra beállítható
- 5.3. Vízfürdő, 30 ± 2 °C-ra beállítható
- 5.4. Dörzsmozsár törővel
- 5.5. Szűrőpapír, (Schleicher és Schüll 595, Whatman 1 vagy azzal egyenértékű)
- 5.6. Reagensüveg Pyrex vagy azzal egyenértékű üvegből (mérete: 25x150 mm)

Megjegyzés:

Minden üvegedény teljesen tiszta legyen, és csak ehhez a vizsgálathoz használjuk. A csapadékot tartalmazó üvegedényeket tömény sósavas kiöblítés után mosogassuk el.

6. A vizsgálat menete

6.1. Vakpróba

Vakpróbát készítünk, amelyhez 30 ml vizet töltünk egy 50 ml-es mérőlombikba és a 6.2.4.–6.2.11. műveleteket elvégezzük. Ha a vakpróba eredménye vízzel szemben mérve a 20 mg tejsav/100 mg zsírmentes szárazanyagnak megfelelő értéket túllépi, a reagenseket felül kell vizsgálni, a szennyezett reagenseket, illetve reagenst mással kell pótolni. A vakpróbát a minta vizsgálatával egyidejűleg kell végezni.

6.2. Meghatározás

Megjegyzés:

Különösen nyállal és izzadsággal való szennyeződéstől óvjuk a mintákat.

- 6.2.1. A minta zsírmentes szárazanyagtartalmát (a) megkapjuk, ha 100-ból levonjuk a zsírtartalmat (meghatározása a 4. módszerrel) és a víztartalmat (meghatározása a 2. módszerrel).

- 6.2.2. A minta $\frac{1000}{a-10}$ g-ját 0,1 g pontossággal lemérjük.
Ehhez a mintamennyiséghez 100 ml vizet adunk és alaposan összekeverjük.
- 6.2.3. Az így kapott oldatból 5 ml-t 50 ml-es mérőlombikba pipetázunk és vízzel kb. 30 ml-re felhígítjuk.
- 6.2.4. Forgatás közben lassan hozzáadunk 5 ml réz-szulfát oldatot (4.1.) és 10 percig állni hagyjuk.
- 6.2.5. Forgatás közben lassan hozzáadunk 5 ml kalcium-hidroxid szuszpenziót (4.2.1.) vagy 10 ml kalcium-hidroxid szuszpenziót (4.2.2.)
- 6.2.6. Vízzel 50 ml-re feltöltjük, erősen összerázzuk, 10 percig állni hagyjuk, majd szűrjük. A szűrlet első részét elöntjük.
- 6.2.7. A szűrlet 1 ml-ét reagensüvegbe pipetázunk (5.6.)
- 6.2.8. Bürettával vagy osztott pipetával a kénsav-réz-szulfát-oldatból (4.3.) 6,0 ml-t, a reagensüvegbe adagolunk. Összekeverjük.
- 6.2.9. A reagensüveget 5 percen keresztül forró vízfürdőn melegítjük. Folyó vízzel szobahőfokra hűtjük.
- 6.2.10. Két csepp 4-hidroxi-difenil-reagenst (4.4) adunk hozzá és erősen összerázzuk, hogy a reagens az egész folyadékban egyenletesen eloszoljon. A reagensüveget 30 ± 2 °C hőmérsékletű vízfürdőbe helyezük, 15 percen keresztül benne hagyjuk, és időnként rázogattjuk.
- 6.2.11. A reagensüveget 90 másodpercre forró vízfürdőbe helyezük, majd folyó vízzel szobahőmérsékletre hűtjük.
- 6.2.12. Az optikai sűrűséget a vakpróbával szemben (6.1.) 3 órán belül az 5.2. pontban megadott hullámhosszon mérjük.
- 6.2.13. Amennyiben az optikai sűrűség a kalibrációs görbe legmagasabb pontját túllépi, a 6.2.6. szerint nyert szűrlet megfelelő hígításával kapott mintával a vizsgálatot megismételjük.
- 6.3. A kalibrációs görbe felvétele

- 6.3.1. A visszaállított tej (4.6.) 5 ml-ét 5 db 50 ml-es mérőlombikba pipetázunk. Ezekbe a lombikokba 0, 1, 2, 3, 4 ml kalibráló oldatot (4.5.) pipetázunk. Az így kapott oldatok 0, 20, 40, 60, 80 mg tejsav/100 g zsírmentes szárazanyag koncentrációnak felelnek meg.
- 6.3.2. Vízzel kb. 30 ml-re hígítjuk és a 6.2.4. – 6.2.11. pontban leírtak szerint járunk el.
- 6.3.3. A standard (6.3.1.) optikai sűrűségét a vakpróbával (6.1.) szemben az 5.2. pontban megadott hullámhosszon mérjük. Az optikai sűrűség adatait a 6.3.1. pontban megadott 0 mg, 20 mg, 40 mg, 60 mg, 80 mg/100 g zsírmentes szárazanyagra vonatkoztatott tejsav mennyiségének függvényében diagramon ábrázoljuk. Ezeknek a pontoknak legjobban megfelelő egyenest megrajzoljuk, és a kalibrációs görbét úgy készítjük el, hogy az egyenes önmagával párhuzamosan eltolva a koordinátarendszer nullpontját metsse.

7. Az eredmények kiszámítása

A minta 6.2.12. vagy 6.2.13. szerint mért optikai sűrűségét a kalibrációs görbe segítségével tejsav mg/100 g zsírmentes szárazanyag értékre számoljuk át. Az eredményt a hígítási faktoral megszorozzuk, amennyiben a szűrletet a 6.2.13. szerint hígítottuk.

8. Ismételhetőség

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 8

mg tejsav/100 g zsírtmentes szárazanyag lehet 80 mg/100 g mért értékig. Nagyobb értékeknél ez a különbség a legkisebb érték 10%-nál nem lehet nagyobb.

7. MÓDSZER

Foszfátáz-aktivitás meghatározás (módosított Sanders-Sagar-eljárás)

1. Tárgy és alkalmazási terület

Ez a módszer a foszfátáz-aktivitás meghatározását írja le a következő termékekben:

- nagy zsírtartalmú tejpör,
- zsíros (teljes) tejpör,
- félzsíros tejpör,
- sovány tejpör.

2. Fogalommeghatározás

A foszfátáz-aktivitás a jelenlévő aktív, alkalikus foszfátáz mennyiségének a mértéke. Ezt az értéket az 1 ml hígított tejből, az itt leírt módszerrel felszabadított fenol μg -ban állapítjuk meg.

3. A módszer elve

A tejpör foszfátáz-aktivitását a foszfátáz azon képessége alapján határozzuk meg, hogy dinátrium-fenil-foszfátból fenolt képes felszabadítani. Az alább leírt feltételek közt felszabaduló fenol mennyiségét spektrofotometriás méréssel, a Gibb reagenssel kialakított szín mérése útján határozzuk meg.

4. Vegyszerek

4.1. A oldat

Bárium-borát-hidroxid-puffer: pH $10,6 \pm 0,1$ 20 °C-on. 25,0 g bárium-hidroxidot ($\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) vízben oldunk, és 500 ml-re felhígítjuk. 11,0 g bórsavat (H_3BO_3) vízben feloldunk, és 500 ml-re felhígítjuk.

Mindkét oldatot 50 °C-ra felmelegítjük és összekeverjük. Az elegyet rázogatva szobahőmérsékletre hűtjük. A pH-értékét bárium-hidroxid-oldattal $10,6 \pm 0,1$ -re állítjuk be és leszűrjük. Az oldatot jól zárható edényben tároljuk. A puffert felhasználás előtt azonos mennyiségű vízzel felhígítjuk.

4.2. B oldat

Színképző puffer: 6,0 g nátrium-metaborátot (NaBO_2) vagy (12,5 g $\text{NaBO}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) és 20 g nátrium-kloridot (NaCl) vízben feloldunk, és 1000 ml-re feltöltjük.

4.3. C oldat

Szubsztrátum-puffer oldat

4.3.1. 0,5 g dinátrium-fenil-foszfátot ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 4,5 ml B oldatban (4.2.) feloldunk. Az E oldatból (4.5.) 2 cseppet adunk hozzá, és 30 percig állni hagyjuk. A színanyagot 2,5 ml butanollal (4.10) extraháljuk. Amennyiben szükséges, a színanyag extrakciót megismételjük. A kivonás után a butanolt kiöntjük. Az oldat hűtőszekrényben több napig eltartható. A felhasználás előtt a színezéket újra kifejlesztjük és extraháljuk.

4.3.2. Ebből az oldatból 1 ml-t egy 100 ml-es mérőlombikba viszünk át és az A oldattal jelíg töltjük. A pufferoldatot közvetlenül a felhasználás előtt készítjük el.

4.4. D oldat

Csapadékképző reagens: 3,0 g cink-szulfátot ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) és 0,6 g réz-szulfátot ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) vízben feloldunk, és 100 ml-re feltöltjük.

4.5. E oldat

Gibb reagens: 0,040 g 2,6-dibrómkinon-1,4-klórimid (C₆H₂Br₂ClNO) 10 ml 96%-os etil-alkoholban feloldunk. Az oldatot sötét üvegben hűtőszekrényben tároljuk. Elszíneződött reagens nem használható.

4.6. Színhígító puffer

A színképző B oldatból (4.2.) 10 ml-t vízzel 100 ml-re hígítunk.

4.7. Réz-szulfát oldat

0,05 g réz(II)-szulfátot (CuSO₄ · 5H₂O) vízben oldunk és vízzel 100 ml-re feltöltjük.

4.8. Fenol törzsoldat

0,200 ± 0,001 g tiszta fenolt vízben oldunk és mérőlombikban 100 ml-re feltöltjük. Az oldat hűtőszekrényben néhány hónapig eltartható. Ebből az oldatból 10 ml-t vízzel 100 ml-re feltöltünk. Ezen hígított oldat 1 ml-e 200 µg fenolt tartalmaz és további hígítások előállításához is felhasználható.

4.9. Kiforralt desztillált víz

4.10. n-butanol

5. Eszközök

5.1. Analitikai mérleg

5.2. Vízfürdő, 37 ± 1 °C-ra beállítható

5.3. Spektrofotométer, 610 nm hullámhossznál történő méréshez

5.4. Szűrőpapír (Schleicher és Schüll 597, Whatman 42 vagy más, azonos minőségű szűrőpapír).

5.5. Vízfürdő, forrásban lévő

5.6. Alumíniumfólia

6. A minta előkészítése

A minta 10 g-ját (0,1 g pontossággal lemérve) 90 ml vízben feloldjuk. A por feloldása közben a hőmérséklet semmiképpen sem lehet 35 °C-nál nagyobb.

7. A vizsgálat menete

7.1. Óvórendszabályok

1. Kerüljük a napfény hatását.
2. Minden üvegeszközt, a dugókat és a felszereléseket állandóan tisztán kell tartani, vízzel leöblíteni és kifőzni, vagy gőzzel kezelni.
3. A műanyagok alkalmazását (például dugók) kerüljük, mivel azok fenolt tartalmazhatnak.
4. A nyál foszfátot tartalmaz; a nyálnyomokkal való szennyeződést gondosan kerülni kell.

7.2. Meghatározás

7.2.1. Két reagensüvegbe a 6. szerint előkészített, visszaállított tejből 1-1 ml-t adagolunk.

7.2.2. A reagensüvegek egyikét 2 percen keresztül forrásban lévő vízfürdőben melegítjük. A reagensüveget és a vízfürdőt (5.5) egy alufóliával bevont főzőpohárral (5.6.) lefedjük, annak biztosítására, hogy a reagensüveg teljes egészében átforrósodjon. Hideg vízzel szobahőfokra hűtjük. Ezt a reagensüveget a vakpróbához használjuk. Ettől a ponttól kezdődően mindkét reagensüveget azonos módon kezeljük.

7.2.3. 10 ml C oldatot (4.3.2.) adunk hozzá, összekeverjük, és a reagensüvegeket 37 °C-os vízfürdőbe (5.2.) állítjuk.

7.2.4. 60 percig vízfürdőben inkubáljuk, és időnként összerázzuk.

7.2.5. A reagensüvegeket rögtön a forrásban lévő vízfürdőbe (5.5.) állítjuk, és 2 percig hevítjük, hideg vízzel szobahőmérsékletre hűtjük.

- 7.2.6. A D oldatból 1 ml-t (4.4) hozzáadunk, összekeverjük, és száraz szűrőpapíron szűrjük, az első szűrletet mindaddig elöntjük, amíg tiszta folyadékot nem kapunk.
- 7.2.7. Mindkét szűrletből 5 ml-t reagensüvegekbe adagolunk, 5 ml B oldatot (4.2.) és 0,1 ml E oldatot (4.5) adunk hozzá. Összekeverjük.
- 7.2.8. A szín kialakulásához 30 percig szobahőfokon napfénytől védve állni hagyjuk.
- 7.2.9. Az optikai sűrűséget a vakpróbával szemben az 5.3. alatt megadott hullámhosszon mérjük.
- 7.2.10. A meghatározást megismételjük, ha az oldat optikai sűrűsége az 7.3. pont szerint kapott 20 µg-os fenol standardnál nagyobb. Ha ezt az értéket túlléptük, a visszaállított tej (6.) térfogatát, olyan tej megfelelő térfogatával hígítjuk fel, amelyet a 7.2.2. szerint a foszfátáz inaktiválására gondosan felforraltunk.
- 7.3. A kalibrációs görbe felvétele
- 7.3.1. 4 db 100 ml-es mérőlombikba 1, 3, 5, és 10 ml-t mérünk be a 4.8. szerint felhígított kalibráló oldatból és vízzel jelig töltjük. Ezek a hígítások ml-enként 2, 6, 10 és 20 µg fenolt tartalmaznak.
- 7.3.2. 1 ml vizet, illetve a referenciaoldatok 1 ml-ét (7.3.1.) a reagensüvegekbe pipettázzuk, hogy olyan mintasorozatot kapjunk, amely 0, 2, 6, 10 és 20 µg fenolt tartalmaz.
- 7.3.3. Egymás után minden reagensüvegbe 1 ml réz-szulfát-oldatot (4.7.), 5 ml színhigító puffert (4.6.), 3 ml vizet és 0,1 ml E oldatot (4.5.) adunk. Összekeverjük.
- 7.3.4. A reagensüvegeket szobahőmérsékleten napfénytől védve 30 percig állni hagyjuk.
- 7.3.5. A reagensüvegekből kivett oldatok optikai sűrűségét a vakpróbahez viszonyítva az 5.3. pontban megadott hullámhosszon megmérjük.
- 7.3.6. Az optikai sűrűséget a 7.3.2. pontban megadottak szerint µg-ban mért fenol mennyiség függvényében kalibrációs görbén ábrázoljuk.

8. Az eredmények kiszámítása

- 8.1. A 7.2.9. szerint kapott értékeket a kalibrációs görbe felhasználásával µg fenolra számítjuk át.
- 8.2. A µg fenolban kifejezett foszfátáz-aktivitást a visszaállított tej 1 ml-ére vonatkoztatva a következő képlettel számítjuk ki:

$$\text{Foszfátáz-aktivitás} = 2,4 \times P$$
ahol
P = a fenolmennyiség µg-ban a 8.1. szerint.
- 8.3. Ha a 7.2.10. szerinti hígítás szükséges volt, úgy a 8.2. szerinti eredményeket még a hígítási faktorial is meg kell szorozni.

9. Ismételtetés

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 2 µg felszabadított fenol/ ml visszaállított tej lehet.

8. MÓDSZER

Foszfátáz-aktivitás meghatározása (Aschaffenburg-Mullen-módszer)

1. Tárgy és alkalmazási terület

Ez a módszer a foszfátáz-aktivitás meghatározását írja le a következő termékekben:

- nagyzsírtartalmú tejpör,
- zsíros (teljes) tejpör,
- félzsíros tejpör,
- sovány tejpör.

2. Fogalommeghatározás

A tejpör foszfátáz-aktivitása a termékben lévő aktív alkalikus foszfátáz mennyiségének a mértéke. Ezt az értéket a visszaállított minta 1 ml-éből az itt leírt módszerrel felszabaduló p-nitrofenol μg -ban határozzuk meg.

3. A módszer elve

A visszaállított mintát 10,2 pH-jú szubsztrát-pufferrel felhígítjuk és 37 °C hőmérsékleten termosztáljuk. A mintában lévő alkalikus foszfátáz ezen körülmények között a dinátrium-p-nitrofenil-foszfátból p-nitrofenolt szabadít fel. A felszabadított p-nitrofenolt standard színes üvegekkel való közvetlen összehasonlítással, egyszerű komparátorban, visszavert fényben meghatározzuk.

4. Vegyszerek

4.1. Nátrium-karbonát-hidrogénkarbonát puffer

3,5 g vízmentes nátrium-karbonátot és 1,5 g nátrium-hidrogénkarbonátot vízben feloldunk és mérőlombikban 1000 ml-re feltöltjük.

4.2. Szubsztrát-puffer-oldat

1,5 g dinátrium-p-nitrofenil-foszfátot nátrium-karbonát/hidrogénkarbonát pufferben (4.1.) feloldunk, és mérőlombikban a pufferrel (4.1.) 1000 ml-re feltöltjük. Az oldat egy hónapig stabilis marad, ha hűtőszekrényben (4 °C-on vagy az alatti hőfokon) tároljuk, azonban a tárolt oldatból színvizsgálatot kell végezni, lásd: 7. pont 3. megjegyzés.

4.3. Csapadékképző reagensek

4.3.1. Cink-szulfát oldat

30,8 g cink-szulfátot vízben feloldunk és mérőlombikban 100 ml-re feltöltjük.

4.3.2. Kálium-ferrocianid oldat

17,2 g kálium-ferrocianid-trihidrátot vízben feloldunk és mérőlombikban 100 ml-re feltöltjük.

5. Eszközök

5.1. Analitikai mérleg

5.2. Vízfürdő, termosztáttal 37 ± 1 °C-ra beállítható

5.3. Komparátor, különleges p-nitrofenol $\mu\text{g}/\text{ml}$ tej értékre hitelesített, standard, színes üveg tárcsával és 2 db, 25 mm-es küvétával.

6. A minta előkészítése

10 g tejpört 90 ml vízben feloldunk. A tejpör oldási hőmérséklete nem lépheti túl a 35 °C-t.

7. A vizsgálat menete

Óvintézkedések:

1. Felhasználás után a reagensüvegeket ki kell üríteni, vízzel kiöblíteni, lúgos mosószerrel tartalmazó forró vízben kimosni, és tiszta forró vízzel kiöblíteni. Felhasználás előtt vízzel ki kell öblíteni és megszáritani. Használat után a pipettákat alaposan, tiszta hideg folyóvízben rögtön ki kell öblíteni, végül a felhasználás előtt vízzel ki kell öblíteni és megszáritani.
2. A reagensüvegeket felhasználás után rögtön forró folyóvízzel alaposan le kell öblíteni, majd 2 percen keresztül vízben kifőzni.
3. A szubsztrát-puffer-oldat (4.2.) legalább 1 hónapig stabil marad, ha azt hűtőszekrényben 4 °C-on vagy annál kisebb hőmérsékleten tároljuk. Az esetleges instabilitást sárga szín megjelenése jelzi. Vizsgálat közben a minták mellett mindig azonos mennyiségű szubsztrát-puffer oldatot tartalmazó kontroll mintát is olvassunk le. Az oldatot ne használjuk, ha olyan elszíneződés lép fel, amely a komparátor 25 mm-es küvettájában desztillált vízzel szemben mérve 10 µg-nál nagyobb értéknek felel meg.
4. Minden mintához külön pipettát használunk, hogy a pipetta nyállal való szennyeződését elkerüljük.
5. A mintát a legrövidebb időre sem szabad közvetlen napfény hatásának kiténni.

7.1. Meghatározás

- 7.1.1. A szubsztrát-puffer 15 ml-ét tiszta, száraz reagens üvegbe pipettázzuk, majd hozzáadjuk a vizsgálandó visszaállított minta (6.) 2 ml-ét. A reagensüveget lezárjuk, forgatással összekeverjük, és 37 °C hőmérsékletű vízfürdőbe tesszük.
- 7.1.2. Egyidejűleg egy másik reagensüvegben lévő 15 ml szubsztrát-pufferhoz 2 ml kiforralt, visszaállított mintát adunk és a vizsgálandó mintával azonos módon vízfürdőbe helyezzük.
- 7.1.3. 2 óra múlva mindkét reagensüveget a vízfürdőből kivesszük, 0,5 ml cink-szulfát oldatot (4.3.1.) adunk hozzá, a dugóval az üvegeket lezárjuk, erősen összerázzuk és 3 percig állni hagyjuk. Hozzáadunk 0,5 ml kálium-ferrocianid oldatot (4.3.2.), alaposan összekeverjük, szűrjük, a tiszta szűrletet tiszta reagensüvegben felfogjuk.
- 7.1.4. A szűrletet 25 mm-es küvettába visszük, és a kifőzött minta szűrletével a komparátorban speciális tárcsa (5.3.) segítségével összehasonlítjuk.

8. A eredmények kiszámítása

A 7.1.4. szerint közvetlenül leolvasott értékeket µg p-nitrofenol/ml visszaállított mintára adjuk meg.

9. Ismételhetség

Ugyanabból a mintából, azonos vizsgáló által, azonos körülmények között, egyidőben vagy közvetlenül egymás után végzett két meghatározás eredménye közötti különbség legfeljebb 2 µg nitrofenol/ml visszaállított tej lehet.