

FYRSTA TILSKIPUN FRAMKVÆMDASTJÓRNARINNAR

frá 13. nóvember 1979

um greiningaraðferðir til prófunar á tilteknum niðurseyddum mjólkurvörum
og mjólkurdufti til manneldis

(79/1067/EBE)

FRAMKVÆMDASTJÓRN EVRÓPUBANDALAGANNA
HEFUR

2. gr.

með hliðsjón af stofnsáttmála Efnahagsbandalags Evrópu,
með hliðsjón af tilskipun ráðsins 76/118/EBE frá 18. desember
1975 um samræmingu laga aðildarríkjanna varðandi til-
teknar niðurseyddar mjólkurvörur til manneldis ⁽¹⁾, einkum
11. gr.,

Ef tilgreindar eru fleiri en ein greiningaraðferð má velja
milli þeirra. Í prófskýrslunni sem um getur í II. viðauka
skal koma fram hvaða aðferð var beitt.

3. gr.

og að teknu tilliti til eftirfarandi:

Samkvæmt 11. gr. tilskipunar 76/118/EBE ber að kanna
samsetningu tiltekinna niðurseyddra mjólkurvara með
greiningaraðferðum bandalagsins.

Aðildarríkin skulu samþykka nauðsynleg lög og stjórn-
sýslufyrirmæli til að fara að þessari tilskipun eigi síðar en
18 mánuðum eftir birtingu hennar. Þau skulu tilkynna það
framkvæmdastjórninni þegar í stað.

4. gr.

Samþykka ber röð frumaðferða sem fullrannsakaðar hafa
verið.

Greiningaraðferðirnar í þessari tilskipun eru í samræmi við
álit fastanefndarinnar um matvæli.

Tilskipun þessari er beint til aðildarríkjanna.

SAMÞYKKT TILSKIPUN ÞESSA:

Gjört í Brussel 13. nóvember 1979.

1. gr.

1. Aðildarríkin gera allar nauðsynlegar ráðstafanir til að
 tryggja að nauðsynlegar greiningar til sannprófunar á skil-
yrðum í I. viðauka verði gerðar í samræmi við aðferðirnar í
II. viðauka.

Fyrir hönd framkvæmdastjórnarinnar,

Étienne DAVIGNON

framkvæmdastjóri.

⁽¹⁾ Stjtið. EB nr. L 24, 30. 1. 1976, bls. 49.

I. VIÐAUKI

UMFANG FYRSTU TILSKIPUNAR UM AÐFERDIR Í BANDALAGINU VIÐ GREINGU NIÐURSEYDDRA MJÓLKURVARA OG MJÓLKURDUFTS

- I. **Almenn ákvæði**
- II. **Ákvörðun þurrefnis í:**
- ósykraðri niðurseyddri fituríkri mjólk (með aðferð 1, II. viðauka),
 - ósykraðri niðurseyddri nýmjólk (með aðferð 1, II. viðauka),
 - ósykraðri niðurseyddri léttmjólk (með aðferð 1, II. viðauka),
 - ósykraðri niðurseyddri undanrennu (með aðferð 1, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri nýmjólk (með aðferð 1, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri léttmjólk (með aðferð 1, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri undanrennu (með aðferð 1, II. viðauka).
- III. **Ákvörðun vatns í:**
- þurrkaðri fituríkri mjólk eða fituríku mjólkurdufti (með aðferð 2, II. viðauka),
 - þurrkaðri nýmjólk eða nýmjólkurdufti (með aðferð 2, II. viðauka),
 - þurrkaðri léttmjólk eða léttmjólkurdufti (með aðferð 2, II. viðauka),
 - þurrkaðri undanrennu eða undanrennufti (með aðferð 2, II. viðauka).
- IV. **Ákvörðun fitu í:**
- ósykraðri niðurseyddri fituríkri mjólk (með aðferð 3, II. viðauka),
 - ósykraðri niðurseyddri nýmjólk (með aðferð 3, II. viðauka),
 - ósykraðri niðurseyddri léttmjólk (með aðferð 3, II. viðauka),
 - ósykraðri niðurseyddri undanrennu (með aðferð 3, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri nýmjólk (með aðferð 3, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri léttmjólk (með aðferð 3, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri undanrennu (með aðferð 3, II. viðauka),
 - þurrkaðri fituríkri mjólk eða fituríku mjólkurdufti (með aðferð 4, II. viðauka),
 - þurrkaðri nýmjólk eða nýmjólkurdufti (með aðferð 4, II. viðauka),
 - þurrkaðri léttmjólk eða léttmjólkurdufti (með aðferð 4, II. viðauka),
 - þurrkaðri undanrennu eða undanrennufti (með aðferð 4, II. viðauka).
- V. **Ákvörðun súkrósa í:**
- sykraðri niðurseyddri nýmjólk (með aðferð 5, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri léttmjólk (með aðferð 5, II. viðauka),
 - sykraðri niðurseyddri undanrennu (með aðferð 5, II. viðauka).
- VI. **Ákvörðun mjólkursýru og laktata í:**
- þurrkaðri fituríkri mjólk eða fituríku mjólkurdufti (með aðferð 6, II. viðauka),
 - þurrkaðri nýmjólk eða nýmjólkurdufti (með aðferð 6, II. viðauka),
 - þurrkaðri léttmjólk eða léttmjólkurdufti (með aðferð 6, II. viðauka),
 - þurrkaðri undanrennu eða undanrennufti (með aðferð 6, II. viðauka).
- VII. **Ákvörðun fosfatasavirkni í:**
- þurrkaðri fituríkri mjólk eða fituríku mjólkurdufti (með aðferð 7 eða 8, II. viðauka),
 - þurrkaðri nýmjólk eða nýmjólkurdufti (með aðferð 7 eða 8, II. viðauka),
 - þurrkaðri léttmjólk eða léttmjólkurdufti (með aðferð 7 eða 8, II. viðauka),
 - þurrkaðri undanrennu eða undanrennufti (með aðferð 7 eða 8, II. viðauka).

II. VIÐAUKI

ADFERÐIR VIÐ GREININGU TILTEKINNA NIÐURSEYDDRA MJÓLKURVARA TIL MANNELDIS

ALMENN ÁKVÆÐI

1. UNDIRBÚNINGUR SÝNIS TIL EFNAGREININGAR

1.1. **Ósykruð niðurseydd fiturík mjólk**
Ósykruð niðurseydd nýmjólk
Ósykruð niðurseydd léttmjólk
Ósykruð niðurseydd undanrenna

Lokuð dósin er hrist og henni hvolfst við. Því næst er hún opnuð og mjólkinni hellt rólega í annað loftþétt flát og blandað með því að hella nokkrum sinnum á milli. Tryggja verður að öll fita og mjólk sem loðir við hliðar og lok dósarinnar blandist sýninu. Ílátinu er lokað. Ef innihaldið er ekki einsleitt skal hita flátið í vatnsbaði við 40°C. Hrist rækilega á 15 mínútna fresti. Ílátið er tekið úr baðinu eftir tvo tíma og látið kólna niður í stofuhita. Lokið er tekið af og innihaldinu blandað vandlega saman með skeið eða spaða (ef fitan hefur skilið sig frá er ekki hægt að greina sýnið). Sýnið er geymt á köldum stað.

1.2. **Sykruð niðurseydd nýmjólk**
Sykruð niðurseydd léttmjólk
Sykruð niðurseydd undanrenna

Dósin: Lokuð dósin er hituð í vatnsbaði við 30 til 40°C í um það bil 30 mínútur. Dósin skal opnuð og innihaldinu blandað vandlega saman með spaða eða skeið með því að hræra upp og niður og í hringi til að lögin efst og neðst blandist rækilega saman við innihaldið. Tryggja verður að öll fita og mjólk sem loðir við hliðar og lok dósarinnar blandist sýninu. Ef hægt er skal hella innihaldinu í annað flát með loftþétu loki. Ílátinu skal lokað og það sett á kaldan stað.

Rör: Endinn er skorinn burt og innihaldinu hellt í flát með loftþétu loki. Því næst er rörið skorið að endilöngu. Allt efni sem loðir innan á er skafið burt og því blandað vandlega við innihaldið. Ílátið skal sett á kaldan stað.

1.3. **Þurrkuð fiturík mjólk eða fituríkt mjólkurduft**
Þurrkuð nýmjólk eða nýmjólkurduft
Þurrkuð léttmjólk eða léttmjólkurduft
Þurrkuð undanrenna eða undanrennuft

Mjólkurduftið er flutt í hreint, þurrt flát (með loftþétu loki) sem rúmar tvöfalt meira en sem nemur rúmmáli duftsins. Ílátinu er lokað strax og mjólkurduftinu blandað vandlega með því að hrista og hvolfa ílátinu nokkrum sinnum. Meðan verið er að undirbúa sýnið skal forðast að mjólkurduftið komist í snertingu við andrúmsloftið svo það dragi síður í sig raka.

2. HVARFEFNI

2.1. **Vatn**

2.1.1. Þegar talað er um vatn í lausnir, til þynningar og þvotta skal notast við eimað vatn eða steinefnasneytt vatn sem er að minnsta kosti jafnhreint og eimað vatn.

2.1.2. Þegar vísað er til „upplausnar“, „lausnar“ eða „þynningar“ án frekari skýringa er átt við „upplausn í vatni“, „lausn í vatni“ eða „þynningu með vatni“.

2.2. **Kemísk efni**

Öll efni sem eru notuð skulu vera með viðurkenndan greiningarhreinleika nema annað sé tekið fram.

3. BÚNAÐUR
 - 3.1. **Skrá yfir búnað**

Við upptalningu tækja eru aðeins nefnd sértæki og tæki sem verða að uppfylla sérstakar kröfur.
 - 3.2. **Fínvog**

Með fínvog er átt við vog sem getur að minnsta kosti mælt með 0,1 mg nákvæmni.
4. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA
 - 4.1. **Prósentureikningur**

Nema kveðið sé á um annað skulu niðurstöður settar fram sem hundraðshluti af massa sýnisins eins og það var þegar það var afhent rannsóknarstofunni.
 - 4.2. **Fjöldi aukastafa**

Aukastafir í niðurstöðunum skulu ekki vera fleiri en nákvæmni greiningaraðferðarinnar leyfir.
5. PRÓFUNARSKÝRSLA

Í prófunarskýrslunni skal skýrt frá því hvaða greiningaraðferð var notuð og hverjar niðurstöður voru. Enn fremur skal greint frá öllum atriðum sem tengjast vinnuaðferðinni og eru ekki tilgreind í greiningaraðferðinni, eða eru valfrjáls, og öllum aðstæðum sem kunna að hafa haft áhrif á niðurstöðurnar.

Í skýrslunni skulu koma fram allar nauðsynlegar upplýsingar til að örugglega sé unnt að bera kennsl á sýnið.

AÐFERÐ 1: ÁKVÖRDUN ÞURREFNISINNIHALDS

(Skápur hafður við 99° C)

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Með þessari aðferð er unnt að ákvarða þurrefnisinnihald í:

 - ósykraðri niðurseyddri fituríkri mjólk,
 - ósykraðri niðurseyddri nýmjólk,
 - ósykraðri niðurseyddri léttmjólk,
 - ósykraðri niðurseyddri undanrennu,
 - sykraðri niðurseyddri nýmjólk,
 - sykraðri niðurseyddri léttmjólk,
 - sykraðri niðurseyddri undanrennu.
2. SKILGREINING

Þurrefnisinnihald niðurseyyddrar mjólkur: Þurrefnisinnihald eins og það er ákvarðað með þessari aðferð.
3. MEGINREGLA

Þekkt magn af sýninu er þynnt með vatni, blandað sandi og þurrkað við $99^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Massinn eftir þurrkun er massi þurrefnis og reiknaður út sem hundraðshluti af massa sýnisins.
4. HVARFEFNI

Kvarssandur eða sjávarsandur, meðhöndlaður með saltsýru (kornastærð: 0,18 til 0,5 mm, þ.e. sandur sem sleppur gegnum 500 míkróna sigti en ekki 180 míkróna sigti). Hann á að uppfylla eftirfarandi prófunarskýrði:

Um það bil 25 g af sandi eru hituð í tvær klst. í hitaskápi (5.3) eins og lýst er í 6.1. til 6.3. 5 ml af vatni er bætt við og hitað aftur í skápnunum í tvær klst., látið kólna og vigtað aftur. Munurinn milli massanna tveggja á ekki að vera meiri en 0,5 mg.

Ef nauðsynlegt reynist skal meðhöndla sandinn með 25 % saltsýrulausn í þrjú daga og hræra í öðru hverju. Þvoist með vatni þar til sýruhvörf hætta eða þvottavatnið er orðið klóríðlaust. Þurrkist við 160°C og prófist aftur, samanber að framan.

5. BÚNAÐUR

5.1. Fínvog.

5.2. Málmskálar, helst úr nikkel, áli eða ryðfrú stáli. Skálarnar verða að hafa lok sem passa vel og er auðvelt að fjarlægja. Hentugar stærðir eru: 60 til 80 mm að þvermáli og um það bil 25 mm á dýpt.

5.3. Hitaskápur með eðlilegum loftþrýstingi, vel loftræstur, þar sem hita er haldið við $99^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ með hitastilli. Hitinn á að vera sá sami alls staðar í skápnunum.

5.4. Þurrkari með nývirkjuðu kísilhlaupi eða sambærilegu rakadrægu efni og rakamæli.

5.5. Glerstautar, flattir út öðrum megin og ekki lengri en sem nemur þvermáli málmskálanna (5.2).

5.6. Vatnsbað, sjóðandi.

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Um það bil 25 g af sandi (4) og stuttur glerstautur (5.5) eru sett í skálina (5.2).

6.2. Skálin, án loks, innihaldið og lokið eru sett í skápinn (5.3) og hitað í tvær klst.

6.3. Lokið er sett á og skálin flutt í þurrkarann (5.4). Látið kólna niður í stofuhita og vegið með 0,1 mg nákvæmni (M_0).

6.4. Sandinum er komið fyrir öðrum megin á skálinni. Hinum megin eru sett 1,5 g af sykraðri niðurseyddri mjólk og 3,0 g af ósykraðri niðurseyddri mjólk. Lokið er sett á og vegið með 0,1 mg nákvæmni (M_1).

6.5. Lokið er tekið af og 5 ml af vatni bætt við; vökvænum og síðan sand- og vökvaskammtinum er blandað saman með glerstautnum. Stauturinn er látinn standa í blöndunni.

6.6. Skálin er höfð í sjóðandi vatnsbaði (5.6) uns vatnið hefur gufað upp; það tekur að jafnaði um 20 mínútur. Hrært skal í blöndunni af og til með stautnum svo ekki myndist kaka. Stauturinn er látinn í skálina.

6.7. Skálin og lokið eru látin vera í skápnunum hálfra aðra klukkustund.

6.8. Lokið er sett á og skálin flutt í þurrkarann (5.4). Látið kólna niður í stofuhita og vegið með 0,1 mg nákvæmni.

6.9. Skálin og lokið eru sett aftur í skápinn, lokið tekið af skálinni og hún og lokið hitað í eina klst. til viðbótar.

6.10. Aðgerðin í 6.8 er endurtekin.

6.11. Aðgerðirnar í 6.9 og 6.10 eru endurteknar uns munurinn á tveimur vigtunum sem gerðar eru hver á eftir annarri er orðinn minni en 0,5 mg eða þar til massinn eykst. Ef massinn eykst skal nota lægsta gildið við útreikningana (7.1). Lokavigtunin skal skráð sem M_2 g.

7. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA

7.1. **Reikniaðferð**

Þurfnisinnihaldið reiknað sem hundraðshluti af massa sýnis er jafnt og:

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

þar sem:

M_0 = massi (í grömmum) skálar, loks og sands eftir aðgerð 6.3;

M_1 = massi (í grömmum) skálar, loks, sands og sýnis eftir aðgerð 6.4;

M_2 = massi (í grömmum) skálar, loks, sands og þurrkaðs sýnis eftir aðgerð 6.11.

7.2. **Endurtekningarhæfni**

Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 0,2 g þurfnis í hverjum 100 g sýnis.

8. ÚTREIKNINGUR Á HEILDARMJÓLKURÞURRFNI OG FITULAUSU MJÓLKURÞURRFNI

8.1. Heildarinnihald mjólkurþurfnis í sykraðri niðurseyddri mjólk er gefið sem:

Heildarþurfnis (fengið með aðferð 1, II. viðauka) – súkrósainnihald (fengið með aðferð 5, II. viðauka).

8.2. Fitulaust mjólkurþurfnisinnihald í sykraðri niðurseyddri mjólk er gefið sem:

Heildarþurfnis (fengið með aðferð 1, II. viðauka) – súkrósainnihald (fengið með aðferð 5, II. viðauka) og fituinnihald (fengið með aðferð 3, II. viðauka).

8.3. Fitulaust mjólkurþurfnisinnihald í ósykraðri niðurseyddri mjólk er gefið sem:

Heildarþurfnis (fengið með aðferð 1, II. viðauka) – fituinnihald (fengið með aðferð 3, II. viðauka).

AÐFERÐ 2: ÁKVÖRDUN RAKAINNIHALDS

(Skápur hafður við 102° C)

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Með þessari aðferð er unnt að ákvarða massatap við þurrkun í:

- þurrkaðri fituríki mjólk eða fituríku mjólkurdufti,
- þurrkaðri nýmjólk eða nýmjólkurdufti,
- þurrkaðri léttmjólk eða léttmjólkurdufti,
- þurrkaðri undanrennu eða undanrennudufti.

2. SKILGREINING

Rakainnihald: Massatap við þurrkun eins og það er ákvarðað með þessari aðferð.

3. MEGINREGLA

Afgangsmassi prófskammts er ákvarðaður eftir þurrkun við eðlilegan loftþrýsting í hitaskáp við 102° ± 1° C þar til massinn er stöðugur. Massatapið er reiknað út sem hundraðshluti af massa sýnisins.

4. BÚNAÐUR
- 4.1. Fínvog.
- 4.2. Skálar, helst úr nikkel, áli eða ryðfríu stáli. Skálarnar verða að hafa lok sem passa vel og er auðvelt að fjarlægja. Hentugar stærðir eru: 60 til 80 mm að þvermáli og um það bil 25 mm á dýpt.
- 4.3. Hitaskápur með eðlilegum loftþrýstingi, vel loftræstur, þar sem hita er haldið stöðugum við $102^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ með hitastilli. Hitinn á að vera sá sami alls staðar í skápnnum.
- 4.4. Þurrkari með nývirkjuðu kísilhlaupi eða sambærilegu rakadrægu efni og rakamæli.

5. VINNUAÐFERÐ

- 5.1. Lokið er tekið af skálinni (4.2) og hún og lokið sett í skápinn (4.3) og hitað í um það bil eina klst.
- 5.2. Lokið er sett á skálina og hún sett með lokinu á í þurrkarann (4.4). Látið kólna niður í stofuhita og vegið með 0,1 mg nákvæmni (M_0).
- 5.3. Um það bil 2 g af þurrkuðu mjólkursýni eru sett í skálina, lokið sett á og vegið með 0,1 mg nákvæmni (M_1) eins fljótt og hægt er.
- 5.4. Lokið er tekið af skálinni og hún og lokið sett í hitaskápinn í tvær klst.
- 5.5. Lokið er sett á og lokuð skálin flutt í þurrkarann, látið kólna niður í stofuhita og vegið með 0,1 mg nákvæmni eins fljótt og hægt er.
- 5.6. Lokið er tekið af skálinni og hún og lokið sett í hitaskápinn í eina klst.
- 5.7. Aðgerðin í 5.5 er endurtekin.
- 5.8. Aðgerðirnar í 5.6 og 5.5 eru endurteknar uns munurinn á vigtunum sem gerðar eru hver á eftir annarri er ekki meiri en 0,5 mg eða þar til massinn eykst. Ef massinn eykst skal nota lægsta gildið við útreikningana (6.1). Lokavigtunin skal skráð sem M_2 g.

6. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA

6.1. Reikniaðferð

Massatapið við þurrkun, reiknað sem hundraðshluti af massa sýnis er jafnt og:

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

þar sem:

M_0 = massi (í grömmum) skálar og loks eftir aðgerð 5.2;

M_1 = massi (í grömmum) skálar, loks og sýnis eftir aðgerð 5.3;

M_2 = massi (í grömmum) skálar, loks og lokasýnis eftir aðgerð 5.5.

6.2. Endurtekingarhæfni

Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 0,1 g af raka í hverjum 100 g vöru.

AÐFERÐ 3: ÁKVÖRÐUN FITUINNIHALDS Í NIÐURSEYDDRI MJÓLK**(RÖSE-GOTTLIEB-AÐFERÐ)**

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ
Með þessari aðferð er unnt að ákvarða fituinnihald í:
 - ósykraðri niðurseyddri fiturkri mjólk,
 - ósykraðri niðurseyddri nýmjólk,
 - ósykraðri niðurseyddri léttmjólk,
 - ósykraðri niðurseyddri undanrennu,
 - sykraðri niðurseyddri nýmjólk,
 - sykraðri niðurseyddri léttmjólk,
 - sykraðri niðurseyddri undanrennu.

2. SKILGREINING
Fituinnihald niðurseyddrar mjólkur: Fituinnihald eins og það er ákvarðað með þessari aðferð.

3. MEGINREGLA
Fituinnihaldið er ákvarðað með útdrætti á fitu úr ammóníak-alkóhóllausn sýnisins með díetýleter og léttum alkönnum með uppgufun leysiefnanna og vigtun afgang og útreikningi á hundraðshluta af massa sýnisins, í samræmi við meginreglu Röse-Gottliebs.

4. HVARFEFNI
Öll hvarfefni eiga að samrýmast skilyrðum sem tilgreind eru í núllprófinu (6.1). Ef nauðsyn ber til verður að endureima hvarfefnin með um það bil 1 g af mjólkurfitu í hverjum 100 ml af leysiefni.
 - 4.1. Ammóníakslausn, um það bil 25% (m/m) NH_3 (styrkur við 20°C nálægt 0,91 g/ml), eða sterkari lausn með þekktum styrk.
 - 4.2. Etanól, $96 \pm 2\%$ (v/v) eða, ef það er ekki tiltækt, etanól eðlisbreytt með metanóli, etýlmetylketóni eða léttum alkönnum.
 - 4.3. Díetýleter, peroxíðlaus.
Aths. 1:
Við peroxíðarannsókn skal setja út í 10 ml af eter í litlu glasi með glertappa, sem hefur verið skolaður áður með eter, 1 ml af nýútbúinni 10% lausn af kálfumjóði. Blandan er hrist og látin standa í eina mínútu. Gulur litur á ekki að koma fram í lögnum.
Aths. 2:
Hægt er að halda díetýleter peroxíðlausum með því að bæta við blautri sinkþynnu sem hefur verið gegndreypt í þynntri, súrri koparsúlfatlausn í eina mínútu og síðan þvegin upp úr vatni. Í hvern lítra skal setja um það bil 8 000 mm^2 sinkþynnu; hún er klippt í ræmur sem ná að minnsta kosti hálfu leið upp í ílátid.
 - 4.4. Léttir alkanar, með suðumark á bilinu 30 til 60 °C.
 - 4.5. Blandað leysiefni, útbúið skömmu fyrir notkun með því að blanda saman jafnstórum skömmtum af díetýleter (4.3) og léttum alkönnum (4.4) (þar sem vísað er til blandaðs leysiefnis má nota í staðinn annaðhvort díetýleter eða léttu alkana).

5. BÚNAÐUR
 - 5.1. Fínvog.
 - 5.2. Hentug útdráttarrör eða -kolbur, með slípuðum glertöppum eða öðrum lokunarbúnaði sem leysiefnin hafa ekki áhrif á.
 - 5.3. Kolbur, þunnar og flatbotna, sem rúma 150 til 250 ml.

- 5.4. Hitaskápur með eðlilegum loftþrýstingi, vel loftræstur og hitastýrður með hitastilli (stilltur á $102 \pm 1^\circ\text{C}$).
- 5.5. Suðusteinarnir, fitulausir, ógljúpir og sem molna ekki við notkun, t.d. glerperlur eða molar af silfkonkarbít (notkun þessa efnis er valfrjálst; sjá 6.2.1).
- 5.6. Sogari sem passar við útdráttarrörin.
- 5.7. Skilvinda (valfrjálst).

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Núllpróf

Um leið og fituinnihald sýnisins er ákvarðað skal gera núllpróf á 10 ml vatns með sama skiljunarbúnaði, með sömu hvarfefnum í sama magni og með sömu aðferð og lýst er hér að aftan, að undanskildum lið 6.2.2. Ef núllprófið fer yfir 0,5 mg verður að rannsaka hvarfefnin og hreinsa eða nota önnur efni í stað óhreinna hvarfefna.

6.2. Ákvörðun

- 6.2.1. Kolba (5.3) (ef nauðsynlegt þykir er nokkrum suðusteinum (5.5) bætt út í til að tryggja hæga suðu þegar leysiefnin verða fjarlægð) er þurrkuð í skápnum (5.4) í hálfu til heila klukkustund. Kolban er látin kólna að stofuhita og að því loknu er hún vegin með 0,1 mg nákvæmni.
- 6.2.2. Hrært er í undirbúna 5 g sýninu og vegið strax, með 1 mg nákvæmni, 2 til 2,5 g af sýninu ef það er sykrað, eða 4 til 5 g af sýninu ef það er ósykrað, beint eða með mismun í útdráttarbúnaðinn (5.2). Þynnt er með vatni upp í 10,5 ml og hrist varlega við vægan hita (40 til 50°C) uns varan er fyllilega tvístruð. Sýnið verður að tvístrast fyllilega, að öðrum kosti verður að endurtaka ákvörðunina.
- 6.2.3. Bætt er við 1,5 ml af ammóníaki (25%) (4.1) eða sambærilegum skammti af sterkari lausn og blandað vel saman.
- 6.2.4. Bætt er við 10 ml af etanóli (4.2) og vökvunum blandað varlega en rækilega saman í ólokuðum búnaðinum.
- 6.2.5. Bætt er við 25 ml af díetýleter (4.3). Látið kólna undir rennandi vatni. Búnaðinum er lokað, hrist kröftuglega og hvolfst við nokkrum sinnum í eina mínútu.
- 6.2.6. Tappinn er fjarlægður varlega og bætt við 25 ml af léttum alkönnum (4.4) og fyrstu millflítrarnir notaðir til að skola tappann og innanverðan háls búnaðarins og hreinsivökvanum leyft að renna inn í búnaðinn. Tappinn er aftur settur í, hrist og hvolfst við í 30 sekúndur. Ekki skal hrist of kröftuglega ef skilvinda er ekki notuð í 6.2.7.
- 6.2.7. Búnaðurinn er látinn standa uns efra vökvalagið er orðið hreint og hefur greinilega skilið sig frá neðra laginu. Við skiljunina má einnig notast við hentuga skilvindu (5.7).

Aths.:

Ef notuð er skilvinda sem gengur ekki fyrir þriggja fasa hreyfli geta neistar myndast og því verður að gæta þess að ekki komi til sprengingar eða eldur kvikni í etergufum, sem berast til dæmis úr brotnu röri.

- 6.2.8. Tappinn er tekinn úr, hann og innanverður háls búnaðarins skolaður með fáeinum millflítrum af blönduðu leysiefni (4.5) og skolvökvanum leyft að renna inn í búnaðinn. Flytja skal varlega eins mikið og hægt er af efra laginu, með afhellingu eða með sogara (5.6), í undirbúna kolbuna (6.2.1).

Aths.:

Ef sogari er ekki notaður við flutninginn getur þurft að bæta við dálitlu af vatni til að lyfta skilfletinum milli laganna tveggja til að auðvelda afhellingu.

- 6.2.9. Hálsinn á búnaðinum er skolaður að utan og innan eða efri og neðri hlutinn á sogaranum með fáeinum millflítrum af blönduðu leysiefni (4.5). Skolvökvanum utan á búnaðinum er leyft að renna inn í kolbuna og skolvökvanum innan á hálsinum og úr sogaranum leyft að renna inn í útdráttarbúnaðinn.

- 6.2.10. Útdrátturinn er endurtekinn með aðferðunum í 6.2.5 til 6.2.9, að báðum meðtöldum, en aðeins skal nota 15 ml af díetýleteri og 15 ml af léttum alkönum.
- 6.2.11. Útdráttur fer fram í þriðja sinn samkvæmt 6.2.10 en lokahreinsuninni er sleppt (6.2.9).
Aths.:
Ekki ber skylda til að framkvæma þriðja útdráttinn þegar greind eru sýni af ósykraðri, niðurseyddri undanrennu eða sykraðri niðurseyddri undanrennu.
- 6.2.12. Eins mikið leysiefni (að meðtöldu etanóli) er látið gufa upp eða eimast og hægt er. Ef kolban er of lítil verður nauðsynlegt að fjarlægja sumt af leysiefninu þannig eftir hvern útdrátt.
- 6.2.13. Þegar lyktin af leysiefni er orðin óveruleg er kolban sett á hliðina í hitaskápinn og hituð í eina klukkustund.
- 6.2.14. Kolban er tekin úr skápnun, látin kólna að stofuhita og vegin með 0,1 mg nákvæmni.
- 6.2.15. Aðgerðir 6.2.13 og 6.2.14 eru endurteknaðar með hitunartíma í 30 til 60 mínútur uns munurinn á tveimur vigtunum sem gerðar eru hver á eftir annari er orðinn minni en 0,5 mg eða þar til massinn eykst. Ef massinn eykst skal nota lægsta gildið við útreikningana (7.1). Lokavigtunin skal skráð sem M_1 g.
- 6.2.16. 15 til 25 ml af léttum alkönunum er bætt við til að fá staðfest að útdregna efnið sé fyllilega leysanlegt. Leysiefnið skal hitað varlega og hrært upp í því þar til öll fita er uppleyst.
- 6.2.16.1. Ef útdregna efnið er fyllilega leysanlegt í léttu alkönunum, þá er fitumassinn munurinn milli vigtananna í 6.2.1 og 6.2.15.
- 6.2.16.2. Ef óleysanlegt efni finnst, eða óþekkt efni, skal draga út alla fitu úr kolbunum með endurteknum þvotti með heitum léttum alkönunum, og óleysta efnið látið setjast fyrir hverja afhellingu. Háls kolbunnar skal hreinsaður að utan þrisvar sinnum. Kolban skal hituð, sett á hliðina í hitaskápinn í eina klst. og látin kólna að stofuhita eins og áður (6.2.1) og vegin með 0,1 mg nákvæmni. Fitumassinn er munurinn á milli massans sem fæst í 6.2.15 og þessa lokamassa.

7. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA

7.1. Útreikningur

Massi útdreginnar fitu í grömmum er:

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

og fituinnihald sýnisins, sett fram sem hundraðshluti, er:

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

þar sem:

M_1 = massi, í grömmum, kolbu M með fitu eftir stig 6.2.15;

M_2 = massi, í grömmum, kolbu M eftir stig 6.2.1 eða, ef um er að ræða óleyst efni eða óþekkt, eftir stig 6.2.16.2;

B_1 = massi, í grömmum, kolbu B með núllprófgildi eftir stig 6.2.15;

B_2 = massi, í grömmum, kolbu B eftir stig 6.2.1 eða, ef um er að ræða óleyst efni eða óþekkt, eftir stig 6.2.16.2;

S = massi sýnisins, í grömmum.

7.2. Endurtekningarrhæfni

Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 0,05 g af fitu í hverjum 100 g vöru.

AÐFERÐ 4: ÁKVÖRDUN FITUINNIHALDS Í ÞURRKAÐRI MJÓLK**(RÖSE-GOTTLIEB-AÐFERÐ)****1. UMFANG OG GILDISSVIÐ**

Með þessari aðferð er unnt að ákvarða fituinnihald í:

- þurrkaðri fituríkri mjólk og fituríku mjólkurdufti,
- þurrkaðri nýmjólk og nýmjólkurdufti,
- þurrkaðri léttmjólk og léttmjólkurdufti,
- þurrkaðri undanrennu og undanrennudufti.

2. SKILGREINING

Fituinnihald þurrkaðrar mjólkur: Fituinnihald eins og það er ákvarðað með þessari aðferð.

3. MEGINREGLA

Fituinnihaldið er ákvarðað með útdrætti fitunnar úr ammóníak-alkóhóllaun sýnisins með díetýleter og léttum alkönnum með uppgufun leysiefnanna og vigtun afgang og útreikningi á hundraðshluta af massa sýnisins, í samræmi við meginreglu Röse-Gottliebs.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni eiga að samrýmast skilyrðum sem tilgreind eru í núllprófinu (6.1). Ef nauðsyn ber til verður að endureima hvarfefnin með um það bil 1 g af mjólkurfitu í hverjum 100 ml af leysiefni.

- 4.1. Ammóníaklausn, um það bil 25% (m/m) NH_3 (styrkur við 20°C nálægt 0,91 g/ml), eða sterkari lausn með þekktum styrk.
- 4.2. Etanól, $96 \pm 2\%$ (v/v) eða, ef það er ekki tiltækt, etanól eðlisbreytt með metanóli, etýlmetýlketóni eða léttum alkönnum.
- 4.3. Díetýleter, peroxíðlaus.
Aths. 1:
Við peroxíðaprófun skal setja út í 10 ml af eter í litlu glasi með glertappa, sem hefur verið skolaður áður með eter, 1 ml af nýútbúinni 10% lausn af kalíumjodí. Blandan er hrist og látin standa í eina mínútu. Gulur litur á ekki að koma fram í lögunum.
Aths. 2:
Hægt er að halda díetýleter peroxíðlausum með því að bæta við blautri sinkþynnu sem hefur verið gegndreypt í þynntri, súrri koparsúlfatlausn í eina mínútu og síðan þvegin upp úr vatni. Í hvern lítra skal setja um það bil 8 000 mm² sinkþynnu; hún er klippt í ræmur sem ná að minnsta kosti hálfu leið upp í flátið.
- 4.4. Léttir alkanar, með suðumark á bilinu 30 til 60 °C.
- 4.5. Blandað leysiefni, útbúið skömmu fyrir notkun með því að blanda saman jafnstórum skömmtum af díetýleter (4.3) og léttum alkönnum (4.4) (þar sem vísað er til blandaðs leysiefnis má nota í staðinn annaðhvort díetýleter eða léttu alkana).

5. BÚNAÐUR

- 5.1. Fínvog.
- 5.2. Hentug útdráttarrör eða -kolbur, með slípuðum glertöppum eða öðrum lokunarbúnaði sem notuð leysiefni hafa ekki áhrif á.
- 5.3. Kolbur, þunnar og flatbotna, sem rúma 150 til 250 ml.
- 5.4. Hitaskápur með eðlilegum loftþrýstingi, vel loftræstur og hitastýrður með hitastilli (stilltur á $102 \pm 1^\circ\text{C}$).

- 5.5. Suðusteinarnar, fitulausir, ógljúpir og sem molna ekki við notkun, t.d. glerperlur eða molar af silíkonkarbít (notkun þessa efnis er valfrjálst; sjá 6.2.1).
- 5.6. Vatnsbað, 60 til 70°C.
- 5.7. Sogari sem passar við útdráttarrörin.
- 5.8. Skilvinda (valfrjálst).

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Núllpróf

Um leið og fituinnihald sýnisins er ákvarðað skal gera núllpróf á 10 ml vatns með sama útdráttarbúnaði, með sömu hvarfefnum í sama magni og með sömu aðferð og lýst er hér að aftan, að undanskildu atriði 6.2.2. Ef núllprófgildið fer yfir 0,5 mg verður að rannsaka hvarfefnin og hreinsa eða nota önnur efni í stað óhreinna hvarfefna.

6.2. Ákvörðun

- 6.2.1. Kolba (5.3) (ef nauðsynlegt þykir er nokkrum suðusteinum (5.5) bætt út í til að tryggja hæga suðu þegar leysiefnin verða fjarlægð) er þurrkuð í hitaskápnunum (5.4) í hálfu til heila klukkustund. Kolban er látin kólna að stofuhita og að því loknu er hún vegin með 0,1 mg nákvæmni.
- 6.2.2. 1 g af nýmjólkurdufti eða 1,5 g af léttmjólkur- eða undanrennudufti er vegið, með 1 mg nákvæmni, beint eða með mismun í útdráttarbúnaðinn (5.2). 10 ml af vatni er bætt við og hrist varlega uns mjólkurduftið er fyllilega tvístrað (hugsanlega þarf að hita sum sýni).
- 6.2.3. Bætt er við 1,5 ml af ammóníaki (25%) (4.1) eða sambærilegum skammti af sterkari lausn og hitað í vatnsbaði (5.6) við 60 til 70° í 15 mínútur og hrist öðru hverju. Kælt, til dæmis undir rennandi vatni.
- 6.2.4. Bætt er við 10 ml af etanóli (4.2) og vökvunum blandað varlega en rækilega saman í ólukuðum búnaðinum.
- 6.2.5. Bætt er við 25 ml af díetýleter (4.3). Látið kólna undir rennandi vatni. Búnaðinum er lokað og hrist kröftuglega og hvolft við nokkrum sinnum í eina mínútu.
- 6.2.6. Tappinn er fjarlægður varlega og bætt við 25 ml af léttum alkönunum (4.4) og fyrstu millflítrarnir notaðir til að skola tappann og innanverðan háls búnaðarins og skolvökvanum leyft að renna inn í búnaðinn. Tappinn er aftur settur í, hrist og hvolft við í 30 sekúndur. Ekki skal hrist of kröftuglega ef skilvinda er ekki notuð í 6.2.7.
- 6.2.7. Búnaðurinn er látinn standa uns efra vökvalagið er orðið tært og hefur greinilega skilið sig frá neðra vökvalaginu. Við skiljunina má einnig notast við hentuga skilvindu (5.8).

Aths.:

Ef notuð er skilvinda sem gengur ekki fyrir þriggja fasa hreyfli geta neistar myndast og því verður að gæta þess að ekki komi til sprengingar eða eldur kvikni í etergufum, sem berast til dæmis úr brotnu röri.

- 6.2.8. Tappinn er tekinn úr, hann og innanverður háls búnaðarins skolaður með fáeinum millflítrum af blönduðu leysiefni (4.5) og skolvökvanum leyft að renna inn í búnaðinn. Flytja skal varlega eins mikið og hægt er af efra laginu, með afhellingu eða með sogara (5.7), í undirbúna kolbuna (6.2.1).

Aths.:

Ef sogari er ekki notaður við flutninginn getur þurft að bæta við dálitlu af vatni til að lyfta skilfletinum milli laganna tveggja til að auðvelda afhellingu.

- 6.2.9. Hálsinn á búnaðinum er skolaður að utan og innan eða efri og neðri hlutinn á sogaranum með fáeinum millflítrum af blönduðu leysiefni. Skolvökvanum utan á búnaðinum er leyft að renna inn í kolbuna og skolvökvanum innan á hálsinum og úr sogaranum leyft að renna inn í útdráttarbúnaðinn.

- 6.2.10. Útdráttur er endurtekinn með aðferðunum í 6.2.5 til 6.2.9, að báðum meðtöldum, en aðeins skal nota 15 ml af díetýleter og 15 ml af léttum alkönnum.
- 6.2.11. Útdráttur fer fram í þriðja sinn samkvæmt 6.2.10 en lokahreinsuninni er sleppt (6.2.9).
Aths.:
Ekki ber skylda til að framkvæma þriðja útdráttinn þegar greind eru sýni af þurrkaðri undanrennu.
- 6.2.12. Eins mikið leysiefni (að meðtöldu etanóli) er látið gufa upp eða eimast og hægt er. Ef kolban er of lítil verður nauðsynlegt að fjarlægja sumt af leysiefninu þannig eftir hvern útdrátt.
- 6.2.13. Þegar lyktin af leysiefni er orðin óveruleg er kolban sett á hliðina í hitaskápinn og hituð í eina klukkustund.
- 6.2.14. Kolban er tekin úr skápnum, látin kólna að stofuhita eins og áður (6.2.1.) og vegin með 0,1 mg nákvæmni.
- 6.2.15. Aðgerðir 6.2.13 og 6.2.14 eru endurteknaðar með hitunartíma í 30 til 60 mínútur uns munurinn á tveimur vigtunum sem gerðar eru hver á eftir annarri er orðinn minni en 0,5 mg eða þar til massinn eykst. Ef massinn eykst skal nota lægsta gildið við útreikningana (7.1). Lokavigtunin skal skráð sem M_1 g.
- 6.2.16. 15 til 25 ml af léttum alkönnum er bætt við til að fá staðfest að útdregna efnið sé fyllilega leysanlegt. Leysiefnið skal hitað varlega og hrært upp í því þar til öll fita er uppleyst.
- 6.2.16.1. Ef útdregna efnið er fyllilega leysanlegt í léttu alkönunum, þá er fitumassinn munurinn milli vigtananna í 6.2.1 og 6.2.15.
- 6.2.16.2. Ef óleysanlegt efni finnst, eða óþekkt efni, skal draga út alla fitu úr kolbunum með endurteknum þvotti með heitum léttum alkönnum, og óleysta efnið látið setjast fyrir hverja afhellingu. Háls kolbunnar skal skolaður að utan þrisvar sinnum.
Kolban skal hituð, sett á hliðina í hitaskápinn í eina klst. og látin kólna að stofuhita eins og áður (6.2.1) og vegin með 0,1 mg nákvæmni. Fitumassinn er munurinn á milli massans sem fæst í 6.2.15 og þessa lokamassa.

7. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA

7.1. Útreikningur

Massi útdreginnar fitu í grömmum er:

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

og fituinnihald sýnisins, sett fram sem hundraðshluti, er:

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

þar sem:

M_1 = massi, í grömmum, kolbu M með fitu eftir stig 6.2.15;

M_2 = massi, í grömmum, kolbu M eftir stig 6.2.1 eða, ef um er að ræða óleyst efni eða óþekkt, eftir stig 6.2.16.2;

B_1 = massi, í grömmum, kolbu B með núllprófgildi eftir stig 6.2.15;

B_2 = massi, í grömmum, kolbu B eftir stig 6.2.1 eða, ef um er að ræða óleyst efni eða óþekkt, eftir stig 6.2.16.2;

S = massi sýnisins, í grömmum.

7.2. Endurtekningarrhæfni

Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 0,2 g af fitu í hverjum 100 g vöru, nema í undanrennudufti, þar má munurinn ekki vera meiri en 0,1 g af fitu í hverjum 100 g vöru.

AÐFERÐ 5: ÁKVÖRÐUN SÚKRÓSAINNIHALDS**(LJÓSVENDIMÆLING)****1. UMFANG OG GILDISSVIÐ**

Með þessari aðferð er unnt að ákvarða súkrósainnihald í:

- sykraðri niðurseyddri nýmjólk,
- sykraðri niðurseyddri léttmjólk,
- sykraðri niðurseyddri undanrennu.

Í sýnum má ekki vera invertsykur.

2. SKILGREINING

Súkrósainnihald í sykraðri niðurseyddri mjólk: Súkrósainnihald eins og það er ákvarðað með þessari aðferð.

3. MEGINREGLA

Aðferðin byggist á meginreglu Clerget-hverfingar; mild meðhöndlun sýnisins með sýru sem veldur fullkomnu vatnsrofi súkrósa en nær engu í laktósa eða öðrum sykrum. Súkrósainnihaldið er fengið út frá breytingum á snúningsgetu lausnarinnar.

Tær síuvökvi af lausninni, án snúningsbreytingar frá laktósa, er fenginn með ammóníaksmeðferð og síðan hlutleystur og gerður tær með því að bæta við sinkasetat- og kalíumhexasýanferrat-(II)-lausnum.

Í hluta síuvökvans er súkrósinn vatnsrofinn á sérstakan hátt.

Súkrósainnihaldið er reiknað út frá snúningi síuvökvans fyrir og eftir hverfingu með viðeigandi formúlum.

4. HVARFEFNI

- 4.1. Sinkasetatlausn, 1 M: 21,9 g af kristölluðu sinkasetatdihýdrati $Zn(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$ og 3 ml af ísediki skal leysa upp í vatni og fylla upp í 100 ml með vatni.
- 4.2. Kalíumhexasýanferrat-(II)-lausn, 0,25 M: 10,6 g af kristölluðu kalíumhexasýanferrat-(II)-trihýdrati $K_4[Fe(Cn)_6] \cdot 3H_2O$ eru leyst upp í vatni og fyllt upp í 100 ml með vatni.
- 4.3. Saltsýrulausn, $6,35 \pm 0,20$ M (20 til 22%) eða $5,0 \pm 0,2$ M (16 til 18%).
- 4.4. Ammóníakslausn, $2,0 \pm 0,2$ M (3,5%).
- 4.5. Ediksýrulausn, $2,0 \pm 0,2$ M (12%).
- 4.6. Brómóþýmólblár efnavisir, 1% (m/v) lausn í etanóli.

5. BÚNAÐUR

- 5.1. Vog, nákvæmni 10 mg.
- 5.2. Ljósvendimælingarsúla, 2 dm, með nákvæmlega kvarðaða lengd.

- 5.3. Ljósmyndmælir og súkrósamælir:
- Ljósmyndmælir með natríumljósi eða grænu kvikasilfursljósi (kvikasilfursgufulampi með strendingi eða Wratten Screen nr. 77 A), með að minnsta kosti 0,05 gráðu hornastærð.
 - Súkrósamælir með alþjóðlegum sykurskala, með hvítt ljós sem fer í gegnum 15 mm síu með 6% lausn af kalíumbíkrómáti, eða natríumljós, með nákvæmni upp á minnsta kosti 0,1° á alþjóðlega sykurskalanum.

5.4. Vatnsbað, stillt á $60 \pm 1^\circ\text{C}$.

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Eftirlitsákvörðun

Til að staðla vinnuaðferðina, hvarfefni og búnað skal framkvæma tvöfalda eftirlitsákvörðun, eins og lýst er að neðan, með blöndu sem í eru 100 g af mjólk og 18 g af hreinum súkrósa eða blöndu með 110 g af undanrennu og 18 g af hreinum súkrósa, er samsvarar 40 g af niðurseyddri mjólk með 45% af súkrósainnihaldi. Sykurinnihaldið er reiknað samkvæmt formúlunum í lið 7, og M, F og P í formúlu 1 stendur fyrir magn mjólkur sem tekið er og fitu- og prótínnihald þessarar mjólkur, og í formúlu 2 kemur M fyrir gildið 40,00. Meðaltal gildanna má ekki víkja meira en 0,2% frá 45,0%.

6.2. Ákvörðun

- 6.2.1. Um það bil 40 g af vel blönduðu sýninu eru vegin með 10 mg nákvæmni í 100 ml bikarglas. 50 ml af heitu vatni (80 til 90°C) er bætt við og hrært vel.
- 6.2.2. Blandan er flutt magnbundið í 200 ml mælikolbu og bikarinn skolaður nokkrum sinnum með 60°C heitu vatni þar til heildarrúmmálið er orðið 120 til 150 ml. Blandist og látið kólna að stofuhita.
- 6.2.3. 5 ml af þynntri ammóníakslausn (4.4) er bætt við. Blandist aftur og látið standa í 15 mínútur.
- 6.2.4. Ammóníakið er hlutleyst með því að bæta við nægu magni af þynntri ediksýrulausninni (4.5). Nákvæmur fjöldi ml er ákvarðaður fyrir títrun ammóníakslausnarinnar með brómóþýmólbláu sem efnavísi (4.6). Blandist.
- 6.2.5. 12,5 ml af sinkasetatlausninni (4.1) er bætt við varlega um leið og kolbunni er snúið.
- 6.2.6. 12,5 ml af kalíumhexasýanferrát-(II)-lausn (4.2) er bætt við á sama hátt og asetatlausninni.
- 6.2.7. Innihald kolbunnar er hitað upp í 20°C og fyllt upp að 200 ml markinu með 20°C heitu vatni.
Aths.: Á öllum þeim stigum sem lýst hefur verið hingað til skal bæta vatni og hvarfefnum við á þann hátt að ekki myndist loftbólur og til að komast hjá því á alltaf að snúa kolbunni við blöndun en ekki hrista hana. Ef loftbólur myndast áður en fyllt er upp að 200 ml markinu má eyða þeim með því tengja kolbuna um tíma við sogdælu og snúa kolbunni.
- 6.2.8. Þurr tappi er settur í kolbuna og blandað vandlega með því að hrista hana rækilega.
- 6.2.9. Látið standa í nokkrar mínútur, því næst síað gegnum þurran síupappír og fyrstu 25 ml af síuvökvanum fleygt.
- 6.2.10. Bein skautun: Ljós-snúningur síuvökvens er ákvarðaður við $20 \pm 1^\circ\text{C}$.
- 6.2.11. Hverfing: 40 ml síuvökvens að ofan eru fluttir með rennipípu í 50 ml mælikolbu. 6,0 ml af 6,35 M saltsýru eða 7,5 ml af 5,0 M saltsýru (4.3) er bætt við.
Kolban er sett í vatnsbað við 60°C í 15 mínútur og þess gætt að hún sé öll ofan í baðinu. Vökvinn er blandaður með snúningi fyrstu fimm mínúturnar og á þeim tíma á innihald kolbunnar að hafa náð hitanum

í vatnsbaðinu. Látið kólna í 20°C og fyllt upp með 20°C heitu vatni. Blandist og látið standa eina klst. við þennan hita.

6.2.12. Hverfiskautun

Snúningur hverfillausnar er ákvarðaður við $20 \pm 0, 2^\circ\text{C}$. (Ef mismunur á hita T vökvans í skautunarrörinu er meiri en $0, 2^\circ\text{C}$ frá 20°C við mælinguna skal leiðrétta hitann samkvæmt því sem segir í lið 7.2).

7. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA

7.1. Reikniaðferð

Súkrósainnihaldið er reiknað með eftirfarandi formúlum:

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

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

þar sem:

S = súkrósainnihaldið;

M = massi vegins sýnis í grömmum;

F = hundraðshluti fitu í sýninu;

P = hundraðshluti prótíns ($N \times 6,38$) í sýninu;

V = rúmmál í ml sem sýnið er þynnt í fyrir síun;

v = leiðrétting í ml fyrir rúmmál botnfallsins sem myndast þegar vökvinn er gerður tær;

D = aflestur af ljósvendimæli (skautun fyrir hverfingu);

I = aflestur af ljósvendimæli eftir hverfingu;

L = lengd ljósvendimælirörsins í dm;

Q = hverfipáttur; gildið er gefið upp að neðan.

Athugasemdir:

a) Þegar nákvæmlega 40,00 g af niðurseyddri mjólk eru vigtuð og notaður er ljósvendimælir með natríumljósi, hornagráðum og 2 dm ljósvendimæliröri við $20,0 \pm 0, 1^\circ\text{C}$ má reikna súkrósainnihaldið í venjulegri niðurseyddri mjólk ($C = 9$) út frá eftirfarandi formúlu:

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

b) Ef hverfiskautunin er mæld við annan hita en 20°C skal margfalda tölurnar með:

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

7.2. Gildi hverfipáttarins Q

Eftirfarandi formúlur gefa nákvæm gildi fyrir Q, fyrir mismunandi ljósgjafa með leiðréttingum fyrir styrk og hitastig:

Natríumljós og ljósvendimælir með hornagráðum:

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

Grænt kvikasilfursljós og ljósvendimælir með hornagráðum:

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

Hvít ljós með díkrómatsíu og súkrósamælir með alþjóðlegum sykurskalagráðum:

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

Í formúlunum að ofan er:

C = hundraðshluti alls sykurs í skautaðri hverfillausninni,

T = hiti hverfillausnarinnar við aflestur ljósvendimælis.

Aths. 1:

Hundraðshluti alls sykurs C í hverfillausninni má reikna út frá beinum aflestri og breytingu við hverfingu á venjulegan hátt, þegar venjuleg gildi fyrir sérstakan snúning súkrósa, laktósa og invertsykurs eru notuð.

Leiðréttingin $0,0006 (C - 9)$ o.s.frv. er aðeins nákvæm þegar C er um það bil 9; þessari leiðréttingu skal sleppt vegna venjulegrar niðseyddrar mjólkur, þar sem C er nálægt 9.

Aths. 2:

1°C frávik frá 20°C breyta litlu um beinan aflestur, en meiri frávik en 0, 2°C í invertlestri þarf að leiðrétta. Leiðréttingin - 0,0033 (T - 20) o.s.frv. er aðeins nákvæm á bilinu 18°C til 22°C.

7.3. Endurtekningsræfni

Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 0,3 g af súkrósa í hverjum 100 g af niðurseyddri mjólk.

AÐFERÐ 6: ÁKVÖRÐUN MJÓLKURSÝRU- OG LAKTATAINNIHALDS

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Með þessari aðferð er unnt að ákvarða innihald mjólkursýru og laktata, sem mjólkursýru, í:

- þurrkaðri fituríkri mjólk og fituríku mjólkurdufti,
- þurrkaðri nýmjólk og nýmjólkurdufti,
- þurrkaðri léttmjólk og léttmjólkurdufti,
- þurrkaðri undanrennu og undanrennuþufti.

2. SKILGREINING

Mjólkursýru- og laktatainnihald í þurrmjólk: magn mjólkursýru og laktata, gefið upp sem mjólkursýra, eins og það er ákvarðað með tilgreindri aðferð.

3. MEGINREGLA

Fita, prótín og laktósi eru samtímis fjarlægð úr sýnislausn með því að bæta við koparsúlfati og kalsíumhýdroxíði, síðan er síað.

Mjólkursýrunni og laktötunum í síuvökvanum er breytt í asetalddehyð með óblandaðri brennisteinssýru og hjálp kopar-(II)-súlfats.

Mjólkursýruinnihaldið er ákvarðað með litemnamæli og notað p-hýdroxýdífenýl.

Mjólkursýru- og laktatainnihaldið er sett fram sem mg af mjólkursýru í hverjum 100 g af fitulausu þurrefni.

4. HVARFEFNI

- 4.1. Kopar-(II)-súlfatlausn: 250 g af kopar-(II)-súlfati ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) eru leyst upp í vatni og þynnt í 1 000 ml með vatni.
- 4.2. Kalsíumhýdroxíðsviflausn.
 - 4.2.1. 300 g af kalsíumhýdroxíði ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) eru mulin í mortéli með vatni, í allt 900 ml. Sviflausnina á að útbúa rétt fyrir notkun.
 - 4.2.2. 300 g af kalsíumhýdroxíði ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) eru mulin í mortéli með vatni, í allt 1400 ml. Sviflausnina á að útbúa rétt fyrir notkun.
- 4.3. Brennisteinssýru-kopar-(II)-súlfatlausn: 300 ml af brennisteinssýru, 95,9 til 97,0% (m/m) af H_2SO_4 , 0,5 ml af kopar-(II)-súlfatlausninni (4.1) er bætt við.
- 4.4. p-hýdroxýdífenýl($\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$)lausn: 0,75 g af p-hýdroxýdífenýli eru leyst upp með hristingi við vægan hita í 5 ml af natriumhýdroxíðsvatnslausn, með 5 g NaOH í hverjum 100 ml. Þynnt í 50 ml með vatni í mælikolbu. Lausnin er geymd í brúnni glerflösku á dimmum og svölum stað. Notist ekki ef litur breytist eða verður óskír. Geymist í mesta lagi í þrjá sólarhringa.

- 4.5. Staðallausn mjólkursýru: 0,1067 g af litúmlaktati ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOLi}$) eru leyst upp rétt fyrir notkun í vatni og þynnt upp í 1 000 ml í mælikolbu. 1 ml af þessari lausn samsvarar 0,1 mg af mjólkursýru.
- 4.6. Stöðluð uppleyst þurrmjólk: Greina skal fyrir fram sýni af hágæða þurrmjólk. Við gerð línurits skal velja sýni með minnsta mjólkursýruinnihaldinu, ekki meira en 30 mg af mjólkursýru í hverjum 100 g af fitulausu þurrefni. Farið skal eftir því sem segir í 6.2.1 og 6.2.2 hér að aftan.

5. BÚNAÐUR

- 5.1. Fínvog.
- 5.2. Litrófsmælir fyrir aflestur við 570 nm bylgjulengd.
- 5.3. Vatnsbað við $30 \pm 2^\circ\text{C}$.
- 5.4. Mortél og stautur.
- 5.5. Súpappír (Schleicher og Schull 595, Whatman 1 eða sambærilegt).
- 5.6. Tilraunaglös, pýrex eða sambærileg (stærð 25 sinnum 150 mm).

Aths.:

Öll glervara verður að vera fullkomlega hrein og einungis ætluð til notkunar við ákvörðun af þessu tagi. Glervöru með botnfalli skal hreinsa með óblandaðri saltsýru fyrir þvott.

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Núllpróf

Núllpróf er framkvæmt með því að láta 30 ml af vatni í 50 ml mæliglas og meðhöndla glasið eins og segir í 6.2.4 til 6.2.11, að báðum meðtöldum. Ef mælt núllprófgildi miðað við vatn fer yfir jafngildi 20 mg af mjólkursýru í hverjum 100 g af fitulausu þurrefni verður að rannsaka hvarfefnin og hreinsa eða nota önnur efni í stað óhreinna hvarfefna. Núllprófið skal fara fram um leið og sýnið er greint.

6.2. Ákvörðun

Aths.: Forðast skal mengun af völdum óhreininda, einkum munnvatns og svita.

- 6.2.1. Magn fitulausra þurrefna, (a) g, í sýninu er ákvarðað með því að draga fituinnihaldið (fengið með aðferð 4) og rakainnihaldið (fengið með aðferð 2) frá 100.
- 6.2.2. $\frac{1000}{(a-10)}$ g af sýninu eru vegin með 0,1 g nákvæmni. Þessu magni er bætt við 100 ml af vatni og blandað vandlega.
- 6.2.3. 5 ml af lausninni eru fluttir með rennipípu í 50 ml mæliglas og þynnt með vatni upp í um það bil 30 ml.
- 6.2.4. 5 ml af kopar-(II)-súlfatlausn (4.1) er bætt varlega út í um leið og hrist er og látið standa í 10 mínútur.
- 6.2.5. 5 ml af kalsíumhýdroxíðsviflausninni (4.2.1) eða 10 ml af kalsíumhýdroxíðsviflausninni (4.2.2) er bætt varlega út í um leið og hrist er.
- 6.2.6. Þynnt upp í 50 ml með vatni, hrist rækilega og látið standa í 10 mínútur, loks síað. Fyrstu ml af síuvökvanum er fleygt.
- 6.2.7. 1 ml af síuvökvanum er fluttur með rennipípu í tilraunaglas (5.6).
- 6.2.8. 6,0 ml af brennisteinssýru – kopar-(II)-súlfatlausninni (4.3) er bætt út í glasið með mæli- eða rennipípu. Blandist.
- 6.2.9. Hitist í sjóðandi vatnsbaði í fimm mínútur. Látið kólna að stofuhita undir rennandi vatni.

- 6.2.10. Tveimur dropum af p-hýdroxýdífenýl-hvarfefni (4.4) er bætt út í og hrist kröftuglega til að dreifa hvarfefninu jafnt um vökvann. Glasið er sett í vatnsbað við $30 \pm 2^\circ\text{C}$; látið standa í 15 mínútur og hrist öðru hverju.
- 6.2.11. Glasið er sett í sjóðandi vatnsbað í 90 sekúndur. Látið kólna að stofuhita undir rennandi vatni.
- 6.2.12. Ljósþéttni miðað við núllprófið (6.1) er mæld innan þriggja klukkustunda á bylgjulengdinni sem er tilgreind í 5.2.
- 6.2.13. Ef ljósþéttni fer yfir hæsta punkt staðalferilsins skal endurtaka prófið með réttri þynningu síuvökvans í 6.2.6.
- 6.3. **Undirbúningur staðals**
- 6.3.1. 5 ml af uppleystri þurrmjólk (4.6) eru fluttir með rennipípu í fimm 50 ml mæligös. 0, 1, 2, 3 og 4 ml af staðallausninni (4.5) eru settir í hvert glasanna með rennipípu til að fá staðla sem samsvara 0, 20, 40, 60 og 80 mg af mjólkursýru í hverjum 100 g af fitulausu þurrefni í þurrkaðri mjólk.
- 6.3.2. Þynnt með vatni í um það bil 30 ml og sýnið meðhöndlað eins og segir í 6.2.4 til 6.2.11, að báðum meðtöldum.
- 6.3.3. Ljósþéttni staðlanna (6.3.1) miðað við núllprófið (6.1) er mæld á bylgjulengdinni sem tilgreind er í 5.2. Sýna skal á skýringarmynd ljósþéttni miðað við magn uppgefinnar mjólkursýru í 6.3.1, þ.e. 0 mg, 20 mg, 40 mg, 60 mg og 80 mg í hverjum 100 g af fitulausu þurrefni. Draga skal beina línu gegnum punktana, eins og best á við, og gera staðalferil með því að færa þessa línu samhliða við sjálfa sig þannig að hún liggi gegnum upphafspunktinn.

7. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA

7.1. Reikniaðferð

Ljósþéttni, sem er mæld samkvæmt 6.2.12 og 6.2.13, skal með hliðsjón af staðalferlinum breytt í mg af mjólkursýru í hverjum 100 g af fitulausu þurrefni í sýninu. Niðurstaðan er síðan margfölduð með þynningarþættinum, þar sem síuvökvinn hefur verið þynntur samkvæmt 6.2.13.

7.2. Endurtekningarhæfni

Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 8 mg af mjólkursýru í hverjum 100 g af fitulausu þurrefni í innihaldi upp í 80 mg. Í hærri gildum má þessi munur ekki fara yfir 10% af lágsta gildinu.

AÐFERÐ 7: ÁKVÖRÐUN FOSFATASAVIRKNI

(BREYTT SANDERS OG SAGER-AÐFERÐ)

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Með þessari aðferð er unnt að ákvarða fosfatasavirkni í:

- þurrkaðri fituríkri mjólk og fituríku mjólkurdufti,
- þurrkaðri nýmjólk og nýmjólkurdufti,
- þurrkaðri léttmjólk og léttmjólkurdufti,
- þurrkaðri undanrennu og undanrennufti.

2. SKILGREINING

Fosfatasavirkni í þurrmjólk er mæling á magni virkra alkalískra fosfatasa sem finnast. Hún er sett fram sem magn fenóls í μg , leyst með 1 ml af uppleystri þurrmjólk samkvæmt ákvörðun með aðferðinni hér að aftan.

3. MEGINREGLA

Fosfatasavirkni í þurrmjólk er ákvörðuð af hæfni fosfatasanna til að leysa fenól frá dínatríumfenýlfosfati. Magn leysts fenóls samkvæmt fyrirmæltum skilyrðum er ákvarðað með litrófsmælingu litarins sem kemur fram með Gibbs-hvarfefni.

4. HVARFEFNI**4.1. Lausn A**

Baríumbórathýdroxíðstuðpúðalausn: pH-gildi $10,6 \pm 0,1$ við 20°C .

25,0 g af baríumhýdroxíði ($\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) eru leyst upp í vatni og þynnt upp í 500 ml.

11,0 g af bórsýru (H_3BO_3) eru leyst upp í vatni og þynnt í 500 ml.

Lausnirnar tvær eru hitaðar í 50°C og blandað saman.

Lausnin er hrist og látin kólna að stofuhita.

pH-gildið er stillt á $10,6 \pm 0,1$ með baríumhýdroxíðlausninni og því næst er síað.

Lausnin skal geymd í íláti með þéttum tappa.

Fyrir notkun skal þynna stuðpúðalausnina með jafnmiklu magni af vatni.

4.2. Lausn B

Litaframköllunarstuðpúðalausn.

6,0 g af natríummetabórati (NaBO_2) (eða 12,6 g af $\text{NaBO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) og 20,0 g natríumklóríði (NaCl) eru leyst upp í vatni og þynnt í 1 000 ml með vatni.

4.3. Lausn C

Grunnstuðpúðalausn.

4.3.1. 0,5 g af dínatríumfenýlfosfati ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) eru leyst upp í 4,5 ml af lausn B (4.2). Tveimur dropum af lausn E (4.5) er bætt út í og látið standa í 30 mínútur. Líturinn er dreginn út með 2,5 ml bútanóls (4.10). Litaútdráttinn skal endurtaka ef nauðsyn ber til. Eftir aðskilnað er bútanólinu fleygt. Þessa lausn má geyma nokkra daga í kælikáp. Líturinn skal framkallaður og útdreginn einu sinni enn fyrir notkun.

4.3.2. 1 ml af þessari lausn er fluttur með rennipípu í 100 ml mælikolbu og fyllt upp að marki með lausn A. Stuðpúðalausnina skal búa til rétt fyrir notkun.

4.4. Lausn D

Felliefni.

3,0 g af sinksúlfati ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) og 0,6 g af kopar-(II)-súlfati ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) eru leyst upp í vatni og þynnt í 100 ml með vatni.

4.5. Lausn E

Gibbs-hvarfefni.

0,040 g af 2,6-díbrómókínnon-1,4-klórómíði ($\text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_2\text{Br}_2 \cdot \text{Nc1}$) eru leyst upp í 10 ml af 96% etanóli. Lausnin skal geymd í dökkri glerflösku í kælikáp. Þessu hvarfefni skal fleygt þegar það hefur aflitast.

4.6. Litapynningarstuðpúðalausn

10 ml af lausn B (4.2), litaframköllunarstuðpúðalausn, eru þynntir í 100 ml með vatni.

4.7. Koparsúlfatlausn

0,05 g af kopar-(II)-súlfati ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) eru leyst upp í vatni og þynnt í 100 ml með vatni.

4.8. Fenólstaðallausn

$0,200 \pm 0,001$ g af hreinu fenóli eru leyst upp í vatni og fyllt í 100 ml í mælikolbu með vatni. Þessa lausn má geyma nokkra mánuði í kælikáp. 10 ml af þessari lausn eru þynntir í 100 ml með vatni. Í þynntri lausninni eru 200 μg af fenóli í 1 ml og má nota til að útbúa fleiri þynntar lausnir.

4.9. Sodíð eimað vatn

4.10. n-bútanól.

5. BÚNAÐUR

5.1. Fínvog.

5.2. Vatnsbað, stillt með hitastilli á $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3. Litrósmælir fyrir aflestur við 610 nm bylgjulengd.

5.4. Súpappír (Schleicher og Schull 597, Whatman 42 eða sambærilegur súpappír).

5.5. Vatnsbað, sjóðandi.

5.6. Álþynna.

6. VINNUAÐFERÐ

Athugið:

1. Forðast skal sterkt sólarljós.
2. Allar glervörur, tappar og annar búnaður verður að vera fullkomlega hreinn. Lagt er til að hann sé hreinsaður og soðinn í vatni eða meðhöndlaður með gufu.
3. Forðast skal að nota plastbúnað (tappa til dæmis) því hann kann að innihalda fenól.
4. Í munnvatni eru fosfatasar; því verður að forðast rækilega að munnvatn komist í snertingu við sýnið.

6.1. **Undirbúningur sýnis**

6.1.1. 10 g af sýninu eru vegin með 0,1 g nákvæmni og leyst upp í 90 ml af vatni. Hitinn við upplausn duftsins má aldrei fara yfir 35°C .

6.2. **Ákvörðun**

6.2.1. Í hvort tilraunaglas skal setja 1 ml af uppleystri þurrmjólk sem er undirbúin samkvæmt 6.1.1.

6.2.2. Annað glasið er hitað í sjóðandi vatni í tvær mínútur. Breiða skal álþynnu (5.6) yfir glasið og vatnsbaðið (5.5) eða bikar, til dæmis, til að tryggja að allt glasið hitni. Látið kólna í köldu vatni að stofuhita. Þetta glas skal notað við núllprófið. Í öllum eftirfarandi aðgerðum eru glösin tvö meðhöndluð eins.

6.2.3. 10 ml af lausn C (4.3.2) er bætt við. Blandað og glasið sett í vatnsbað við 37°C (5.2).

6.2.4. Látið liggja 60 mínútur í vatnsbaðinu og hrist reglulega.

6.2.5. Glösin eru sett beint í sjóðandi vatnsbað (5.5) og hituð í tvær mínútur; látið kólna að stofuhita í köldu vatni.

6.2.6. 1 ml af lausn D (4.4) er bætt við, blandað og síað gegnum þurran súpappír; síuvökvanum er fleygt þar til fengist hefur tær vökvi.

6.2.7. 5 ml af síuvökva eru settir í tilraunaglös, 5 ml af lausn B (4.2) bætt við og 0,1 ml af lausn E (4.5). Blandað saman.

6.2.8. Liturinn er látinn framkallast við stofuhita í 30 mínútur og þess gætt að sólin skíni ekki beint á vökvann.

6.2.9. Ljósþéttni sýnislausnarinnar er mæld, miðað við núllgildið, á bylgjulengdinni í 5.3.

6.2.10. Ákvörðunin er endurtekin ef ljósþéttni lausnarinnar er meiri en þéttni staðalsýnisins með $20 \mu\text{g}$ af fenóli samkvæmt lið 7.

Ef farið er yfir þessi mörk skal þynna hæfilegt magn af uppleystri þurrmjólk samkvæmt 6.1.1 með hæfilegu magni af þessari mjólk, vel soðinni samkvæmt 6.2.2, til að gera þá fosfatasa sem fyrirfinnast óvirka.

7. GERÐ STAÐALFERILS
- 7.1. 1, 3, 5 og 10 ml af staðallausn, þynntri samkvæmt 4.8, eru fluttir með rennipípu í fjórar 100 ml mælikolbur og fyllt upp að marki með vatni; í þynningunum eru 2, 6, 10 og 20 μg af fenóli í hverjum ml.
- 7.2. 1 ml af vatni eða 1 ml af hverri staðallausn (7.1) er fluttur með rennipípu í tilraunaglösin til að fá röð sýna með 0 (núllgildi fengið með því að nota 1 ml af vatni), 2, 6, 10 og 20 μg af fenóli.
- 7.3. Því næst er 1 ml af kopar-(II)-súlfatlausninni (4.7), 5 ml af litþynningarstuðpúðalausninni (4.6), 3 ml af vatni og 0,1 ml af lausn E (4.5) fluttur með rennipípu í hvert tilraunaglas. Blandað saman.
- 7.4. Tilraunaglösin eru látin standa við stofuhita í 30 mínútur og þess gætt að sólin skíni ekki beint á þau.
- 7.5. Könnuð er gleypni lausnanna í hverju glasi samanborið við núllgildið, á bylgjulengdinni í 5.3.
- 7.6. Staðalferillinn er gerður með því að teikna gleypnigildin miðað við fenól-magnið í μg samkvæmt 7.2.
8. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA
- 8.1. **Útreikningur**
- 8.1.1. Tölurnar samkvæmt 6.2.9 eru umreiknaðar í μg af fenóli með hjálp staðalferilsins.
- 8.1.2. Fosfatasavirkni sem μg af fenóli í hverjum ml af uppleystri þurrmjólk er reiknuð samkvæmt eftirfarandi formúlu:
Fosfatasavirkni = $2,4 \times P$
þar sem P = fenól-magn í μg samkvæmt 8.1.1.
- 8.1.3. Ef nauðsynlegt var að þynna samkvæmt 6.2.10 eru niðurstöðurnar í 8.1.2 margfaldaðar með þynningarþætti.
- 8.2. **Endurtekningarrhæfni**
- Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 2 μg af fenóli leystu með 1 ml af uppleystri þurrmjólk.

AÐFERÐ 8: ÁKVÖRÐUN FOSFATASAVIRKNI

(ASCHAFFENBURG OG MÜLLEN-AÐFERÐ)

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ
- Með þessari aðferð er unnt að ákvarða fosfatasavirkni í:
- þurrkaðri fituríkri mjólk og fituríku mjólkurdufti,
 - þurrkaðri nýmjólk og nýmjólkurdufti,
 - þurrkaðri léttmjólk og léttmjólkurdufti,
 - þurrkaðri undanrennu og undanrennufti.
2. SKILGREINING
- Fosfatasavirkni í þurrmjólk er mæling á magni virkra alkalískra fosfatasa sem finnast. Hún er sett fram sem magn p-nítrófenóls í míkrógrömmum, sem hefur verið leyst með 1 ml af uppleystu sýninu, við þær aðstæður sem lýst er.
3. MEGINREGLA
- Uppleysta sýnið er þynnt með stuðpúðalausn við pH 10,2 og látið liggja við 37°C í tvær klukkustundir. Alkalískir fosfatar sem finnast í sýninu leysa við þessar aðstæður p-nítrófenól frá viðbættu dínatríum-

p-nítrófenýlfosfati. Leyst p-nítrófenól er ákvarðað með beinum samanburði við staðallitagler í einföldum samanburðarmæli með spegluðu ljósi.

4. HVARFEFNI

4.1. Natríumkarbónat-bíkarbónatstuðpúðalausn.

3,5 g af vatnsfirrtu natríumkarbónati og 1,5 g af natríumbíkarbónati eru leyst upp í vatni og þynnt í 1 000 ml í mælikolbu með vatni.

4.2. Grunnstuðpúðalausn.

1,5 g af dínatríum-p-nítrófenýlfosfati eru leyst upp í natríumkarbónat-bíkarbónatlausn (4.1) og þynnt í 1 000 ml í mælikolbu með lausn (4.1).

Þessi lausn er stöðug í einn mánuð ef hún er geymd í kælskáp ($\leq 4^\circ\text{C}$), en gera ætti litapróf á lausnum sem þannig eru geymdar – sjá 6, athugasemd númer 3.

4.3. Lausnir til að gera lausnir tærar.

4.3.1. Sinksúlfatlausn.

30,0 g af sinksúlfati (ZnSO_4) eru leyst upp í vatni og þynnt í 100 ml mælikolbu með vatni.

4.3.2. Kalíumhexasýanferrat-(II)-lausn.

17,2 g af kalíumhexasýanferrat-(II)-tríhýdrati ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) eru leyst upp og þynnt í 100 ml mælikolbu með vatni.

5. BÚNAÐUR

5.1. Fínvog.

5.2. Vatnsbað, stillt með hitastilli á $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3. Samanburðarmælir, með sérstakri skífu með staðallitagleri, kvarðað í μg p-nítrófenóli á ml mjólkur, og 2 sinnum 25 mm kúvettum.

6. VINNUAÐFERÐ

Athugið:

1. Eftir notkun verður að tæma tilraunaglös og skola í vatni, þvo þau síðan í heitu vatni með alkalísku þvottaefni og skola vandlega með hreinu, heitu kranavatni. Fyrir notkun verður svo að skola þau í vatni og þurrka.

Rennipípur skal skola vandlega í hreinu, köldu kranavatni strax eftir notkun og síðan skola þau í vatni og þurrka fyrir notkun.

2. Tappana í tilraunaglösunum skal skola vandlega í heitu kranavatni strax eftir notkun og sjóða síðan í tvær mínútur í vatni.

3. Grunnstuðpúðalausnin (4.2) á að haldast stöðug í minnst einn mánuð ef hún er geymd í kælskáp við 4°C eða minna. Gulur litur er merki um óstöðugleika. Sýnið er alltaf borið saman við soðna afurð með sömu grunnstuðpúðalausn og því er lagt til að lausnin sé ekki notuð ef niðurstaða litaaflestursins verður hærri en $10 \mu\text{g}$ við aflestur í 25 mm kúvettu í samanburðarmælinum með eimað vatn í annarri 25 mm kúvettu.

4. Notuð er sér rennipípa fyrir hvert sýni og skal forðast að munnvatn komist í hana.

5. Prófunin má aldrei fara fram í sterku sólarljósi.

6.1. Undirbúningur sýnis

10 g af dufti eru leyst upp í 90 ml af vatni. Hitinn má ekki vera hærri en 35°C við upplausnina.

6.2. Ákvörðun

- 6.2.1. 15 ml af grunnstuðpúðalausninni (4.2) eru fluttir með rennipípu í hreint, þurrt tilraunaglas og síðan 2 ml af uppleystu sýni (6.1) sem á að prófa. Glasinu er lokað, blandað saman með snúningi og sett í vatnsbað við 37°C (5.2).
- 6.2.2. Samtímis er í vatnsbaðið sett samanburðarglas með 15 ml af grunnstuðpúðalausn og 2 ml af soðnu enduruppleystu sýni eins og því sem verið er að prófa.
- 6.2.3. Að tveimur stundum liðnum eru bæði glösín tekin úr vatnsbaðinu, 0,5 ml af sinksúlfatfelli (4.3.1) bætt við, tappi settur í aftur, hrist rækilega og látið standa í þrjár mínútur. 0,5 ml af kalíumhexasýaníferat-(II)-felli (4.3.2) er bætt við, hrist vandlega og síð gegnum ríflaðan síupappír (5.4) og tær síuvökvinn látinn í hreint tilraunaglas.
- 6.2.4. Síuvökvinn er fluttur í 25 mm kúvettu og borinn saman við síuvökva soðna samanburðarsýnisins í samanburðarmælinum með sérstöku skífurni (5.3).

7. FRAMSETNING NIÐURSTAÐNA**7.1. Útreikningur**

Beinn aflestur samkvæmt 6.2.4 er skráður sem μg p-nítrófenól í hverjum ml sýnis eða ml af uppleystri þurrmjólk.

7.2. Endurtekningarræfni

Munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem gerðar eru á sama sýni, samtímis eða án þess að hlé verði á milli, af sama greinanda og við sams konar skilyrði, má ekki vera meiri en 2 μg af p-nítrófenóli leystu með 1 ml af uppleystri þurrmjólk.
