ПРИЛОЖЕНИЕ 1: МЕТОДИКИ

1. Определяне плътността на млякото

1.1. Общи положения

Под плътност на млякото се разбира отношението между масата на определен обем мляко при температура 20 ^{o}C и масата на същия обем дестилирана вода при температура 4 ^{o}C.

Плътността не може да служи самостоятелно като контролен показател при окачествяването. Чрез плътността могат да се установят ориентировъчно сухото вещество на млякото и сухия безмаслен остатък.

1.2. Вземане и подготовка на пробите за анализ

Вземане на проби от мляко и други млечни производни и подготовката им за анализ се извършва съгласно съответните ***Приложения*.**

Плътността на млякото се определя не по-рано от 2 часа след издояването му. В този момент млякото трябва да има температура от 10 до 25 ^{o}C.

Преди определянето на плътността млякото се разбърква добре. За да се избегне образуването на пяна, то внимателно се налива по стените на цилиндъра, който се държи в слабо наклонено положение.

Преди отчитането цилиндърът с млякото се поставя върху хоризонтална повърхност с такова положение към светлината, което да осигурява отчетлива видимост на скалата за лактоденziметрични градуси и температура.

1.3. Принцип на метода

Определянето на плътността на млякото се извършва с аерометър, наричан лактоденziметър (млекогъстомер) и се изразява с число, представляващо лактоденziметричните, млекомерни градуси, намалени 1000 пъти, или само с лактоденziметричните градуси.

1.4. Необходими уреди и реактиви

- Аерометър (лактоденziметър, млекомер);
- Цилиндър - с вътрешен диаметър, не по-малък от 5 см. и дължина, съответстваща на размерите на лактоденziметъра;
- Амоняк с предварително определена относителна плътност.

1.5. Извършване на определянето

Съвършено сух и чист, лактоденziметърът бавно се потапя в млякото по деление 1,030. Оставя се в свободно плаващо състояние.

Лактодензиметърът не трябва да се допира до стените на цилиндъра и да е отдалечен от тях най-малко 5 мм.
При отчитане на плътността очите трябва да се намират на една и съща равнина с мениска. Отчитането се прави на горния край на мениска с точност до 0,0005, а това на температурата - с точност до 0,5 ^{o}C.
Разликата между две паралелни определяния не трябва да е повече от 0,0005.

1.6. Преизчисляване стойностите по лактодензиметъра при 20 oC.

Ако млякото при определяне на плътността му има температура, по-висока или по-ниска от 20°C, отчетените стойности по лактодензиметъра се преизчисляват към 20°C.
Преизчисляването на плътността към 20°C се извършва по следния начин: на всеки температурен градус над 20°C към отчетената с млекомера величина се прибавят по 0,2° за кравето и козето и 0,25° за овчето и биволското мляко лактодензиметрични градуси или 0,0002, респективно 0, 00025 към плътността, а за всеки температурен градус под 20°C от отчетената с млекомера величина се изважда по 0,2 - 0,25 лактодензиметрични градуси или 0,0002 (0,00025) от плътността.

2. Определяне на маслената съдържание на млякото и млечните производни.

2.1. Общи положения

За провеждане на изследванията се използват реактиви чисти за анализ (р.ч.з.а.) и дестилирана вода или вода с равностойна чистота.

2.2. Вземане на пробите за анализ

Вземане на проби от мляко и млечни производни се извършва съгласно съответните ***Приложения*.**

2.3. Принцип на метода.

Методът се състои в разтваряне на протеините на млякото и млечните продукти със сярна киселина с определена концентрация в бутирометър и отделяне на мазнината под действието на амилов алкохол, нагряване и центрифугиране във вид на плътен прозрачен слой, чийто обем се измерва в градуираната част на бутирометъра.

2.4. Необходими уреди и реактиви

- Бутирометри за мляко, специални за обезмаслено мляко и сметана ;
- Гумени запушалки за бутирометри;
- Статив за бутирометри;

- Пипети специални или автоматични за мляко, сярна киселина и изоамилов алкохол от 1, 10 и 11 $см^3$;
- Пипети от 1 и 20 $см^3$;
- Стъклени чаши от 25 до 50 $см^3$;
- Центрофуга по Гербер;
- Водна баня;
- Живачни термометри до 100^oC със стойност на скалното деление 1$^\circ C$;
- Сярна киселина с плътност 1,82 при 20$^\circ C$ за определяне масленото съдържание на мляко;
- Изоамилов алкохол по Гербер с плътност 0,811 до 0,812.

2.5. Извършване на определянето

Подготовка на пробата за анализ.

Млякото се смесва добре така, че да се получи хомогенна смес на мазнината в пробата (при необходимост се загрява бавно до 35-40$^\circ C$) като внимателно се разклаща и се темперира на 20±2$^\circ C$. Пробите от мътеница и суроватка предварително се филтрират през двоен пласт марля, след което се темперират до 20±2$^\circ C$. Пробите от сметана се поставят във водна баня при температура 35 до 40$^\circ C$, разбърква се до получаване на хомогенна проба, след което се охлаждат до 20±2$^\circ C$.

2.6. Извършване на измерването.

С бутирометър за мляко

За мляко, суроватка, мътеница

С автоматична или специална пипета за киселина се отмерва 10 $см^3$ сярна киселина с d=1,820 $кг/м^3$ при 20$^\circ C$ в бутирометър за мляко. Внимателно по стените на бутирометъра се напластяват 11 $см^3$ от подготвената проба. Пипетата се задържа до пълно оттичане.

За сметана

От подготвената проба се измерват 10 г с грешка до 0,001 г прибавя се 50 $см^3$ вода. Сместа се разбърква и се загрява до 30-35$^\circ C$, разбърква се отново и се охлажда до 20±2$^\circ C$, след което се постъпва, както при млякото, като се използва сярна киселина с d=1,789 до 1,790 $кг/м^3$.

С бутирометър за сметана

За сметана

Измерват се 5 г от пробата в бутирометъра с грешка до 0,0001 г след което се прибавят 5 $см^3$ вода, 10 $см^3$ сярна киселина с d=1,780 до 1,790 $кг/м^3$ при 20 ^oC и 1 $см^3$ изоамилов алкохол. Бутирометърът се затваря с гумена запушалка и се разклаща до пълното разтваряне на протеините.

2.7. Изчисляване на резултатите.

С използване на бутирометър за мляко

Мляко, мътеница, суроватка.

По скалата на бутирометъра се отчитат направо грамовете мазнина в 100 г продукт. Когато млякото е пресечено, резултатът се увеличава с 0,1 г за всеки градус.

С използване на бутирометър за сметана.

Сметана

По скалата на бутирометрите се отчита, в проценти, направо съдържанието на мазнина в изследваните продукти.

2.8. Точност на измерването

С бутирометри за мляко

Разликата между две паралелни определяния не трябва да надвишава:

- за обезмаслено мляко, мътеница и суроватка - 0,05 г на 100 г продукт;
- за сметана - 0,5 г на 100 г продукт;
- за мляко - 0,1 г на 100 г продукт;

С бутирометър за сметана

Разликата между две паралелни определяния не трябва да надвишава 0,5 г на 100 г сметана.

3. Определяне на водното съдържание и сухото вещество в млякото и млечните производни.

3.1. Общи положения

Сухото вещество изразява съдържанието на мазнини, белтъчини, въглехидрати и соли.

3.2. Вземане на пробите за анализ

Вземане на проби от мляко и млечни производни се извършва съгласно съответните *Приложения*.

3.3. Същност на методите.

Водното съдържание се определя тегловно чрез изсушаване при температура (102±2)°C на претегленото количество продукт до постоянна маса, изразено в грамове на 100 г продукт.

Сухото вещество е масата на сухия остатък, получен след изсушаване на определено количество продукт при температура (102±2)°C до постоянна маса и се изразява в грамове на 100 г продукт.

3.4. Необходими уреди и реактиви

- аналитични везни с граница на натоварване 200 г и грешка 0,0002 г;
- живачни термометри от 0 до 100°С и от 0 до 150°С със стойност на скалното деление 1°С;
- пипети от 5 и 10 $см^3$, клас II;
- стъклени банки с шлифовани запушалки с вместимост 100-200 $см^3$;
- сушилня с термолегулатор за поддържане на температура (102±2)°С;
- ексикатор със силикагел или друг хигроскопичен материал;
- тегловни стъкла;
- щипки за тегловни стъкла;
- стъклени пръчки със заоблени краища;
- кварцов, морски или речен пясък.

3.5. Извършване на измерването:

Подготовка на пробата за анализ.

Млякото (суроватката, сметана, мътеница) се разбърква добре чрез неколкократно обръщане. При необходимост пробата се загрява бавно (до 38-40°С), смесва се добре и се охлажда до 20°С. Смесването и преливането се правят най-малко три пъти в сух и чист съд.

3.6. Провеждане на измерването

Тегловното стъкло с 20-30 г промит и накален пясък и стъклена пръчка се суши при (102±2)°С в продължение на 1 час, след което се изважда, захлупва се с капачката, темперира се в ексикатор (до 30 мин.) и се претегля масата с точност до 0,0005 г. В тегловното стъкло с пипета се поставят около 10 $см^3$ мляко, захлупва се и веднага се претегля. С помощта на стъклената пръчка млякото се размесва добре с пясъка и с открита капачка се нагрява на водна баня, докато се получи хомогенна маса. След това тегловното стъкло се поставя в сушилня с температура (102±2)°С, суши се 3 часа, изважда се, захлупва се с капачката, темперира се в ексикатор (до 30 мин) и се претегля масата. Тегловното стъкло се поставя отново в сушилнята и се суши 1 час, след което се изважда, темперира се и се претегля. Това се повтаря, докато разликата между две последователни изследвания е не по-голяма от 0,004 г. Ако при повторно или следващо изсушаване масата се увеличи, за изчисляване се взема масата на предшествуващото претегляне.

3.7. Изчисляване на резултатите.

Съдържанието на вода, в грамове на 100 г продукт (мляко и млечни производни), се определя по формулата

$$X = \frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} * 100$$

където
M1 - масата на стъклото с пясъка и стъклената пръчка, г;
M2 - масата на стъклото с пясъка, стъклената пръчка и пробата, взета за анализ преди сушене, г;
M3 - масата на стъклото с пясъка, пръчката и пробата след сушене, г;
Сухото вещество (Y) се изчислява по формулата:

$$Y = 100 - X$$

където X е изчисленото водно съдържание.

3.8. Точност на измерването.
Разликата между две паралелни измервания на една проба не трябва да бъде по-голяма от 0,2 г на 100 г продукт.

4. Определяне съдържанието на казеин в млякото.

4.1. Общи положения
Методиката е разработена съгласно метода на Волкер.
За провеждане на изследванията се използват реактиви чисти за анализ (ч.з.а.) и дестилирана вода или вода с равностойна чистота.

4.2. Вземане на пробите за анализ
Вземане на проби от мляко и млечни производни се извършва съгласно съответните *Приложения*.

4.3. Принцип на метода.
Добавеният към млякото формалин освобождава киселинни остатъци на белтъчните крайни групи, които се титрират с разтвор на натриева основа. Количеството на натриевата основа е пропорционално на съдържанието на казеин в млякото.

4.4. Необходими уреди и реактиви
- Чаши с ниска форма от 250 $см^3$;
- Пипети Фол - 25,5 $см^3$;
- Пипети Мор от 1 см3, с деление 0,1 $см^3$;
- Натриева основа ч.з.а. - 0,143 N разтвор;
- Формалин 40% ч.з.а. - прясно неутрализиран;
- Фенолфталеин - 2 % разтвор в 70 % етилов спирт;
- Калиев оксалат ч.з.а. 28 % воден разтвор;

- Кобалтов сулфат ч.з.а. 5 % воден разтвор.

4.5. Извършване на определянето

За краве мляко
Приготвяне на контролна проба.
В стъклена чаша се отмерват 20 $см^3$ от изследваното мляко и 1 $см^3$ 3 % воден разтвор на кобалтов сулфат. Пробата се разклаща и се получава слабо розово оцветяване, което служи като еталон в хода на изследването.

4.6. Провеждане на измерването

В стъклена чаша се отмерват 20 $см^3$ от млякото и се титрират с 0,1 N натриева основа, при индикатор фенолфталеин, до получаване цвета на контролната проба. Обемът на изразходваната натриева основа не се отчита.
Към неутрализираната проба се прибавят 4 $см^3$ 38-40 % формалин и розовото оцветяване на разтвора изчезва вследствие на освободените карбоксилни групи. Разбърква се добре и се титрува с 0,1 N натриева основа, докато се възстанови бледорозовото оцветяване. Отчита се обемът на изразходваната натриева основа при второто титриране.

За овче мляко
Съдържанието на казеин в овче мляко се определя по същия начин, с тази разлика, че вместо 4 $см^3$ 38-40 % формалин в млякото се прибавят 6 $см^3$, а еталонната проба се приготвя с 1 $см^3$ 4 % разтвор на кобалтов сулфат.

4.7. Изчисления

Количеството 0,1 N натриева основа в $см^3$, изразходвано при второто титриране, умножено по коефициента 0,7335, дава съдържанието на казеин в млякото в проценти.
За по-бързо отчитане на процента на казеина на база изразходваните $см^3$ 0,1 N натриева основа, могат да се използват следните таблици:

Таблица I

Изчисление на казеина в краве мляко по изразходваните кубически сантиметри 0,1 N натриева основа

0,1 N NaOH $см^3$	Казеин %	0,1 N NaOH $см^3$	Казеин %	0,1 N NaOH $см^3$	Казеин %
3,00	2,20	3,35	2,46	3,70	2,71
3,05	2,24	3,40	2,49	3,75	2,75
3,10	2,27	3,45	2,53	3,80	2,79

3,15	2,31	3,50	2,56	3,85	2,82
3,20	2,35	3,55	2,6	3,90	2,86
3,25	2,38	3,60	2,64	3,95	2,90
3,30	2,42	3,65	2,68	4,00	2,93

Таблица II

Изчисление на казеина в овче мляко по изразходваните кубически сантиметри 0,1 N натриева основа

0,1 N NaOH $см^3$	Казеин %	0,1 N NaOH $см^3$	Казеин %	0,1 N NaOH $см^3$	Казеин %
5,40	3,96	6,10	4,47	6,80	4,99
5,45	4,00	6,15	4,51	6,85	5,02
5,50	4,03	6,20	4,55	6,90	5,06
5,55	4,07	6,25	4,58	6,96	5,10
5,60	4,10	6,30	4,62	7,00	5,13
5,65	4,14	6,35	4,66	7,05	5,17
5,70	4,18	6,40	4,69	7,10	5,21
5,75	4,22	6,45	4,73	7,15	5,24
5,80	4,25	6,50	4,77	7,20	5,28
5,85	4,29	6,55	4,80	7,25	5,32
5,90	4,33	6,60	4,84	7,30	5,35
5,95	4,36	6,65	4,88	7,35	5,39
6,00	4,40	6,70	4,91	7,40	5,43
6,05	4,44	6,75	4,95	7,45	5,46

4.8. Точност на определянето

Правят се две паралелни проби и разликата в отчетения резултат не трябва да бъде по-голяма от 0,1 %.

Точността на метода изисква да се работи при добро естествено осветление, да се титрира равномерно, без прекъсване, да се използува безцветен формалин, предварително неутрализиран с натриева основа при индикатор фенолфталеин.

Формолното титриране е лесно приложим, но недостатъчно прецизен метод. Точни резултати при определяне на казеиновото съдържание се получават чрез метода на Келдал, който обаче изисква специална апаратура.

5. Определяне на минералните вещества в млякото.

5.1.Общи положения

За минералните вещества в млякото се съди по пепелното му съдържание

5.2. Вземане на пробите за анализ

Вземане на проби от мляко и млечни производни се извършва съгласно съответните ***Приложения*.**

5.3. Принцип на метода.

Млякото се изсушава, овъглява се и се опепелява до постоянна маса. Получената пепел се изчислява в процент.

5.4. Необходими уреди и реактиви

- Аналитични везни;
- Тигли;
- Водна баня или инфрачервена лампа;
- Котлон или горелка;
- Сушилня с терморегулатор;
- Муфелна пещ;
- Ексикатор;
- Количествен филтър.

5.5. Извършване на определянето

В предварително накален темпериран и претеглен тигел на аналитичните везни се претеглят около 10 г мляко с точност до 0,0005 г. Тигелът с пробата се поставя на водна баня или инфрачервена лампа, докато млякото се изпари до сухо състояние, след което се овъглява на горелка или на слаб котлон, като се следи да не се изпръсква. Тигелът се поставя в муфелна пещ и се опепелява внимателно, без да се запалва пробата, при температура 500-550 ^{o}C до бяла или сиво-бяла пепел. Темперира се в ексикатор и се претегля до посочената точност. Нагряването в пещта се повтаря до получаване на постоянна маса.

5.6. Изчисления

Съдържанието на пепел се изчислява по формулата:

$$пепел = \frac{(C - A)}{(B - A)} * 100$$

където:

A – масата на празния накален тигел, г

B – масата на тигела с млякото, г

C – масата на тигела с получената пепел, г

5.7. Точност на определянето

Разликата между две успоредни определяния не трябва да бъде по-голямо от 0,02 %