

WYROBY PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-83
	Przetwory jajowe Pobieranie próbek i metody badań	8036-05
		Zamiast BN-72/8036-05
		Grupa katalogowa 1219

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP

- 1.1. Przedmiot normy
- 1.2. Rodzaje badań
- 1.3. Określenia

2. POBIERANIE PRÓBEK

- 2.1. Liczba opakowań wytypowanych do pobierania próbek
- 2.2. Pobieranie próbek z wytypowanych opakowań
 - 2.2.1. Wytyczne ogólne
 - 2.2.2. Pobieranie próbek do badań mikrobiologicznych
 - 2.2.3. Pobieranie próbek do badań organoleptycznych i fizykochemicznych

3. METODY BADAŃ

- 3.1. Ocena opakowania i znakowania
- 3.2. Badania organoleptyczne
 - 3.2.1. Barwa
 - 3.2.2. Smak i zapach
 - 3.2.3. Konsystencja i struktura
 - 3.2.4. Zanieczyszczenia
 - 3.2.5. Wypiek
 - 3.2.6. Jajecznicza
- 3.3. Badania fizykochemiczne
 - 3.3.1. Pomiar temperatury i określenie powtórnego zamrożenia
 - 3.3.2. Oznaczanie zawartości wody w płynnych produktach jajowych metodą refraktometryczną (metoda techniczna)
 - 3.3.3. Oznaczanie zawartości wody przez suszenie (metoda odwoławcza)
 - 3.3.4. Oznaczanie zawartości tłuszczu w masie jajowej metodą butyrometryczną (metoda techniczna)
 - 3.3.5. Oznaczanie zawartości tłuszczu w jajach w proszku metodą refraktometryczną (metoda techniczna)
 - 3.3.6. Oznaczanie zawartości tłuszczu metodą ekstrakcji po hydrolizie (metoda odwoławcza)
 - 3.3.7. Oznaczanie zawartości substancji tłuszczowych metodą ekstrakcji chloroformem
 - 3.3.8. Oznaczanie zawartości tłuszczu w białku jaj metodą „filmową” (pomiar powierzchni warstwy monomolekularnej)

- 3.3.9. Oznaczanie zawartości białka metodą Kjeldahla
 - 3.3.10. Oznaczanie zawartości popiołu
 - 3.3.11. Oznaczanie zawartości chlorków metodą Mohra
 - 3.3.12. Wykrywanie obecności cukrów redukujących w białku w proszku przy użyciu glucotestu
 - 3.3.13. Wykrywanie obecności cukrów redukujących w białku w proszku metodą wg Somogyi
 - 3.3.14. Oznaczanie zawartości arsenu
 - 3.3.15. Oznaczanie zawartości ołowiu
 - 3.3.16. Oznaczanie zawartości miedzi
 - 3.3.17. Oznaczanie zawartości cynku
 - 3.3.18. Oznaczanie zawartości cyny
 - 3.3.19. Oznaczanie pH
 - 3.3.20. Oznaczanie barwy w stopniach NEPA
 - 3.3.21. Oznaczanie pienistości masy jajowej
 - 3.3.22. Oznaczanie pienistości białka jaj (białka jaj w proszku)
 - 3.3.23. Oznaczanie trwałości piany z białka jaj za pomocą aluminiowych krążków (metoda techniczna)
 - 3.3.24. Oznaczanie trwałości piany z białka jaj przez pomiar objętości wycieku (metoda odwoławcza)
 - 3.3.25. Oznaczanie rozpuszczalności jaj w proszku i żółtka w proszku
 - 3.3.26. Oznaczanie rozpuszczalności białka w proszku
 - 3.3.27. Oznaczanie wolnych kwasów tłuszczowych (WKT)
 - 3.3.28. Oznaczanie skuteczności pasteryzacji
- 3.4. Badania mikrobiologiczne
 - 3.4.1. Przygotowanie próbek do badań
 - 3.4.2. Oznaczanie ogólnej liczby bakterii tlenowych
 - 3.4.3. Oznaczanie NPL (najbardziej prawdopodobnej liczby) pałeczek z grupy *coli*
 - 3.4.4. Oznaczanie obecności bakterii z grupy *coli* w określonej ilości badanej próbki
 - 3.4.5. Oznaczanie gronkowców chorobotwórczych (koagulazododatnich)
 - 3.4.6. Wykrywanie obecności pałeczek z grupy *Salmonella*
 - 3.4.7. Oznaczanie liczby drożdży i pleśni
 - 3.4.8. Oznaczanie obecności pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*
 - 3.4.9. Wykonanie preparatu bakterioskopowego barwionego metodą Grama

ZAŁĄCZNIK INFORMACJE DODATKOWE

Zgłoszona przez Centralny Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Drobiarstwa
Ustanowiona przez Dyrektora Centralnego Ośrodka Badawczo-Rozwojowego Drobiarstwa dnia 21 lutego 1983 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1983 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 5/1983 poz. 9)

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest pobieranie próbek, ocena opakowania oraz metodyka badań organoleptycznych, fizykochemicznych i mikrobiologicznych następujących przetworów jajowych:

- masy jajowej pasteryzowanej mrożonej,
- żółtka pasteryzowanego mrożonego,
- białka pasteryzowanego mrożonego,
- żółtka pasteryzowanego mrożonego z dodatkiem NaCl,

- jaj w proszku,
- żółtka w proszku,
- białka w proszku.

1.2. Rodzaje badań

- ocena opakowania i znakowania
- określanie barwy
- określanie smaku i zapachu
- określanie konsystencji i struktury
- określanie zanieczyszczenia
- ocena wypieku
- ocena jajecznicy
- pomiar temperatury i określanie powtórnego zamrożenia

- oznaczanie zawartości wody
- oznaczanie zawartości tłuszczu
- oznaczanie białka metodą Kjeldahla
- oznaczanie zawartości popiołu
- oznaczanie zawartości chlorków metodą Mohra
- wykrywanie obecności cukrów redukujących w białku w proszku

- oznaczanie zawartości arsenu
- oznaczanie zawartości ołowiu
- oznaczanie zawartości miedzi
- oznaczanie zawartości cynku
- oznaczanie zawartości cyny
- oznaczanie pH
- oznaczanie barwy w stopniach NEPA
- oznaczanie pienistości
- oznaczanie trwałości piany
- oznaczanie rozpuszczalności suszonych przetworów jajowych

- oznaczanie wolnych kwasów tłuszczowych (WKT)
- oznaczanie skuteczności pasteryzacji
- oznaczanie ogólnej liczby bakterii tlenowych
- oznaczanie NPL pałeczek z grupy *coli*
- oznaczanie obecności bakterii z grupy *coli*

w określonej ilości badanej próbki

- oznaczanie gronkowców chorobotwórczych (koagulazododatnich)

- wykrywanie obecności pałeczek z grupy *Salmonella*

- oznaczanie liczby drożdży i pleśni
- oznaczanie obecności pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*

- wykonanie preparatu bakterioskopowego barwionego metodą Grama

1.3. Określenia

1.3.1. partia produktu

a) partia produkcyjna masy jajowej pasteryzowanej

mrożonej, żółtka pasteryzowanego mrożonego lub białka pasteryzowanego mrożonego — określona ilość każdego z wymienionych wyrobów, o wyrównanych cechach jakościowych, w jednakowym opakowaniu, wyprodukowana w czasie jednego cyklu pasteryzacyjnego (zlewu).

b) partia produkcyjna żółtka pasteryzowanego mrożonego z dodatkiem NaCl — określona ilość wyrobu, o wyrównanych cechach jakościowych, w jednakowym opakowaniu, pochodząca z jednego zbiornika i jednego cyklu mieszania z solą.

c) partia produkcyjna jaj w proszku, żółtka w proszku lub białka w proszku — określona ilość każdego z wymienionych wyrobów, o wyrównanych cechach jakościowych, w jednakowym opakowaniu, wyprodukowana w tym samym urządzeniu rozpyłowym w czasie jednej zmiany produkcyjnej.

d) partia handlowa każdego z wymienionych wyrobów wg 1.1 — określona ilość wyrobu w jednej klasie jakościowej, w jednakowym opakowaniu, wyprodukowana przez jeden zakład produkcyjny, przedstawiona jednorazowo do odbioru.

1.3.2. cykl pasteryzacyjny — cykl obejmujący ilość produktu spasteryzowanego w jednym agregacie w sposób ciągły, w czasie między kolejnymi czynnościami mycia i czyszczenia urządzeń pasteryzacyjnych.

2. POBIERANIE PRÓBEK

2.1. Liczba opakowań wytypowanych do pobrania próbek. Z różnych miejsc partii pobrać w sposób losowy liczbę opakowań w zależności od liczności partii, zgodnie z tabl. 1.

Tablica 1. Liczba opakowań pobieranych do badań

Liczność partii (liczba opakowań w partii)	Liczba wytypowanych opakowań		
	do oceny opakowania i znakowania oraz do badań organoleptycznych i fizykochemicznych	do badań mikrobiologicznych w celu	
		stwierdzenia obecności <i>Salmonella</i>	pozostałych badań
1	2	3	4
do 160	3	10 ¹⁾	3
161 ÷ 400	4	10	4
powyżej 400	5	10	5

¹⁾ Dla żółtka pasteryzowanego mrożonego z dodatkiem NaCl liczbę opakowań wytypowanych do badań mikrobiologicznych w celu stwierdzenia obecności *Salmonella* zmniejsza się do 5.

Do oceny stopnia zamrożenia należy pobrać losowo po 2 opakowania z każdej komory przechowalniczej.

2.2. Pobieranie próbek z wytypowanych opakowań

2.2.1. Wytyczne ogólne. W przypadku prowadzenia badań kompleksowych należy wpiery ocenić opakowanie i znakowanie, z kolei z wytypowanych opakowań pobrać próbki do badań mikrobiologicznych i następnie z tych samych opakowań pobrać próbki do badań organoleptycznych i fizykochemicznych.

2.2.2. Pobieranie próbek do badań mikrobiologicznych.

2.2.2.1. Liczba i wielkość próbek. Z każdego wytypowanego zgodnie z tabl. 1 opakowania należy pobrać co najmniej 200-gramowe próbki produktu do badań mikrobiologicznych.

Liczba próbek pobieranych do badań w celu stwierdzenia obecności *Salmonella* podana w kolumnie 3 obejmuje również próbki ujęte w kolumnie 4, na których należy wykonać pozostałe badania mikrobiologiczne.

2.2.2.2. Sprzęt

- a) Próbnik ręczny lub elektryczny ze świdrem, wyjałowiony.
- b) Urządzenie do otwierania puszek, wyjałowione.
- c) Łyżka metalowa, wyjałowiona.
- d) Słoik z doszlifowanym korkiem lub puszka z zamknięciem ciernym, sterylne, uprzednio wychłodzone.
- e) Lampa spirytusowa lub inny palnik.
- f) Alkohol etylowy.
- g) Wata.

2.2.2.3. Sposób pobierania próbek. Czynności związane z pobieraniem próbek należy wykonywać w warunkach jałowych.

Produkty mrożone. Za pomocą próboboru należy wydrążyć w mrożonym produkcie 3 porcje, wprowadzając próbobor od góry ku dołowi puszek, w trzech miejscach:

- do środka opakowania,
- w połowie odległości między środkiem a częścią peryferyjną opakowania,
- do części peryferyjnej opakowania.

Przenieść każdą próbkę do sterylnego naczynia, uprzednio wychłodzonego. Pobrane próbki należy utrzymywać w stanie zamrożonym.

Produkty suszone. Po otwarciu opakowania usunąć górne warstwy produktu za pomocą łyżki oraz pobrać próboborem 3 porcje z miejsc opakowania jak wyżej. Próbki przenieść następnie do kolbki. Do czasu wykonania badania próbki należy umieścić w chłodnym miejscu.

2.2.3. Pobieranie próbek do badań organoleptycznych i fizykochemicznych.

2.2.3.1. Produkty mrożone jajowe rozmrozić, po rozmrożeniu zawartość każdego opakowania dokładnie wymieszać ruchem kołowym i pobrać około 300 g produktu do czystego, suchego, uprzednio oznakowanego słoika z doszlifowanym korkiem. Z otrzymanych próbek jednostkowych należy przygotować średnią próbkę laboratoryjną. Próbki do oznaczania metali ciężkich pobiera się z wytypowanych opakowań bez mieszania; oznaczania te wykonuje się indywidualnie w każdej pobranej próbce.

W przypadku oznaczania skuteczności pasteryzacji metodą chemiczną, próbki do momentu wykonania oznaczania należy przechowywać w temperaturze $0 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Próbki do badań wykonywanych u producenta (w zakładach przetwórstwa jaj) mogą być pobierane z puszek w zlewni (tj. przed zamrożeniem produktów), przy czym liczba opakowań z których pobiera się próbki powinna być zgodna z tabl. 1. Jedynie w przypadku oznaczania pienistości konieczne jest pobieranie próbek produktu zamrożonego.

2.2.3.2. Produkty suszone. Z każdego wytypowanego zgodnie z tabl. 1 opakowania należy pobrać po około 200 g produktu. Z otrzymanych próbek jednostkowych należy przygotować średnią próbkę laboratoryjną. Oznaczanie metali ciężkich wykonuje się indywidualnie w każdej pobranej próbce.

3. METODY BADAŃ

3.1. Ocena opakowania i znakowania. Przy ocenie opakowań blaszanych należy posługiwać się postanowieniami BN-74/8036-01 oraz BN-72/8036-02. Należy zwrócić uwagę na ewentualne uszkodzenia puszek obecność rdzy na puszkach oraz korozję powierzchni wewnętrznej puszek. Wytypowane puszki oglądać szczegółowo ze wszystkich stron w celu stwierdzenia, czy na płaszczu, denku, połączeniach, szwach i lutowaniu nie mają wgniecień, pęknięć i otworów.

W celu wykrycia rdzy poddać dokładnym oględzinom wszystkie powierzchnie zewnętrzne puszek. Stwierdzone przy oględzinach miejsca pociemnienia blachy pocierać ściereczką. Brunatne zabarwienie ściereczki pocieranej o płamę na puszcze dowodzi obecności rdzy. Jeżeli nalot rdzy ściera się z puszek bez śladu lub pozostaje zmatowienie pobiałe, wówczas rdzę określa się jako powierzchniową. Jeżeli na puszcze pozostają ciemne punkty lub plamy, rdzę określa się jako wżer.

W celu wykrycia korozji powierzchni wewnętrznej, puszki po usunięciu zawartości umyć i wytrzeć do sucha ściereczką od wewnątrz. Jeżeli stwierdzonych wzrokowo ciemnych plam powstałych wskutek uszkodzenia pobiałe nie można usunąć przez pocieranie ściereczką, puszkę uważa się za uszkodzoną przez korozję.

Przy ocenie opakowań tekturowych, papierowych i worków polietylenowych należy posługiwać się m.in. postanowieniami PN-73/A-86502 oraz BN-74/8036-09. Opakowania należy poddać oględzinom zewnętrznym w celu stwierdzenia ich jakości oraz kompletności i czytelności znakowania.

3.2. Badania organoleptyczne

3.2.1. Barwa. Barwę mrożonej masy jajowej, mrożonego żółtka i mrożonego żółtka z dodatkiem NaCl ocenić w opakowaniach bezpośrednich po ich otwarciu oraz powtórnie w szklanym naczyniu, po rozmrożeniu i wymieszananiu.

Barwę suszonych produktów jajowych oceniać po wygładzeniu ich powierzchni. Ocenę należy prowadzić w jasnym pomieszczeniu, w świetle dziennym.

3.2.2. Smak i zapach. Smak masy jajowej, żółtka i białka określić po doprowadzeniu produktów do temperatury około 20°C .

Równocześnie — podczas mieszania — ocenić zapach. Zapach suszonych produktów jajowych ocenić bezpośrednio po otwarciu opakowania.

3.2.3. Konsystencja i struktura. Pobraną próbkę mrożonych przetworów doprowadzić do temperatury 20°C i ocenić szybkość spływania cieczy po ściankach szklanego naczynia. Strukturę suszonych produktów jajowych badać przez rozcieranie szczypty proszku palcami.

3.2.4. Zanieczyszczenia. Rozmrożoną próbkę produktu umieścić w szklanym naczyniu i określić ewentualną

obecność i rodzaj zanieczyszczeń na dnie. Obecność zanieczyszczeń w produktach suszonych badać na wygładzonej powierzchni bezpośrednio w opakowaniu.

3.2.5. Wypiek

3.2.5.1. Wypiek z masy jajowej lub jaj w proszku

- a) **Składniki:** 210 g masy jajowej (lub 55 g jaj w proszku + 155 g wody),
230 g mąki pszennej typ 500,
230 g cukru,
14 cm³ mleka,
3,5 g proszku do pieczenia.

b) **Sposób wykonania.** Masę jajową podgrzać do 55°C i wymieszać w pojemniku miksera (np. Hobart) aż piana nabierze odpowiedniej sztywności. Następnie dodać pozostałe składniki i po dokładnym wymieszaniu rozdzielić ciasto do uprzednio natłuszczonych okrągłych foremek o średnicy 15 cm i wysokości brzegu 2,5 cm. Do każdej foremki należy wlać około 230 g ciasta. Wypiekać w temperaturze 160÷180°C do uzyskania złotawego koloru wypieku. Ocenić smak, zapach, barwę i strukturę wypieku.

3.2.5.2. Wypiek z żółtka lub żółtka w proszku

- a) **Składniki:** 260 g żółtka (lub 130 g żółtka w proszku + 130 g wody),
200 g mąki pszennej typ 500,
200 g cukru,
5 g proszku do pieczenia.

b) **Sposób wykonania.** Żółtko mieszać z cukrem w pojemniku miksera przez 15÷20 min. Dalej postępować wg 3.2.5.1.

3.2.6. **Jajecznicza.** Masę jajową (lub 1 część jaj w proszku dokładnie wymieszaną z 3 częściami wody) umieścić w zlewce szklanej we wrzącej łaźni wodnej i skoagulować przy stałym mieszaniu pałeczką szklaną, do uzyskania luźnej konsystencji. Nie dodawać przypraw. Smak i zapach ocenić na ciepło.

3.3. Badania fizykochemiczne

3.3.1. **Pomiar temperatury i określenie powtórnego zamrożenia.** Temperaturę mrożonych produktów jajowych badać po otwarciu puszki przez umieszczenie termometru z oprawką metalową w zamrożonym bloku na głębokości około 10 cm. Charakterystyczne cechy rozmrożenia — ponownego zamrożenia są następujące:

— na linii styku produktu nierozmrożonego z rozmrożonym i ponownie zamrożonym na powierzchni bloku widoczna lekka wypukłość w formie schodka;

— powierzchnia boczna bloku jest marmurkowata (mozaikowata) w odróżnieniu od powierzchni jednorazowo zamrożonej, na której widoczne są równoległe ułożone igły lodu lub bezładnie rozmieszczone kryształki lodu, przy możliwej równocześnie lekkiej marmurkowatości.

3.3.2. **Oznaczanie zawartości wody w płynnych produktach jajowych metodą refraktometryczną (metoda techniczna)**

3.3.2.1. **Zastosowanie.** Metoda ma zastosowanie do oznaczania zawartości wody w masie jajowej, żółtku i białku.

3.3.2.2. Sprzęt

- a) Refraktometr,
b) Ultratermostat.

3.3.2.3. Odczynniki

- a) Amoniak cz.d.a. roztwór 25÷27 procentowy,
b) Mieszanina alkoholowo-eterowa (1:1).

3.3.2.4. **Wykonanie oznaczania.** Do cylindra z doszlifowanym korkiem pobrać 20 cm³ starannie wymieszanej masy jajowej lub żółtka i dodać 1 cm³ amoniaku. Zawartość cylindra dokładnie wymieszać i odstawić na 5 min. Po upływie tego czasu cylinder parokrotnie wstrząsnąć, przenieść pałeczką szklaną 2–3 krople płynu na przyrząd refraktometru i po 30 s wykonać odczyt współczynnika załamania światła w 20°C. Przy oznaczaniu zawartości wody w białku jaj nie stosuje się dodatku amoniaku, tj. bezpośrednio nanosi białko na przyrząd refraktometru.

W przypadku wykonania odczytu w innej temperaturze niż 20°C wprowadzić poprawkę wg wzoru

$$n_{20^{\circ}} = nt - 0,0001(20 - t) \quad (1)$$

w którym:

$n_{20^{\circ}}$ — współczynnik załamania światła w temperaturze 20°C,

nt — współczynnik załamania światła w temperaturze badania,

t — temperatura badania.

Przyrządy refraktometru po wykonaniu odczytów przetrzeć mieszaniną eteru etylowego i alkoholu etylowego, a następnie wytrzeć do sucha. Przed każdą serią odczytów sprawdzić wartość współczynnika załamania światła dla wody destylowanej, która w temperaturze 20°C powinna wynosić $n = 1,3330$ i w przypadkach odchylenia skalę poprawić. Procentową zawartość wody dla poszczególnych produktów, odpowiadającą odczytowi na skali, podano w tabl. 2÷4.

3.3.2.5. **Wynik.** Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 3 pomiarów, nie różniących się między sobą więcej niż o 0,2 % zawartości H₂O.

Tablica 2. Zależność między procentową zawartością wody i współczynnikiem refrakcji masy jajowej

$n_{20^{\circ}}$	% H ₂ O	$n_{20^{\circ}}$	% H ₂ O
1,3799	72,10	1,3748	75,20
1,3796	72,30	1,3745	75,35
1,3793	72,45	1,3742	75,55
1,3790	72,65	1,3739	75,75
1,3787	72,85	1,3736	75,90
1,3784	73,00	1,3733	76,10
1,3781	73,20	1,3730	76,30
1,3778	73,35	1,3727	76,45
1,3775	73,55	1,3724	76,65
1,3772	73,75	1,3721	76,80
1,3769	73,90	1,3718	77,00
1,3766	74,10	1,3715	77,20
1,3763	74,30	1,3712	77,35
1,3760	74,45	1,3709	77,55
1,3757	74,65	1,3706	77,75
1,3754	74,80	1,3703	77,90
1,3751	75,00	1,3700	78,10

Tablica 3. Zależność między procentową zawartością wody i współczynnikiem refrakcji żółtka

n_{200}	% H ₂ O	n_{200}	% H ₂ O
1	2	3	4
1,4095	51,05	1,4056	53,75
1,4092	51,25	1,4053	53,95
1,4089	51,45	1,4050	54,15
1,4086	51,65	1,4047	54,40
1,4083	51,90	1,4044	54,60
1,4080	52,10	1,4041	54,80
1,4077	52,30	1,4038	55,00
1,4074	52,50	1,4035	55,20
1,4071	52,70	1,4032	55,40
1,4068	52,90	1,4029	55,65
1,4065	53,15	1,4026	55,85
1,4062	53,35	1,4023	56,05
1,4059	53,55	1,4020	56,25

Tablica 4. Zależność między procentową zawartością wody i współczynnikiem refrakcji białka

n_{200}	% H ₂ O	n_{200}	% H ₂ O
1,3608	85,00	1,3554	87,65
1,3605	85,15	1,3551	87,80
1,3602	85,30	1,3548	87,95
1,3599	85,45	1,3545	88,10
1,3596	85,55	1,3542	88,25
1,3593	85,70	1,3539	88,40
1,3590	85,85	1,3536	88,55
1,3587	86,00	1,3533	88,70
1,3584	86,15	1,3530	88,85
1,3581	86,30	1,3527	89,00
1,3578	86,45	1,3524	89,15
1,3575	86,60	1,3521	89,30
1,3572	86,75	1,3518	89,45
1,3569	86,90	1,3515	89,60
1,3566	87,05	1,3512	89,75
1,3563	87,20	1,3509	89,90
1,3560	87,35	1,3506	90,05
1,3557	87,50	1,3503	90,15

3.3.3. Oznaczenie zawartości wody przez suszenie (metoda odwoławcza)

3.3.3.1. Sprzęt i materiały

- Waga analityczna.
- Naczynka wagowe.
- Suszarka laboratoryjna z termoregulacją.
- Eksykator napełniony żelazem krzemionkowym lub chlorkiem wapniowym.

e) Piasek przygotowany następująco: piasek przesiał przez sito o średnicy oczek 1 mm, wymyć pod strumieniem wody i gotować w parownicy przez 30 min w kwasie solnym rozcieńczonym (1:1); kwas zdekantować i gotowanie powtarzać z następnymi porcjami kwasu solnego do chwili, kiedy nie będzie się on zabarwiał na żółto; następnie piasek przemywać wodą destylowaną do zaniku reakcji na chlorki, suszyć i prażyć w piecu do spalań w temperaturze 600 °C przez 4 h; przechowywać w szczelnie zamkniętym słoju.

3.3.3.2. Wykonanie oznaczania. W naczynku wagowym umieścić około 15 g piasku oraz krótką pałeczkę szklaną i suszyć w suszarce w temperaturze 102 ÷ 105 °C do stałej masy (ważyć po ostudzeniu w eksykatorze, z dokładnością do 0,0001 g). Do naczynka wprowadzić

5 ÷ 7 g masy jajowej, żółtka, żółtka z dodatkiem NaCl lub białka, zważyć naczynko z dokładnością do 0,0001 g i próbkę wymieszać z piaskiem. Naczynko suszyć w suszarce w temperaturze 60 °C przez 2 h, mieszając jego zawartość po 30 i 60 min. Następnie podwyższyć temperaturę do 102 ÷ 105 °C i suszyć przez dalsze 3 h.

Przy oznaczaniu zawartości wody w przetworach jajowych w proszku, naważkę 3 ÷ 5 g wprowadzić do uprzednio wysuszonego do stałej masy naczynka wagowego bez piasku i bez pałeczki szklanej i suszyć w temperaturze 102 ÷ 105 °C przez 4 h.

Po wysuszeniu naczynko umieścić w eksykatorze i po 30 min zważyć. Następnie naczynko ponownie suszyć przez 30 min, ostudzić i zważyć. Czynność tę należy powtarzać aż dwa ostatnie ważenia nie będą się różnić więcej niż o 0,0005 g. W przypadku wzrostu masy naczynka z zawartością, do obliczeń przyjąć poprzednią najniższą masę.

Zawartość wody (X_1) w badanym produkcie obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_1 = \frac{(a - b)}{c} \cdot 100 \quad (2)$$

w którym:

- a — masa naczynka z próbką przed wysuszeniem, g,
- b — masa naczynka z próbką po wysuszeniu, g,
- c — masa próbki, g.

3.3.3.3. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 0,1 % zawartości H₂O.

3.3.4. Oznaczenie zawartości tłuszczu w masie jajowej metodą butyrometryczną (metoda techniczna)

3.3.4.1. Sprzęt

- Wirówka Gerbera.
- Tłuszczomierze Gerbera do mleka pełnego.

3.3.4.2. Odczynniki

- Kwas siarkowy cz. (1,82).
- Alkohol izoamylowy cz. (0,815).

3.3.4.3. Wykonanie oznaczania. Do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³ odmierzyć pipetą 50 cm³ wody destylowanej, dopełnić kolbę do kreski masą jajową i dokładnie wymieszać. Do tłuszczomierza Gerbera pobrać 10 cm³ kwasu siarkowego, 11 cm³ przygotowanej mieszaniny masy jajowej z wodą (pobrać pipetą), a następnie 2 cm³ alkoholu izoamylowego. Tłuszczomierz zamknąć korkiem gumowym, wstrząsać do uzyskania jednorodnej mieszaniny, a następnie ogrzewać przez 15 min na łaźni wodnej o temperaturze 45 °C. W czasie ogrzewania tłuszczomierz kilkakrotnie wstrząsnąć. Po upływie tego czasu tłuszczomierz wirować przez 15 min w wirówce Gerbera (1000 obr/min), a po wyjęciu ogrzewać przez 10 min na łaźni wodnej o temperaturze 65 °C. W tej temperaturze wykonać odczyt na skali, doprowadzając za pomocą korka poziom słupka tłuszczu do 0.

Zawartość tłuszczu (X_2) w masie jajowej obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_2 = 1,871a \quad (3)$$

w którym:

a — odczyt na skali tłuszczomierza,

1,871 — współczynnik przeliczeniowy do obliczenia zawartości tłuszczu.

3.3.4.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o jedną działkę tłuszczomierza. Metoda butyrometryczna daje wyniki nieco niższe od metody wg 3.3.6. Dla uzyskania porównywalnych wyników stosuje się mnożnik 1,05.

3.3.5. Oznaczanie zawartości tłuszczu w jajach w proszku metodą refraktometryczną (metoda techniczna)

3.3.5.1. Sprzęt

- Refraktometr.
- Ultratermostat.
- Waga analityczna.

3.3.5.2. Odczynniki i materiały

- α -bromonaftalen cz.d.a.
- Piasek przygotowany wg 3.3.3.1e).

3.3.5.3. Wykonanie oznaczania. Odważyć na wadze analitycznej około 2,5 g jaj w proszku z dokładnością do 0,0001 g i rozcierać w moździerzu przez $1,5 \div 2$ min z około 2,5 g piasku. Dodać pipetą jednomiarową ściśle 5 cm³ α -bromonaftalenu i rozcierać dalej przez 3 min.

Zawartość moździerza przesączyć i po odrzuceniu pierwszych kropli nanieść kroplę klarownego przesącza na przyzmat refraktometru i odczytać współczynnik załamania światła w temperaturze 20 °C. Przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej 3 odczytów.

Zawartość tłuszczu (X_3) w jajach w proszku obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_3 = \frac{(n_o - n)}{a} \cdot 3772 \quad (4)$$

w którym:

n_o — refrakcja α -bromonaftalenu w 20 °C,

n — refrakcja roztworu tłuszczu w α -bromonaftalenu,

a — naważka jaj w proszku, g.

3772 — współczynnik przeliczeniowy.

3.3.5.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,5 % tłuszczu.

3.3.6. Oznaczanie zawartości tłuszczu metodą ekstrakcji po hydrolizie (metoda odwoławcza)

3.3.6.1. Zastosowanie. Metoda ma zastosowanie do oznaczania zawartości tłuszczu w przetworach jajowych mrożonych oraz w jajach w proszku i żółtku w proszku.

3.3.6.2. Sprzęt

- Naczynia Mojonnier.
- Kolby Soxhleta lub inne z doszlifowanym korkiem.
- Suszarka laboratoryjna z termoregulacją.

3.3.6.3. Odczynniki

a) Kwas solny cz. (1,19) oraz kwas solny cz. (1,19) rozcieńczony wodą destylowaną w proporcji 4 części kwasu + 1 część wody.

b) Eter naftowy cz. (temperatura wrzenia poniżej 60 °C).

c) Eter etylowy cz. o temperaturze wrzenia 35 °C, wolny od nadtlenu. Próba na obecność nadtlenu: do próbki popłukanej eterem odmierzyć 10 cm³ eteru etylowego i 1 cm³ świeżo przygotowanego 10-procentowego roztworu jodku potasowego. Całość wstrząsnąć i pozostawić na 3 min. Brak żółtego zabarwienia którejkolwiek z warstw świadczy o nieobecności nadtlenu. W przypadku wystąpienia zabarwienia, eter oczyścić od nadtlenu w następujący sposób: do kolby stożkowej pojemności 200 cm³ odmierzyć 20 cm³ roztworu siarczanu żelazawego (60 g FeSO₄ rozpuścić w 60 cm³ stężonego kwasu siarkowego i w 110 cm³ wody destylowanej), dodać 100 cm³ wody destylowanej i całość wymieszać.

Do rozdzielacza pojemności 2000 cm³ odmierzyć 1000 cm³ eteru etylowego i dodać przygotowany rozcieńczony roztwór siarczanu żelazawego. Całość wstrząsać energicznie $3 \div 10$ min i pozostawić do rozdzielania się warstw, po czym usunąć warstwę dolną. Następnie do rozdzielacza dodać 150 cm³ 0,5-procentowego roztworu nadmanganianu potasowego i całość wstrząsać około 5 min. Po rozdzieleniu się warstw usunąć warstwę dolną. Powtórzyć oczyszczenie eteru roztworem nadmanganianu potasowego.

Następnie w podobny sposób trzykrotnie oczyszczać eter, dodając do rozdzielacza 250 cm³ 5-procentowego roztworu wodorotlenku sodowego, postępując jak wyżej.

Do pozostałego w rozdzielaczu eteru dodać 250 cm³ wody destylowanej i nie stosując wstrząsania usunąć warstwę dolną po rozdzieleniu się warstw. Sprawdzić odczyn usuniętej z rozdzielacza warstwy wodnej, dodając kilka kropli 1-procentowego alkoholowego roztworu fenoloftaleiny. Woda nie powinna wykazywać zabarwienia różowego. W przypadku wystąpienia zabarwienia, czynność przemywania wodą należy powtórzyć. Sprawdzić oczyszczony eter na obecność nadtlenu, w razie potrzeby oczyszczanie eteru należy powtórzyć.

3.3.6.4. Wykonanie oznaczania. Do naczynia Mojonnier wprowadzić próbkę produktu odważoną z dokładnością do 0,0001 g. Wielkość próbki zależy od rodzaju badanego produktu i wynosi: masa jajowa — około 6 g, żółtko i żółtko z dodatkiem NaCl — około 3 g, jajka w proszku — $1,5 \div 2$ g, żółtko w proszku — około 1 g.

Dodać powoli po ściankach 10 cm³ kwasu solnego cz. i intensywnie wstrząsnąć naczyniem Mojonnier. W przypadku produktów jajowych płynnych (mrożonych), stosuje się kwas solny cz. (1,19), w przypadku produktów suszonych — kwas solny rozcieńczony wodą. Zamknąć naczynie Mojonnier korkiem doszlifowanym z wyłobieniem dla odprowadzenia oparów i umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 70 °C. Temperaturę łaźni doprowadzić do wrzenia i utrzymać ją przez 30 min przy badaniu masy jajowej i jaj w proszku lub przez 60 min przy badaniu żółtka, żółtka z dodatkiem NaCl i żółtka w proszku, lekko wstrząsając naczynie co kilka minut. Po wyjęciu z łaźni schłodzić naczynie pod bieżącą wodą do temperatury około 20 °C i dodać wodę destylowaną tak, aby poziom cieczy sięgał do przewężenia. Dodać

25 cm³ eteru etylowego i wstrząsać naczynie przez 1 ÷ 2 min. Dodać 25 cm³ eteru naftowego i ponownie wstrząsać. Pozostawić naczynie Mojonnier'a na 30 min w celu całkowitego rozdzielenia warstwy wodnej od eterowej. Rozdzielanie można przyspieszyć stosując ręczne wirowanie. Zdekantować warstwę eterową do uprzednio wysuszonej do stałej masy kolby ekstrakcyjnej Soxhleta. Powtórzyć ekstrakcję jeszcze dwukrotnie, używając do tego celu za każdym razem po 15 cm³ eteru etylowego i naftowego. W razie potrzeby przed rozpoczęciem drugiej i trzeciej ekstrakcji dodać do naczynia Mojonnier'a ostrożnie po ściankach kilka cm³ wody destylowanej, co ułatwia całkowite usunięcie eteru.

Istotne znaczenie ma uniknięcie przedostawania się wody do kolby Soxhleta.

Eter oddestylować, a kolbę z pozostałością suszyć w suszarce w temperaturze 102 ÷ 105 °C przez 2,5 h, wstawić do eksykatora i po 30 min zważyć. Następnie kolbę ponownie suszyć przez 30 min, ostudzić w eksykatorze i zważyć. Czynność tę należy powtarzać, aż dwa kolejne ważenia nie będą się różnić więcej niż o 0,0005 g. W przypadku wzrostu masy kolby z zawartością, przyjąć do obliczeń poprzednią najniższą masę.

Zawartość tłuszczu (X_4) w produkcie obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_4 = \frac{(a - b)}{c} \cdot 100 \quad (5)$$

w którym:

- a — masa kolby z tłuszczem, g,
- b — masa pustej kolby, g,
- c — naważka, g.

3.3.6.5. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,2 %.

3.3.7. Oznaczanie zawartości substancji tłuszczowych metodą ekstrakcji chloroformem

3.3.7.1. Zastosowanie. Metoda ma zastosowanie do oznaczania zawartości substancji tłuszczowych w masie jajowej, żółtku, żółtku z dodatkiem NaCl, jajach w proszku i żółtku w proszku.

3.3.7.2. Sprzęt

- a) Aparat Soxhleta.
- b) Suszarka laboratoryjna z termoregulacją.

3.3.7.3. Odczynniki i materiały

- a) Chloroform.
- b) Piasek przygotowany wg 3.3.3.1e).

3.3.7.4. Wykonanie oznaczania. Próbkę badanego produktu przygotowaną i wysuszoną wg 3.3.3 przenieść ilościowo do odtłuszczonej gilzy ekstrakcyjnej i gilzę wraz z zawartością umieścić w ekstraktorze aparatu Soxhleta. Kolbę aparatu Soxhleta uprzednio wysuszyć do stałej masy w temperaturze 102 ÷ 105 °C.

Ekstrakcję chloroformem prowadzić przez co najmniej 10 h (zakończenie ekstrakcji sprawdzić przez naniesienie kropli rozpuszczalnika na bibułę filtracyjną; kropla nie powinna pozostawiać tłustej plamy). Wyjąć gilzę z aparatu, oddestylować chloroform z kolby i su-

żyć kolbę z tłuszczem w temperaturze 102 ÷ 105 °C przez 3 h. Ostudzić kolbę w eksykatorze i po 30 min zważyć. Czynność tę należy powtarzać, aż dwa kolejne ważenia nie będą się różnić więcej niż o 0,0005 g. W przypadku wzrostu masy kolby z zawartością, przyjmując do obliczeń poprzednią najniższą masę.

Zawartość substancji tłuszczowych (X_5) w badanej próbce obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_5 = \frac{(a - b)}{c} \cdot 100 \quad (6)$$

w którym:

- a — masa kolby z tłuszczem, g,
- b — masa pustej kolby, g,
- c — naważka, g.

3.3.7.5. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń nie różniących się między sobą więcej niż o 0,2 % substancji tłuszczowych.

3.3.8. Oznaczanie zawartości tłuszczu w białku jaj metodą „filmową“ (pomiar powierzchni warstwy monomolekularnej)

3.3.8.1. Sprzęt

- a) Płytką Petriego o średnicy 20 cm, pomalowana od zewnątrz czarnym lakierem.
- b) Strzykawka pojemności 1 cm³ z igłą o dużym przekroju.
- c) Mikrostrzykawka.
- d) Kuweta fotograficzna.
- e) Suszarka laboratoryjna z termoregulacją.

3.3.8.2. Odczynniki

- a) Amoniak cz., roztwór 2-procentowy.
- b) Eter etylowy cz.
- c) Eter naftowy cz., temperatura wrzenia 30 ÷ 65 °C.
- d) Alkohol etylowy cz. 95-procentowy.
- e) Kwas octowy cz., roztwór 0,2-procentowy.
- f) Olej mineralny utleniony (olej mineralny ogrzewać w temperaturze 150 °C przez 3 h, przy stałym napowietrzaniu).

3.3.8.3. Wykonanie oznaczania. Odważyć 10 g białka do cylindra pojemności 100 cm³ z doszlifowanym korkiem. Dodać pipetą 25 cm³ świeżo przygotowanego 2-procentowego roztworu amoniaku i wymieszać z białkiem. Następnie dodać 50 cm³ mieszaniny alkoholowo-eterowej (20 cm³ alkoholu etylowego + 30 cm³ eteru etylowego) i energicznie wstrząsać cylinder przez 90 s, po czym pozostawić do rozdzielenia się emulsji (około 10 min). Pobrać pipetą 20 cm³ warstwy eterowej i przenieść do kolby stożkowej pojemności 50 cm³ z doszlifowanym korkiem. Odparować eter na łaźni wodnej pod wyciągiem do całkowitego usunięcia zapachu eteru. Kolbę suszyć w suszarce o temperaturze 102 ÷ 105 °C przez 30 min i oziębnić w eksykatorze. Do kolby dodać 2 cm³ eteru naftowego, zamknąć i łagodnie obracać w rękę w celu zmycia tłuszczu ze ścianek i rozpuszczenia go w eterze. W porcelanowej kuwecie fotograficznej ustawić płytkę Petriego tak, aby odległość (różnica wysokości) między górnymi krawędziami płytki i kuwety wynosiła około 3 mm. Nalać do płytki do pełna

0,2-procentowego kwasu octowego i na powierzchnię kwasu nanieść 1 kroplę (około $0,04 \text{ cm}^3$) utlenionego oleju przy użyciu strzykawki. Mikrostrzykawką pobrać $0,0072 \text{ cm}^3$ eteru naftowego z tłuszczem i powoli nanosić kroplami na powierzchnię utlenionego oleju. Po naniesieniu ostatniej kropli ostrożnie dotknąć igłą do powierzchni. Nakryć kuwetę szklaną płytką i obrysować plamę tłuszczową dermatografem. Przenieść obrys na kalkę techniczną, wyciąć i przez zważenie ustalić powierzchnię plamy (uprzednio należy określić masę 1 cm^2 kalki technicznej przez wycięcie i zważenie kwadratu o boku 5 cm).

Do każdego oznaczania wykonać próbę zerową, zastępując białko wodą destylowaną.

Zawartość tłuszczu (X_6) w białku jaja obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_6 = \left[(A - B) 0,0034 + 0,016 \right] \cdot \frac{33}{100} \quad (7)$$

w którym:

A — powierzchnia plamy w próbie badanej = cm^2 ,

B — powierzchnia plamy w próbie zerowej = cm^2 ,

0,0034 — współczynnik przeliczeniowy (1 cm^2 powierzchni plamy odpowiada zawartości $0,0034 \%$ żółtka),

0,016 — stała korekcyjna, wynikająca z zawartości tłuszczu w „czystym białku“, bez domieszki żółtka,

33 — teoretyczna zawartość tłuszczu w żółtku, %.

3.3.8.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 20% (w wartościach względnych).

3.3.9. Oznaczanie zawartości białka metodą Kjeldahla

3.3.9.1. Sprzęt

- Waga analityczna.
- Kolba Kjeldahla pojemności $250 \div 750 \text{ cm}^3$.
- Zestaw do spalań elektryczny lub gazowy.
- Aparat Parnasa-Wagnera lub inny zestaw do destylacji.

3.3.9.2. Odczynniki i materiały

- Siarczan miedziowy cz. ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- Siarczan potasowy cz. (K_2SO_4).
- Kwas siarkowy cz. ($1,83 \div 1,84$).
- Kwas solny cz.d.a., roztwór $0,1\text{N}$.
- Kwas borowy cz. (H_3BO_3) roztwór 4-procentowy: 40 g kwasu borowego rozpuścić w 1000 cm^3 wody destylowanej.

f) Wodorotlenek sodowy cz. roztwór około 33-procentowy: 500 g NaOH rozpuścić w 1000 cm^3 wody destylowanej.

g) Wskaźnik Tashiro ($0,2 \text{ g}$ czerwieni metylowej rozpuścić w 50 cm^3 95-procentowego alkoholu etylowego; kolbę z roztworem umieścić na łaźni wodnej o temperaturze $65 \text{ }^\circ\text{C}$ do całkowitego rozpuszczenia czerwieni; $0,1 \text{ g}$ błękitu metylenowego rozpuścić w 150 cm^3 50-procentowego alkoholu etylowego. Zmieszać obydwa roz-

twory i przesączyć do butelki z ciemnego szkła).

h) Substancja zapobiegająca przegrzewaniu w czasie mineralizacji i destylacji, np. perełki szklane.

i) Środki przeciwpieniące w czasie destylacji — olej parafinowy cz.

j) Sacharoza, cz.

3.3.9.3. Próba zerowa. W celu kontroli odczynników należy przeprowadzić próbę zerową ściśle odpowiadającą sposobowi przeprowadzania oznaczania, biorąc zamiast właściwej próbki $0,5 \text{ g}$ sacharozy odważonej z dokładnością do $0,01 \text{ g}$.

Próba zerowa powinna dawać wynik praktycznie zerowy (błąd rzędu 1 kropli mianowanego roztworu kwasu solnego). Jeżeli wynik próby zerowej jest nieduży (rzędu do $0,2 \text{ cm}^3$ użytego mianowanego roztworu), należy go uwzględnić w końcowym obliczeniu. Wynik wyższy wymaga zmiany zestawu odczynników lub wyeliminowania odczynników zawierających związki azotu.

Próba zerowa powinna być wykonana każdorazowo przy zmianie odczynników.

3.3.9.4. Wykonanie oznaczania

a) Mineralizacja próbki. Odważyć około $1,5 \text{ g}$ płynnych (mrożonych) lub około $0,5 \text{ g}$ suszonych produktów jajowych, z dokładnością do $0,0001 \text{ g}$, w małym szklanym naczynku, np. końcówce probówki lub fiolki. Naczynko z naważką przenieść do suchej kolby Kjeldahla i dodać $0,4 \text{ g}$ siarczanu miedziowego i 10 g siarczanu potasowego oraz 15 cm^3 kwasu siarkowego. Kolbę umieścić pod wyciągiem i ogrzewać najpierw łagodnie, a następnie energicznie aż do momentu uzyskania przezroczystej cieczy, o zabarwieniu jasnozielonym. Od tej chwili ogrzewanie prowadzić jeszcze przez 30 min .

b) Dodawanie wodorotlenku sodowego. Zawartość kolby rozcieńczyć wodą destylowaną w ilości około 100 cm^3 . Przy przenoszeniu zawartości kolby Kjeldahla do kolby destylacyjnej część dodawanej wody użyć do przenoszenia ilościowego. W przypadku bezpośredniej destylacji do kolby Kjeldahla, wrzucić do rozcieńczonej próbki $2 \div 3$ perełki szklane. W obu przypadkach rozcieńczoną próbkę zalkalizować, dodając 50 cm^3 roztworu wodorotlenku sodowego. Wodorotlenek dodawać ostrożnie w celu uniknięcia przegrzania się mieszaniny i ewentualnych strat amoniaku. Dodać kilka kropli oleju parafinowego.

c) Destylacja. Do odbieralnika (kolba stożkowa pojemności 250 cm^3) odmierzyć 50 cm^3 kwasu borowego i 8 kropli wskaźnika Tashiro. Odbieralnik umieścić pod chłodnicą tak, aby rurka zanurzona była w kwasie. Następnie rozpocząć destylację amoniaku, która powinna trwać przynajmniej 20 min dla destylacji z parą wodną i 30 min w przypadku destylacji bez pary wodnej. Objętość destylatu powinna wynosić $\frac{2}{3}$ początkowej objętości płynu zawartego w kolbie destylacyjnej. Bezpośrednio przed zakończeniem destylacji obniżyć odbieralnik w ten sposób, aby rurka chłodnicy znalazła się nad poziomem cieczy i pozwolić, aby ostatnie krople destylatu opłukały wewnętrzne ścianki rurki. Po zakończeniu destylacji zewnętrzne ścianki rurki

spłukać niewielką ilością wody destylowanej do odbieralnika.

d) Miareczkowanie. Destylat zmiareczkować 0,1N roztworem kwasu solnego do barwy różowofioletowej.

3.3.9.5. Obliczanie wyniku. Zawartość białka (X_7) w badanym produkcie jajowym obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_7 = \frac{(a - b)}{c} \cdot 0,0014 \cdot 6,25 \cdot 100 \quad (8)$$

w którym:

a — objętość 0,1N roztworu kwasu solnego zużytego do miareczkowania w próbie właściwej, cm^3 ,

b — objętość 0,1N roztworu kwasu solnego zużytego do miareczkowania, w próbie ślepej, cm^3 ,

c — naważka produktu, g,

0,0014 — ilość azotu odpowiadająca 1 cm^3 0,1N kwasu solnego, g,

6,25 — współczynnik przeliczeniowy azotu na białko.

3.3.9.6. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 0,3 % białka.

3.3.10. Oznaczanie zawartości popiołu

3.3.10.1. Sprzęt

- Waga analityczna.
- Tygle kwarcowe lub porcelanowe.
- Suszarka laboratoryjna z termoregulacją.
- Piec do spalań z termoregulacją.

3.3.10.2. Wykonanie oznaczania. Do wysuszonego i wyprażonego do stałej masy w temperaturze 600 °C tygla kwarcowego lub porcelanowego odważyć 4 ÷ 6 g próbki produktu z dokładnością do 0,0002 g. Przy oznaczaniu zawartości popiołu w płynnych (mrożonych) produktach jajowych tygiel należy umieścić w suszarce o temperaturze 102 ÷ 105 °C na 1,5 h w celu usunięcia nadmiaru wody; wstępny etap odparowywania wody można pominąć, w przypadku oznaczania zawartości popiołu w suszonych produktach jajowych.

Tygiel umieścić na siatce azbestowej położonej na płytce elektrycznej lub nad palnikiem gazowym i ostrożnie ogrzewać, nie dopuszczając do zapalenia się próbki, do chwili ukończenia wydzielania się dymów. Po zwięgleniu tygiel wstawić do pieca i próbkę spopielać w temperaturze 600 °C przez co najmniej 12 h do uzyskania jednolitej barwy (szarej), bez widocznych czarnych cząstek. W przypadku trudności uzyskania jednolitej szarej barwy, tygiel wyjąć z pieca, schłodzić, dodać 5 kropli 30-procentowej wody utlenionej, następnie podsuszyć i prażyć ponownie. Po wyjęciu z pieca tygiel ostudzić w ekcykatorze i zważyć z dokładnością do 0,0001 g. W celu sprawdzenia dokładności spopielenia zawartości tygla prażyć powtórnie przez 30 min i po ostudzeniu w ekcykatorze zważyć. Jeżeli ubytek masy tygla z zawartością wynosi nie więcej niż 0,0002 g, spopielenie należy uważać za zakończone. Zawartość popiołu (X_8) w badanym produkcie obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_8 = \frac{(a - b)}{c} \cdot 100 \quad (9)$$

w którym:

a — masa tygla z popiołem, g,

b — masa tygla, g,

c — naważka, g.

3.3.10.3. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 3 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 0,2 % popiołu.

3.3.11. Oznaczanie zawartości chlorków metodą Mohra

3.3.11.1. Zastosowanie. Metoda ma zastosowanie do oznaczania zawartości chlorków w żółtku oraz w żółtku z dodatkiem NaCl.

3.3.11.2. Odczynniki

- Azotan srebra cz.d.a., roztwór 0,1N,
- Chromian potasowy cz.d.a., roztwór 5-procentowy jako wskaźnik.

3.3.11.3. Wykonanie oznaczania. Do kolby stożkowej pojemności 100 cm^3 odważyć z dokładnością do 0,0001 g około 5 g żółtka lub około 1 g żółtka z dodatkiem NaCl, dodać kilka kulek szklanych, wodę destylowaną do $\frac{1}{3} \div \frac{1}{2}$ objętości i silnie skłócić. Kolbę umieścić na 5 ÷ 10 min w łaźni wodnej o temperaturze 40 ÷ 50 °C. Po wyjęciu z łaźni wodnej kolbę ochłodzić do temperatury pokojowej, dodać kilka kropli wskaźnika i miareczkować roztworem 0,1N azotanu srebra do zmiany barwy na rdzawopomarańczową, utrzymującą się przez 30 s.

Zawartość chlorków (X_9) w badanym produkcie obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_9 = \frac{a}{b} \cdot 0,00585 \cdot 100 \quad (10)$$

w którym:

a — ilość 0,1N roztworu azotanu srebra, zużytego do miareczkowania, cm^3 ,

b — naważka, g,

0,00585 — współczynnik przeliczeniowy na sól kuchenną (1 cm^3 0,1N AgNO_3 odpowiada 0,00585 g NaCl).

3.3.11.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 2 % (w wartościach względnych).

3.3.12. Wykrywanie obecności cukrów redukujących w białku w proszku przy użyciu glucotestu

3.3.12.1. Odczynniki. Glucotest — preparat do celów klinicznych, w tabletkach.

3.3.12.2. Wykonanie oznaczania. Do 13 g białka w proszku dodać 87 cm^3 wody i mieszać pałeczką szklaną do całkowitego rozpuszczenia. Do próbówki wprowadzić pipetą 10 kropli wody destylowanej, następnie 5 kropli rozpuszczonego białka, wymieszać i wrzucić jedną tabletkę glucotestu.

Po zakończeniu burzliwej reakcji próbówkę kilkakrotnie lekko wstrząsnąć i po minucie obserwować powstałe zabarwienie. Barwa białka nieodcukrzonego (zawierającego około 0,5 % cukrów redukujących) jest oliwkowozielona, białka zawierającego około 0,15 %

cukrów — niebieskozielona, białka zawierającego 0,1 % cukrów — jasnoniebieska. Nieobecność cukrów powoduje uzyskanie zabarwienia granatowego.

3.3.13. Wykrywanie obecności cukrów redukujących w białku w proszku metodą według Somogyi

3.3.13.1. Odczynniki

a) Siarczan cynkowy uwodniony ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), cz., roztwór 5-procentowy.

b) Wodorotlenek barowy ($Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$), roztwór 0,3N przygotowany następująco: 47,3 g ($Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$) uzupełnić wodą do 1 dm³. Oba roztwory nastawić dokładnie względem siebie w następujący sposób: 10 cm³ roztworu siarczanu cynkowego rozcieńczyć 100 cm³ wody destylowanej, wymieszać i miareczkować wobec fenoloftaleiny roztworem 0,3N wodorotlenku barowego. Miareczkowanie prowadzić kroplami, stale wstrząsając, aż do słabo różowego zabarwienia utrzymującego się przez 1 min (szybkie miareczkowanie powoduje powstawanie błędów). Po oznaczeniu względnych stężeń rozcieńczyć jeden z roztworów tak, aby równe ich objętości zobojętniały się nawzajem wobec fenoloftaleiny.

c) Odczynnik miedziowy: 40 g winianu sodowo-potasowego cz. (soli Seigneta) ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) i 28 g fosforanu dwusodowego bezwodnego cz. (Na_2HPO_4) rozpuścić w 700 cm³ wody destylowanej, dodać 100 cm³ roztworu 1N wodorotlenku sodowego cz. i wkropić 80 cm³ 10-procentowego siarczanu miedziowego uwodnionego cz. ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$). Dodać 180 g bezwodnego siarczanu sodowego cz. i dopełnić w kolbie pomiarowej wodą destylowaną do 1 dm³. Roztwór pozostawić na 1-2 dni, przesączyć przez twardy sączek i wkropić 15 cm³ 1N jodanu potasowego cz. (KJO_3).

3.3.13.2. Wykonanie oznaczenia. Do 13 g białka w proszku dodać 87 cm³ wody i mieszać pałeczką szklaną do całkowitego rozpuszczenia. Pobrać pipetą 5 cm³ rozpuszczonego białka do kolby stożkowej pojemności 200 cm³, dodać 25 cm³ wody, wymieszać, dodać 10 cm³ roztworu wodorotlenku barowego i po ponownym wymieszaniu 10 cm³ roztworu siarczanu cynkowego. Całość wymieszać i przesączyć. Pierwsze krople przesączu odrzucić. 5 cm³ klarownego przesączu przenieść pipetą do próbki, dodać 5 cm³ odczynnika miedziowego i próbkę umieścić we wrzącej łaźni wodnej na 90 s i następnie ostudzić w strumieniu zimnej wody. Wytrącenie się pomarańczowo-brunatnego osadu świadczy o obecności cukrów redukujących w białku.

3.3.14. Oznaczenie zawartości arsenu — wg PN-59/A-04010.

3.3.15. Oznaczenie zawartości ołowiu — wg PN-80/A-04011.

3.3.16. Oznaczenie zawartości miedzi — wg PN-80/A-04012.

3.3.17. Oznaczenie zawartości cynku — wg PN-59/A-04013.

3.3.18. Oznaczenie zawartości cyny — wg PN-80/A-04014.

3.3.19. Oznaczenie pH

3.3.19.1. Sprzęt. Pehametr.

3.3.19.2. Odczynniki

a) Roztwory buforowe o znanym pH (w granicach pH 6,0 ÷ 10,0).

b) Mieszanina alkoholowo-eterowa (1:1).

3.3.19.3. Wykonanie oznaczenia. Masę jajową, białko, żółtko lub żółtko z dodatkiem NaCl doprowadzić do temperatury 20 °C. Po napełnieniu naczynka pehametru oznaczyć pH zgodnie z instrukcją dla posiadanego typu aparatu. Roztwory do oznaczeń pH suszonych przetworów jajowych przygotować przez rozpuszczenie 1 części jaj w proszku w 3 częściach wody o temperaturze 30 °C lub 1 części żółtka w proszku w 1 części wody o temperaturze 30 °C, lub 1 części białka w proszku w 10 częściach wody i doprowadzenie roztworów do 20 °C. Ze względu na dużą ilość tłuszczu w produktach zawierających żółtko, po wykonaniu oznaczenia elektrody należy spłukać letnią wodą destylowaną, a następnie mieszaniną alkoholowo-eterową.

3.3.19.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 0,1.

3.3.20. Oznaczenie barwy w stopniach NEPA

3.3.20.1. Sprzęt. Spektokolorymetr Spekol lub inny fotokolorymetr.

3.3.20.2. Odczynniki

a) Aceton cz.d.a.

b) Dwuchromian potasowy cz.d.a., roztwór 1-procentowy (roztwór podstawowy).

3.3.20.3. Przygotowanie krzywej wzorcowej. Do kolb pomiarowych pojemności 100 cm³ odmierzyć pipetą kolejno: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 i 5,0 cm³ 1-procentowego roztworu dwuchromianu potasowego (roztworu podstawowego), a następnie uzupełnić wodą destylowaną do kreski. W przygotowanych roztworach oznaczyć przepuszczalność światła przy użyciu dowolnego typu fotokolorymetru z niebieskim filtrem. Na spektokolorymetrze „Spekol“ wykonuje się pomiar przy długości fali 450 nm.

Na podstawie uzyskanych odczytów sporządzić krzywą wzorcową. Barwę w stopniach NEPA odpowiadającą wzrastającym stężeniom roztworów dwuchromianu potasowego określić z tabl. 5.

Tablica 5. Barwa w stopniach NEPA w zależności od stężenia roztworu dwuchromianu potasowego

Stężenie roztworu dwuchromianu potasowego, %	Barwa w stopniach NEPA
0,005	1
0,010	2
0,015	3
0,020	4
0,025	5
0,030	6
0,035	7
0,040	8
0,045	9
0,050	10

3.3.20.4. Wykonanie oznaczenia. Odważyć 5,0 g masy jajowej lub 2,5 g żółtka pasteryzowanego mrożonego, 2,75 g żółtka pasteryzowanego mrożonego z dodatkiem NaCl, 1,35 g jaj w proszku lub 1,15 g żółtka w proszku,

do wytarowanej zlewki pojemności $100 \div 200 \text{ cm}^3$. Dodać $2,5 \text{ cm}^3$ acetonu w $2 \div 3$ porcjach i dokładnie rozetrzeć do uzyskania jednorodnej konsystencji pasty. Dodać 50 cm^3 acetonu, wymieszać i przesączyć mieszaninę do kolby pomiarowej pojemności 100 cm^3 . Pozostałość na sączku przemyć kilkakrotnie małymi porcjami acetonu. Uzpełnić do kreski acetonem, kolbę szczelnie zamknąć, wstrząsnąć i na fotokolorymetrze oznaczyć przepuszczalność światła. Na podstawie oznaczonej przepuszczalności światła odczytać z krzywej wzorcowej stopnie barwy według NEPA.

3.3.20.5. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o $0,2^\circ$ NEPA.

3.3.21. Oznaczanie pienistości masy jajowej

3.3.21.1. Sprzęt. Mikser typ Hobart CE-100 z ubijakiem drucianym i pojemnikiem 10-kwartowym ($11,36 \text{ dm}^3$).

3.3.21.2. Wykonanie oznaczania. Masę jajową doprowadzić do temperatury 20°C i wymieszać. Częścią przygotowanej masy napełnić wytarowane i suche naczynko o pojemności $100 \div 150 \text{ cm}^3$ i zważyć na wadze technicznej z dokładnością do $0,1 \text{ g}$. 450 cm^3 masy jajowej wlać do pojemnika miksera Hobart CE-100 i ubijać przez 5 min przy położeniu przełącznika obrotów w poz. 3. Pianą natychmiast napełnić to samo naczynko, w którym zważono masę przed ubiciem, wyrównać poziom piany łopatką, naczynko wytrzeć i zważyć z dokładnością do $0,1 \text{ g}$. Wskaźnik pienistości (X_{10}) obliczyć wg wzoru

$$X_{10} = \frac{M}{M_1} \quad (11)$$

w którym:

M — masa masy jajowej przed ubiciem, g,

M_1 — masa piany, g.

3.3.21.3. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą we wskaźniku pienistości więcej niż o $0,2$.

3.3.22. Oznaczanie pienistości białka jaj (białka jaj w proszku)

3.3.22.1. Sprzęt — wg 3.3.21.1.

3.3.22.2. Wykonanie oznaczania. Do pojemnika miksera wlać 450 cm^3 białka o temperaturze 20°C . Białko płynne z białka w proszku przygotować przez wymieszanie 43 g proszku z 430 cm^3 wody i pozostawienie na 1 h. Białko ubijać przez 90 s przy położeniu przełącznika obrotów w poz. 2, a następnie przez dalsze 90 s w poz. 3.

Po zakończeniu ubijania odłączyć pojemnik, przenieść do niego pianę pozostałą na ubijaku, wyrównać powierzchnię piany i natychmiast w środkowym punkcie zmierzyć podziałką milimetrową odległość między powierzchnią piany i dnem naczynia.

3.3.22.3. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 5 mm wysokości słupa piany.

3.3.23. Oznaczanie trwałości piany z białka jaj za pomocą aluminiowych krążków (metoda techniczna)

3.3.23.1. Sprzęt. 5 aluminiowych krążków o średnicy 40 mm i masie $35, 30, 20, 10$ i 5 g (komplet).

3.3.23.2. Wykonanie oznaczania. Po oznaczeniu pienistości wg 2.2.22 wyrównać ponownie powierzchnię piany w pojemniku miksera i natychmiast układać na niej kolejno jeden za drugim krążki aluminiowe. Trwałość piany określić łączną masą krążków, (g), przy której utrzymują się one jeszcze na powierzchni.

3.3.23.3. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 5 g .

3.3.24. Oznaczanie trwałości piany z białka jaj przez pomiar objętości wycieku (metoda odwoławcza)

3.3.24.1. Wykonanie oznaczania. Z pojemnika z pianą po oznaczeniu pienistości wg 3.3.22 odlać szybko zebrane na dnie białko płynne i pojemnik pozostawić pod nakryciem w temperaturze 20°C . Po 30 min odlać wyciek do cylindra pomiarowego pojemności 500 cm^3 i odczytać objętość. Do tego samego cylindra odlać wyciek po 120 min i odczytać łączną objętość.

3.3.24.2. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 5 cm^3 wycieku (dla 30 min) lub o 15 cm^3 wycieku (dla 120 min).

3.3.25. Oznaczanie rozpuszczalności jaj w proszku i żółtka w proszku

3.3.25.1. Sprzęt

a) Waga analityczna.

b) Wirówka elektryczna z regulowaną prędkością obrotów.

c) Refraktometr.

d) Ultratermostat.

3.3.25.2. Odczynniki. Chlorek sodowy cz., roztwór 5-procentowy.

3.3.25.3. Wykonanie oznaczania. Do próbki wirówkowej pojemności 10 cm^3 wprowadzić pipetą jednorodną 5 cm^3 5-procentowego roztworu NaCl i następnie dodać około 1 g jaj w proszku lub żółtka w proszku, odważonych z dokładnością do $0,0001 \text{ g}$. Probówkę zakorkować i wstrząsnąć przez 1 min. Pozostawić probówkę w pozycji pionowej przez 15 min, odwrócić 10 razy, pozostawić na następne 15 min i ponownie odwrócić 10 razy. Po dalszych 5 min umieścić probówkę w wirówce i wirować przez 1 min przy 3000 obr/min . Pobrać pipetą kilka kropli płynu ze środkowej warstwy i oznaczyć współczynnik załamania światła w temperaturze 25°C za pomocą refraktometru z podłączonym ultratermostatem (średnia z co najmniej 3 odczytów). Równoległe oznaczyć współczynnik załamania światła 5-procentowego roztworu NaCl w temperaturze 25°C .

Rozpuszczalność (X_{11}) jaj w proszku lub żółtka w proszku obliczyć w procentach suchej substancji wg wzoru

$$X_{11} = (\log WH - 0,445)100 \quad (12)$$

w którym:

$$WH \text{ (Wartość Haenni)} = \frac{(n - n_o)1000}{a}$$

n — oznaczona refrakcja próbki w temperaturze 25 °C,

n_o — refrakcja 5-procentowego roztworu NaCl w temperaturze 25 °C,

a — naważka produktu, g.

3.3.25.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 1 % rozpuszczalności.

3.3.26. Oznaczanie rozpuszczalności białka w proszku

3.3.26.1. Sprzęt

a) Wirówka elektryczna z regulowaną prędkością obrotów.

b) Suszarki laboratoryjne przygotowane do pracy w temperaturach 60 °C i 102 °C.

3.3.26.2. Odczynniki. Środek zapobiegający spienianiu się białka (np. żywica silikonowa, alkohol amylovowy).

3.3.26.3. Wykonanie oznaczania. Około 10 g białka w proszku odważonego z dokładnością 0,0001 g umieścić w zlewce pojemności 200 cm³, dodać 15 cm³ wody destylowanej i wymieszać pałeczką szklaną do całkowitego rozpuszczenia. Mieszając dodawać stopniowo dalsze około 50 cm³ wody destylowanej. Przenieść ilościowo, przy użyciu wody, do kolby pomiarowej pojemności 200 cm³, dodać kilka kropli środka przeciwdziałającego spienianiu się białka i uzupełnić wodą do kreski. Wstrząsnąć energicznie i odwirować przy 3500 obr/min przez 10 min, po czym przesączyć. Pobrać pipetą 20 cm³ filtratu na uprzednio wysuszoną i wytarowaną płytkę Petriego. Płytkę umieścić w suszarce o temperaturze 60 °C i odparować wodę. Przenieść płytkę do drugiej suszarki nastawionej na temperaturę 102 ÷ 105 °C i suszyć do stałej masy (co najmniej 4 h). Następnie płytkę umieścić w eksykatorze i po 30 min zważyć.

Rozpuszczalność (X_{12}) białka w proszku obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_{12} = \frac{200a}{20b} \cdot 100 \quad (13)$$

w którym:

a — masa osadu na płytce, g,

b — naważka białka w proszku, g.

3.3.26.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 1 % rozpuszczalności.

3.3.27. Oznaczanie wolnych kwasów tłuszczowych (WKT)

3.3.27.1. Zastosowanie. Metoda ma zastosowanie do oznaczania wolnych kwasów tłuszczowych w jajach w proszku i w żółtku w proszku.

3.3.27.2. Odczynniki

a) Wodorotlenek sodowy cz.d.a., roztwór 1N.

b) Mieszanina równych objętości alkoholu etylowego 95-procentowego i eteru etylowego wolnego od nadtlentków (usuwanie nadtlentków wg 3.3.6.3c).

c) Fenoloftaleina, roztwór alkoholowy 1-procentowy.

3.3.27.3. Wykonanie oznaczania. Około 2 g jaj w proszku lub żółtka w proszku odważonych z dokładnością 0,01 g umieścić w kolbie stożkowej pojemności 250 cm³ z doszlifowanym korkiem i zalać 100 cm³ mieszaniny alkoholowo-eterowej, uprzednio zubożonej wobec fenoloftaleiny do bladoróżowego zabarwienia nie znikającego przez 1 min. Roztwór wstrząsać przez 15 min, przesączyć i przesączyć miareczkować 0,1N roztworem wodorotlenku sodowego wobec 3 ÷ 5 kropli fenoloftaleiny do różowego zabarwienia, utrzymującego się przez 1 min.

Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (X_{13}) w przeliczeniu na kwas oleinowy obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_{13} = \frac{282,4a}{bc} \quad (14)$$

w którym:

a — liczba cm³ 0,1N roztworu wodorotlenku sodowego zużyta do miareczkowania,

b — naważka jaj w proszku lub żółtka w proszku, g,

c — zawartość tłuszczu w jajach w proszku lub żółtku w proszku, %,

282,4 — ciężar cząsteczkowy kwasu oleinowego.

3.3.27.4. Wynik. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej 2 oznaczeń, nie różniących się między sobą więcej niż o 0,1 % WKT.

3.3.28. Oznaczanie skuteczności pasteryzacji

3.3.28.1. Zastosowanie. Metoda ma zastosowanie do oznaczania skuteczności pasteryzacji w masie jajowej, żółtku i żółtku z dodatkiem NaCl.

3.3.28.2. Odczynniki

a) Roztwór skrobi: zważyć taką ilość rozpuszczalnej skrobi cz.d.a. o znanej wilgotności, jaka odpowiada 0,7 g suchej skrobi (wilgotność oznaczyć przez suszenie w 100 °C przez 16 h lub w 160 °C przez 1 h). Skrobię zmieszać z zimną wodą do uzyskania konsystencji pasty. Całość przenieść ilościowo do około 50 cm³ wrzącej wody, gotować 1 min, a następnie schłodzić przez zanurzenie do zimnej wody. Dodać 3 krople toluenu i uzupełnić wodą do 100 cm³ w kolbie pomiarowej. Roztwór może być używany przez 2 tygodnie.

b) Roztwór jodu: 12,7 g jodu rozpuścić w roztworze 25 g jodku potasowego w 30 cm³ wody i następnie uzupełnić do 1 dm³ w celu otrzymania roztworu około 0,1M. Roztwór ten można przechowywać 6 miesięcy. Przed użyciem należy go rozcieńczyć wodą w stosunku 1:100 i dodać 0,25 g jodku potasowego, otrzymując roztwór około 0,001M.

c) Kwas trójchlorooctowy cz.d.a., roztwór 15-procentowy wagowo-objętościowy.

3.3.28.3. Wykonanie oznaczania. Odważyć 15,0 g masy jajowej (lub 6,0 g żółtka albo żółtka z dodatkiem NaCl + 9 cm³ wody) do kolby stożkowej o pojemności

100 cm³. Dokładnie wymieszać, wprowadzić 2 cm³ roztworu skrobi i ponownie starannie wymieszać. Kolbę umieścić na 30 min w łaźni wodnej o temperaturze 44 ± 0,5 °C, a następnie schłodzić. Pobrać 5 cm³ mieszaniny, dodać 5 cm³ roztworu kwasu trójchlorooctowego i dokładnie wstrząsnąć. Dodać 15 cm³ wody i ponownie wstrząsnąć. Przesączyć i do 10 cm³ przezroczystego przesącza w probówce (po odrzuceniu pierwszych kropli) dodać 2 cm³ roztworu jodu.

3.3.28.4. Wynik. Wynik należy uznać za dodatni, jeżeli przesącz natychmiast wykazuje barwę niebiesko-fioletową, charakterystyczną dla reakcji jodu ze skrobią.

3.4. Badania mikrobiologiczne

3.4.1. Przygotowanie próbek do badań

a) Produkty mrożone. Naczynie z próbką produktu należy umieścić w zimnej, bieżącej wodzie aż do całkowitego rozmrożenia. Rozmrożony produkt należy dobrze wymieszać przez wstrząsanie, a następnie pobrać ilości potrzebne do posiewu. Produkty mrożone należy utrzymać w stanie zamrożenia do momentu rozpoczęcia badania.

b) Produkty suszone. Próbkę produktu należy wymieszać dokładnie przez wstrząsanie słoikiem, a następnie odważyć potrzebne ilości.

3.4.2. Oznaczanie ogólnej liczby bakterii tlenowych

3.4.2.1. Przygotowanie rozcieńczeń. Z próbek pobranych zgodnie z 2.2.2 należy odmierzyć (pipetą) 10 cm³ lub odważyć 10 g produktu w kolbie stożkowej jałowej o pojemności 500 cm³. Próbkę rozcieńczyć przez dodanie 90 cm³ zbuforowanej wody peptonowej przygotowanej zgodnie z załącznikiem p. 2.1. Całość wstrząsać do momentu uzyskania jednolitej zawiesiny. Przed wstrząsaniem należy dodać do kolby z próbką wyjąłowane koraliki szklane (15 do 20 sztuk). Z przygotowanych w ten sposób rozcieńczeń 1:10 należy wykonać kolejne dalsze, przenosząc po 1 cm³ do próbówki zawierającej 9 cm³ zbuforowanej wody peptonowej tak, aby nie dotknąć płynu. Wymieszać dokładnie przez 10-krotne nabieranie do pipety materiału z dolnej części próbówki i przenoszenie go w górne warstwy, zwracając uwagę, aby nie dotknąć pipetą ścianek próbówki.

Z otrzymanego rozcieńczenia (1:100) należy w ten sam sposób wykonać rozcieńczenie 1:1000. Liczbę rozcieńczeń do posiewów należy dobrać tak, aby co najmniej jedno z nich po wysianiu na płytki dawało liczbę kolonii w granicach 30 ÷ 300. Takie liczby uzyskuje się dla produktów jajowych pasteryzowanych przeważnie przy posiewie rozcieńczenia 1/100 i 1/1000.

3.4.2.2. Wykonanie posiewów. Z każdego rozcieńczenia wysiewać po 1 cm³ na jałowe płytki Petriego o średnicy 9 cm. Następnie po upływie nie więcej niż 15 min zalewać każdą płytkę z posiewem około 20 cm³ upłynionego i schłodzonego do temperatury 45 °C podłoża agarowego, przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.2. Zawartość płytki należy bezpośrednio po wylaniu podłoża agarowego, dokładnie wymieszać i pozostawić na poziomej powierzchni do czasu zestalenia się podłoża. Płytki należy umieścić w cieplarni

o temperaturze 30 °C w pozycji odwróconej do góry dnem. Inkubację należy prowadzić w temperaturze 30 ± 1 °C przez 72 h.

3.4.2.3. Odczytanie wyników. Po inkubacji należy policzyć wyrosłe na podłożu agarowym kolonie wybierając takie rozcieńczenie, w którego posiewie liczba kolonii na płytkach mieści się w granicach 30 ÷ 300 kolonii. Z liczby kolonii, uzyskanych na dwóch równoległe posianych płytkach, oblicza się następnie średnią arytmetyczną liczby kolonii dla danego rozcieńczenia.

Obliczone średnie arytmetyczne należy zaokrąglić w następujący sposób:

— jeżeli otrzymana liczba jest mniejsza niż 100, należy zaokrąglić ją do najbliższej wielokrotności 5

$$98 = 100$$

$$92 = 90$$

$$95 = 95$$

— jeżeli otrzymana liczba jest większa niż 100 i kończy się na 5, należy zaokrąglić ją do najbliższej wielokrotności 20

$$115 = 120$$

$$125 = 120$$

$$135 = 140$$

— jeżeli otrzymana liczba jest większa niż 100 i nie kończy się na 5, należy zaokrąglić ją do najbliższej wielokrotności 10

$$112 = 110$$

$$117 = 120$$

$$121 = 120$$

$$128 = 130$$

Wynik należy podać w postaci potęgi liczb zawartych między 1,0 a 9,9 pomnożonej przez 10^x, gdzie x — odpowiednia potęga. Np. w posiewach rozcieńczenia 1:1000 stwierdza się 240 kolonii, co wynosi po pomnożeniu przez odwrotność rozcieńczenia 240 000; wynik należy podać w postaci 2,4 × 10⁵.

Jeżeli stwierdza się mniej niż 30 kolonii z najniższego rozcieńczenia dziesiątego, wynik należy podać jako mniej niż 30 drobnoustrójów · n/cm³ lub g produktu, gdzie n — wskaźnik rozcieńczenia.

Jeżeli nie stwierdza się wzrostu kolonii na płytkach z najmniejszego posianego rozcieńczenia dziesiątego, to wynik należy podać jako 1 drobnoustrój · n/cm³ lub g produktu, gdzie n — wskaźnik rozcieńczenia.

Jeżeli stwierdza się więcej niż 300 kolonii na płytce z najwyższego rozcieńczenia dziesiątego, to wynik należy podać jako więcej niż 300 · n/cm³ lub g produktu, gdzie n — wskaźnik rozcieńczenia.

3.4.3. Oznaczanie NPL (najbardziej prawdopodobnej liczby) pałeczek z grupy coli

3.4.3.1. Wykonanie posiewów. Z każdego rozcieńczenia posiać do trzech kolejnych próbek zawierających po 10 cm³ podłoża przygotowanego wg załącznika p. 2.3 po 1 cm³ rozcieńczeń: 1:10; 1:100 i 1:1000 badanego produktu przygotowanego wg 3.4.2.1. Do posiewu każdego rozcieńczenia należy użyć oddzielnej pipety. Inkubację posiewów należy prowadzić w temperaturze 37 ± 1 °C przez 24 ÷ 48 h.

3.4.3.2. Odczytanie i potwierdzenie wyników. Po 24 h inkubacji należy odczytać wynik na podstawie obec-

ności gazu w probówkach Durhama. Próby z wynikiem ujemnym umieścić w termostacie na dalsze 24 h. Odczytać wynik po 48 h inkubacji i przesiał oczkiem bakteriologicznym z każdej próbki z wynikiem dodatnim na podłożu z zielenią brylantową przygotowane zgodnie z załącznikiem p. 2.8 oraz równoległe wykonać wg 3.4.9 preparat bakterioskopowy barwiony metodą Grama.

Obecność pałeczek gramujemnych w preparacie bakterioskopowym potwierdza wynik dodatni uzyskany na podłożu Mac Conkey'a, który należy odczytać z tabl. 6.

Tablica 6. Najbardziej prawdopodobna liczba (NPL) pałeczek z grupy *coli* w przetworach jajowych $3 \cdot 0,1$ g; $3 \cdot 0,01$; $3 \cdot 0,001$ g

Wynik	NPL	Poziomy ufnosci			
		99 %	95 %		
0 1 0	3	1	23	1	17
1 0 0	4	1	28	1	21
1 0 1	7	1	35	2	27
1 1 0	7	1	36	2	26
1 2 0	11	2	44	4	35
2 0 0	9	1	50	2	38
2 0 1	14	3	62	5	48
2 1 0	15	3	65	5	50
2 1 1	20	5	77	8	61
2 2 0	21	5	80	8	63
3 0 0	23	4	177	7	129
3 0 1	40	10	230	10	180
3 1 0	40	10	290	20	210
3 1 1	70	20	370	20	280
3 2 0	90	20	520	30	390
3 2 1	150	30	660	50	510
3 2 2	210	50	820	80	640
3 3 0	200	100	1900	100	1400
3 3 1	500	100	3200	200	2400
3 3 2	1100	200	6400	300	4800

W tablicy podano jedynie najbardziej prawdopodobne wyniki, jakie uzyskuje się dla przetworów jajowych w serii badanych prób. Jeżeli wynik nie mieści się w tablicy, to znaczy, że jest on niemiernodajny i całe badanie należy powtórzyć.

3.4.4. Oznaczanie obecności bakterii z grupy *coli* w określonej ilości badanej próbki

3.4.4.1. Wykonanie oznaczania. Do trzech kolejnych probówek zawierających po 10 cm^3 podłoża Mac Conkey'a z purpurą bromokrezolową przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.3 wprowadzić po 1 cm^3 produktu w odpowiednich rozcieńczeniach, przygotowanych zgodnie z 3.4.2.1.

Posiewy inkubować w temperaturze $37 \pm 1^\circ \text{C}$ przez 48 h.

3.4.4.2. Odczytanie wyników. Po 48 h inkubacji należy sprawdzić obecność gazu w probówkach Durhama. W przypadku wyników dodatnich, należy z każdej próbki z wynikiem dodatnim wykonać posiew na podłożu z zielenią brylantową przygotowane zgodnie z załącznikiem p. 2.8.

Posiewy inkubować w temperaturze $37 \pm 1^\circ \text{C}$ przez 48 h.

Sprawdzić obecność gazu w probówkach Durhama na podłożu z zielenią brylantową. Równoległe z po-

siewem należy wykonać wg 3.4.9 preparat bakterioskopowy barwiony metodą Grama, który należy sprawdzić na obecność pałeczek gramujemnych.

Obecność gazu na podłożu z zielenią brylantową i pałeczek gramujemnych w preparacie bakterioskopowym potwierdzają wynik dodatni na podłożu Mac Conkey'a.

Wynik należy podać: pałeczki z grupy *coli* obecne (+) lub nieobecne (-).

Gdy np. wzrost wystąpił w rozcieńczeniu 1:10, należy podać: obecne w $0,1 \text{ cm}^3$ (lub $0,1 \text{ g}$).

3.4.5. Oznaczanie gronkowców chorobotwórczych (koagulazododatnich). Do badania należy użyć rozcieńczenia 1:10 produktu, przygotowanego zgodnie z 3.4.2.1. Oznaczanie wykonać zgodnie z PN-75/A-04024.

3.4.6. Wykrywanie obecności pałeczek z grupy *Salmonella*

3.4.6.1. Przygotowanie próbek do posiewów. Do badania należy odważyć w warunkach jałowych 25 g lub odmierzyć pipetą 25 cm^3 badanego produktu. Produkt w sterylnej kolbie pojemności 500 cm^3 należy zalać 225 cm^3 zbuforowanej wody peptonowej, przygotowanej zgodnie z załącznikiem p. 2.1. Zawartość kolby należy wymieszać, aby uzyskać jednorodną zawiesinę. Czynność tę należy wykonywać ruchem okrężnym, zwracając uwagę, aby korek nie uległ zamoczeniu.

3.4.6.2. Przednamnażanie. Kolbę umieścić w cieplarni o temperaturze $37 \pm 1^\circ \text{C}$ i inkubować przez czas nie krótszy niż 16 h i nie dłuższy niż 20 h.

3.4.6.3. Namnażanie selektywne. Do kolby zawierającej 1000 cm^3 podłoża z kwaśnym seleninem sodowym i cystyną, przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.5 oraz do 1000 cm^3 podłoża z czterotianem sodowym, przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.6, przenieść z każdej kolby, w której prowadzono przednamnażanie, po 10 cm^3 hodowli. Przed posiewem oba podłoża do namnażania selektywnego należy ogrzać do temperatury $42 \div 43^\circ \text{C}$. Inkubację należy prowadzić w temperaturze $42 \div 43^\circ \text{C}$ przez 48 h. Temperatura inkubacji nie powinna przekraczać 43°C .

3.4.6.4. Posiew na podłożu selektywne. Po inkubacji hodowli na podłożach selektywnie namnażających przez $18 \div 24$ h należy przesiał oczkiem bakteriologicznym o średnicy oczka $2,5 \div 3,0 \text{ mm}$ na powierzchnię podłoża z zielenią brylantową i czerwienią fenolową, przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.9 i podłoża SS, przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.7, w taki sposób, aby można było wyodrębnić pojedyncze kolonie. Zaleca się używanie płytek Petriego o średnicy 10 cm i posiewanie bez opalania oczka bakteriologicznego. Posiewy należy inkubować w temperaturze $37 \pm 1^\circ \text{C}$ przez 48 h. Po inkubacji przez pierwsze $20 \div 24$ h należy obejrzeć wzrost na płytkach i ocenić obecność kolonii typowych dla rodzaju *Salmonella*. Jeżeli wzrost jest nikły i nietypowy dla *Salmonella*, należy dalej prowadzić inkubację przez $20 \div 24$ h i ponownie określić wygląd wyrosłych na płytkach kolonii.

3.4.6.5. Badania potwierdzające. Każdą typową lub podejrzaną kolonię należy poddać badaniu potwierdzającemu, które polega na tym, że z każdej płytki z pod-

łożem selektywnym należy przeszczepić 5 typowych kolonii lub podejrzanych o przynależność do grupy *Salmonella*, na podłoże agarowe przygotowane zgodnie z załącznikiem p. 2.2. Przesiew należy wykonać oczkiem bakteriologicznym na powierzchni podłoża. Posiewy inkubuje się w temperaturze 37 ± 1 °C przez 20 ÷ 24 h. Wyrosłe kolonie (czyste kultury) poddaje się badaniom biochemicznym i serologicznym, zgodnie z PN-64/A-04023.

3.4.7. Oznaczenie liczby drożdży i pleśni. Z odpowiednich rozcieńczeń produktu, przygotowanych zgodnie z 3.4.2.1, wykonać posiew na podłoże syntetyczne przygotowane zgodnie z załącznikiem p. 2.10. Stosować technikę posiewu wg 3.4.2.2. Inkubację należy prowadzić w temperaturze 20 ÷ 25 °C przez 3 ÷ 5 dni. Obserwować wzrost co 48 h. Oddzielnie należy liczyć kolonie drożdży i pleśni. Przypadki wątpliwe sprawdzić pod mikroskopem, sporządzając wg 3.4.9 preparat bakterioskopowy barwiony metodą Grama. Obliczyć liczbę drożdży i pleśni wg 3.4.2.3.

3.4.8. Oznaczenie obecności pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*

3.4.8.1. Wykonanie oznaczenia. 1 cm³ produktu lub 0,1 g rozcieńczonego produktu wprowadzić do próbki zawierającej 10 cm³ podłoża wg Mossela, przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.13. Posiewy inkubować w temperaturze 37 ± 1 °C przez 18 ÷ 20 h. Po upływie tego czasu przesiał oczkiem bakteriologicznym na podłoże wg Mac Conkey'a, przygotowane zgodnie z załącznikiem p. 2.4. Posiewy inkubować w temperaturze 37 ± 1 °C przez 18 ÷ 24 h. Z wyrosłymi na podłożu Mac Conkey'a koloniami należy następnie wykonać próbę na obecność oksydazy.

3.4.8.2. Próba na obecność oksydazy wg Gaby i Handley'a

a) **Przygotowanie roztworów.** Przygotować 0,1-pro-

centowy roztwór chlorowodoru dwumetylo-*p*-fenylenodwuaminy (roztwór I) oraz 1-procentowy roztwór α -naftolu w 95-procentowym alkoholu etylowym (roztwór II). Roztwory te należy przechowywać w chłodni w ciemnych butelkach z doszlifowanym korkiem. Gdy roztwór przybierze wyraźnie niebieskie zabarwienie, nie należy go używać.

b) Wykonanie próby. Na kolonie wyrosłe na podłożu Mac Conkey'a o barwie czerwono-fioletowej z otoczką czerwono-fioletowego precypitatu należy nanieść po 1 kropli mieszaniny roztworów I i II w stosunku 1:3 sporządzonej bezpośrednio przed wykonaniem oznaczenia i obserwować zmianę barwy kolonii:

— kolonie pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* nie zmieniają zabarwienia (reakcja ujemna),

— kolonie pałeczek z rodzaju *Pseudomonas Alcaligenes* i *Aeromonas* barwią się w ciągu 2 ÷ 5 min na kolor intensywnie niebieski (reakcja dodatnia).

3.4.9. Wykonanie preparatu bakterioskopowego barwionego metodą Grama. Na szkiełku przedmiotowym, uprzednio odtłuszczonym, należy umieścić za pomocą oczka bakteriologicznego kroplę zawiesiny bakterii w płynie fizjologicznym, przygotowanym zgodnie z załącznikiem p. 2.11. Kroplę należy rozprowadzić oczkiem bakteriologicznym po powierzchni szkiełka. Preparat wysuszyć w temperaturze pokojowej. Po wysuszeniu preparat utrwalić przez 3-krotne przeprowadzenie go przez płomień palnika gazowego. Utrwalony preparat należy barwić następująco: 2 min fioletem goryczkowym lub fioletem krystalicznym przygotowanym wg zał. p. 2.12.1, 1 min płynem Lugola przygotowanym wg zał. p. 2.12.2, odbarwić preparat alkoholem przez 20 ÷ 30 s i sflukać wodą w chwili, gdy wraz z alkoholem przestaje wydzielać się barwnik. Sflukać wodą destylowaną. Barwić przez 20 ÷ 30 s fuksyną fenolową przygotowaną wg zał. p. 2.12.3, rozcieńczoną 10-krotnie.

K O N I E C

Załącznik

Informacje dodatkowe

PODŁOŻA HODOWLANE, PŁYNY DO ROZCIĘNCZEŃ, BARWNIKI

1. MATERIAŁY PODSTAWOWE

Dla zapewnienia jednorodności i porównywalności wyników badań zaleca się stosowanie składników chemicznych o takim samym stopniu czystości lub suchych podłoży gotowych. Należy używać wody destylowanej. Instrukcje producentów przy korzystaniu z gotowych podłoży powinny być ściśle przestrzegane. Każdą partię podłoża należy sprawdzić na jałowość.

2. PODŁOŻA HODOWLANE

2.1. Zbuforowana woda peptonowa

— pepton	10,0 g,
— chlorek sodowy (NaCl)	5,0 g,
— fosforan sodowy dwuzasadowy (Na ₂ HPO ₄)	9,0 g,
— fosforan potasowy jednozasadowy (KH ₂ PO ₄)	1,5 g,
— woda destylowana	1000 cm ³ .

Składniki rozpuścić w wodzie przez zagotowanie, doprowadzić pH tak, aby po sterylizacji wynosiło 7,0 ± 0,1 w temperaturze 20 °C. Przenieść podłoże ilościowo po 225 cm³ do kolby pojemności 500 cm³. Podłoże sterylizować w temperaturze 121 ± 1 °C przez 20 min.

2.2. Agar odżywczy

— ekstrakt drożdżowy suchy	2,5 g,
— enzymatyczny hydrolizat kazeiny	5,0 g,
— glukoza	1,0 g,
— agar	12,0 g,
— woda destylowana	1000 cm ³ .

Rozpuścić suche składniki podłoża lub gotowe suche podłoże w wodzie przez zagotowanie. Doprowadzić pH tak, aby po zagotowaniu wynosiło 7 ± 0,2 w temperaturze 20 °C. Przenieść podłoże do kolby pojemności nie większej niż 500 cm³. Podłoże sterylizować przez 20 min w temperaturze 121 ± 1 °C.

2.3. Podłoże wg Mac Conkey'a z purpurą bromokrezolową

— taurocholan sodowy	5 g,
— laktoza	10 g,
— pepton	20 g,
— chlorek sodowy (NaCl)	5 g,
— woda destylowana	1000 cm ³ .

Składniki rozpuścić w parze, dodać 10 g laktozy, doprowadzić pH do 7,4 ÷ 7,5, jeżeli zachodzi potrzeba, przesączyć. Dodać 10 cm³ 1-procentowego roztworu wodnego BCP. Podłoże rozlać po 10 cm³ do probówek z rurkami Durhama i sterylizować w temperaturze 121 °C przez 15 min.

2.4. Podłoże wg Mac Conkey'a

— pepton Bacto	17 g,
— pepton Proteose	3 g,
— laktoza	10 g,
— dezoksycholan sodu	1,5 g,
— chlorek sodowy (NaCl)	5 g,

— agar	20 g,
— czerwień obojętna, 1-procentowy roztwór	3 cm ³ .
— fiolet krystaliczny, roztwór 0,1-procentowy	1 cm ³ .

W 1000 cm³ wody destylowanej rozpuścić na gorąco peptony, chlorek sodu, dezoksycholan sodu i agar. Doprowadzić pH do 7,6, zagotować i dodać laktozę. Rozlać miarowo do kolb i sterylizować przez 20 min przy ciśnieniu 0,75 hPa. Sprawdzić pH, które powinno wynosić 7,2 ÷ 7,3. Następnie dodać jałowo czerwień obojętną i fiolet krystaliczny i rozlać na płytki.

2.5. Podłoże z kwaśnym seleninem sodowym i cystyną

— kwaśny selenin sodowy	4 g,
— pepton Tryptone (Difco)	5 g,
— fosforan sodowy dwuzasadowy, uwodniony (Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O)	10 g,
— cystyna, roztwór 0,4-procentowy	2,5 cm ³ .
— laktoza	4 g,
— woda destylowana	1000 cm ³ .

Rozpuścić składniki w wodzie destylowanej, doprowadzić pH do 7,0 ÷ 7,1, zagotować, przesączyć przez bibułę i rozlać do probówek. Wyjaławiać w parze bieżącej w ciągu 20 min.

Przygotowanie 0,4-procentowego roztworu cystyny: 4 g cystyny zawiesić w 700 cm³ wody destylowanej, ogrzać do temperatury 70 ÷ 80 °C i dodawać kroplami stężony kwas solny do rozpuszczenia osadu; oziębić i dopełnić wodą destylowaną do 1000 cm³.

2.6. Podłoże z czterotianem sodowym

a) Składniki podłoża:

— bulion o pH 7,4 ÷ 7,6	900 cm ³ ,
— węglan wapnia (CaCO ₃)	45 g,
— jod w roztworze wodnym jodku potasu	20 cm ³ .
— tiosiarczan sodowy, uwodniony (Na ₂ S ₂ O ₃ · 5H ₂ O), roztwór 50-procentowy	100 cm ³ .
— żółć bydłęca	50 cm ³ .
— zieleń brylantowa, roztwór 0,1-procentowy	10 cm ³ .

b) Przygotowanie składników podłoża:

— węglan wapnia wyjałowić w kolbie pojemności 2000 cm³ w suszarce o temperaturze 160 °C przez 60 min,

— rozpuścić 25,0 g jodku potasowego i 20,0 g jodu w 100 cm³ wody destylowanej,

— 50,0 g tiosiarczanu sodowego rozpuścić w 100 cm³ wody destylowanej i wyjałowić w autoklawie w temperaturze 121 °C przez 20 min,

— żółć bydłęca przesączyć przez watę i wyjałowić w autoklawie w temperaturze 121 °C przez 20 min.

c) Przygotowanie kompletnego podłoża: do kolby z węglanem wapniowym dodać jałowo bulion, roztwór jodu, tiosiarczan sodu, żółć, zieleń brylantową, dokładnie wymieszać i rozlać do kolb po 50 ÷ 100 cm³; wyjaławiać w parze bieżącej przez 20 min.

2.7. Podłoże SS

— wyciąg mięsny	1000 cm ³ .
— pepton Proteose	10 g,
— chlorek sodowy (NaCl)	5 g,

— tiosiarczan sodowy, uwodniony ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	8,5 g,
— cytrynian sodowy, uwodniony ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	8,5 g,
— dezoksychofan sodowy	8,5 g,
— cytrynian żelaza ($\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	1,0 g,
— laktoza	10,0 g,
— agar	20,0 g,
— czerwien obojętna, roztwór 1-procentowy	2,5 cm^3 .
— zieleń brylantowa, roztwór 0,5-procentowy	0,66 cm^3 .

Rozpuścić w wyciągu mięsnym pepton, chlorek sodowy, tiosiarczan sodowy, cytrynian sodowy, dezoksychofan sodowy i agar. Doprowadzić pH do $7,8 \div 7,9$, zagotować, dodać cytrynian żelazowy, laktozę, zagotować, sprawdzić ponownie pH i w razie potrzeby doprowadzić do 7,6, dodać barwniki i dokładnie wymieszać. Rozlać miarowo do kolb. Sterylizować w temperaturze 117°C przez 20 min. Po wyjęciu z autoklawu rozlać na płytki. Końcowe pH powinno wynosić 7,2.

2.8. Podłoże z żółcią i zielenią brylantową

— pepton Bacto (Difco)	10 g,
— laktoza	10 g,
— żółć wołowa	200 cm^3 ,
— zieleń brylantowa, roztwór 0,1-procentowy	13,3 cm^3 ,
— woda destylowana	800 cm^3 .

Do wody destylowanej dodać żółć i pepton. Rozpuścić składniki i doprowadzić pH do 7,4, zagotować i przesączyć przez bibułę, dodać laktozę i zieleń brylantową. Rozlać do probówek z rurkami Durhama po 10 cm^3 . Wyjaławiać w temperaturze 117°C w ciągu 30 min. Końcowe pH powinno wynosić $7,1 \div 7,4$.

2.9. Podłoże agarowe z zielenią brylantową i czerwinią fenolową

2.9.1. Składniki podłoża

— podłoże podstawowe	900 cm^3 ,
— roztwór czerwieni fenolowej i cukrów brylantowej	100 cm^3 ,
— 0,5-procentowy roztwór zieleni brylantowej	1 cm^3 .

2.9.2. Przygotowanie składników

a) Podłoże podstawowe

— ekstrakt mięsny	4 g,
— pepton	10 g,
— chlorek sodowy (NaCl)	3,1 g,
— fosforan sodowy, dwuzasadowy (Na_2HPO_4)	1,0 g,
— fosforan sodowy, jednozasadowy	

($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,6 g,
— agar	12 g,
— woda destylowana	900 cm^3 .

Składniki rozpuścić przez zagotowanie w parze, doprowadzić pH do 7,0 i wyjałowić w autoklawie w temperaturze 121°C przez 15 min.

b) Roztwór czerwieni fenolowej i cukrów

— laktoza	10,4 g,
— sacharoza	10,4 g,
— czerwien fenolowa	0,09 g,
— wodą destylowaną dopełnić do	100 cm^3 .

Rozpuścić składniki na łaźni wodnej o temperaturze 70°C . Schłodzić do temperatury 55°C i używać natychmiast.

c) Roztwór zieleni brylantowej

— zieleń brylantowa	0,5 g,
— woda destylowana	100 cm^3 .

Rozpuścić zieleń brylantową w wodzie. Przechowywać w ciemnej butelce przez 7 dni, w temperaturze pokojowej. Od czasu do czasu zamieszać przez wstrząsanie.

2.9.3. Przygotowanie podłoża agarowego. Do 100 cm^3 roztworu cukrowego czerwieni fenolowej, schłodzonego do temperatury 55°C , dodać w sposób jałowy 1 cm^3 roztworu zieleni brylantowej, zmieszać całość i dodać do podłoża podstawowego o temperaturze $50 \div 55^\circ\text{C}$. Dokładnie wymieszać i rozlać natychmiast do jałowych płytek Petriego.

Przed posiewem płytki suszyć, ustawiając je dnem do góry w temperaturze 37°C przez 15 min.

2.10. Podłoże syntetyczne do oznaczania pleśni i drożdży

— azotan amonowy	1,0 g,
— siarczan amonowy	1,0 g,
— fosforan potasowy, dwuzasadowy (K_2HPO_4)	4,0 g,
— fosforan potasowy jednozasadowy (KH_2PO_4)	2,0 g,
— chlorek sodowy (NaCl)	1,0 g,
— glukoza	10,0 g,
— ekstrakt drożdżowy	1,0 g,
— agar	15,0 g,
— woda destylowana	1000 cm^3 .

Rozpuścić składniki (z wyjątkiem glukozy) w parze. Rozlać miarowo do butelek. Wyjaławiać w temperaturze 115°C przez 15 min. Po wyjałowieniu pH powinno wynosić $6,6 \pm 0,1$. Przed rozlaniem na płytki na każde 100 cm^3 płynnego podłoża dodać jałowo 5,7 cm^3 jałowego roztworu 10-procentowego kwasu cytrynowego. Roztwór należy wyjaławiać w temperaturze 121°C przez 20 min. Końcowe pH podłoża powinno wynosić $3,5 \pm 0,1$.

2.11. Płyn fizjologiczny

— chlorek sodowy (NaCl)	9,0 g,
— woda destylowana	1000 cm^3 .

Sterylizować w temperaturze 121°C przez 20 min.

2.12. Barwniki do barwienia preparatu bakterioskopowego metodą Grama

2.12.1. Roztwór fenolowy fioletu goryczkowego lub krystalicznego

a) fiolet goryczkowy krystaliczny	0,4 g,
alkohol etylowy 96-procentowy	10,0 cm^3 ,
b) 1-procentowy roztwór fenolu	100,0 cm^3 .

Zmieszać roztwory wg poz. a) i b).

2.12.2. Płyn Lugola

— jod	1,0 g,
— jodek potasowy	2,0 g,
— woda destylowana	300,0 cm^3 .

Jodek potasowy rozpuścić w kilku cm³ wody, dodać jodu i po rozpuszczeniu dopełnić pozostałą wodą. Przechowywać w ciemnych butelkach.

2.12.3. Fuksyna fenolowa

- | | |
|--------------------------------|-------------------------|
| a) fuksyna zasadowa | 0,3 g, |
| alkohol etylowy 96-procentowy | 10,0 cm ³ , |
| b) 5-procentowy roztwór fenolu | 100,0 cm ³ . |

Zmieszać roztwory wg poz. a) i b).

2.13. Podłoże wg Mossela do namnażania pałeczek

Enterobacteriaceae

- | | |
|-----------|---------|
| — pepton | 10,0 g, |
| — glukoza | 5,0 g, |

- | | |
|---|--------------------------|
| — fosforan sodowy dwuzasadowy (Na ₂ HPO ₄) | 8,0 g, |
| — fosforan sodowy jednozasadowy (NaHPO ₄) | 2,0 g, |
| — zieleń brylantowa | 15,0 mg, |
| — żółć wołowa | 200,0 g, |
| — woda destylowana | 1000,0 cm ³ . |

Składniki rozpuścić w wodzie destylowanej, nastawić pH na 7,3 ±0,1, sterylizować przez 15 min w temperaturze 121 °C. Należy zwrócić uwagę na szybkie ogrzewanie i schładzanie, aby nie zmniejszyć zawartości zieleni brylantowej.

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Centralny Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Drobniarstwa, Poznań.

2. Istotne zmiany w stosunku do BN-72/8036-05

- zmieniono całkowicie układ normy przyjmując rodzaje badań jako kryterium podziału treści normy,
- ujednolicono i unowocześniono metody pobierania próbek,
- w badaniach fizykochemicznych obejmujących kilka przetworów wprowadzono zakres stosowania metody,
- wyeliminowano metody oznaczania albuminy krystalicznej,
- uściślono opisy metod oznaczania.

3. Normy związane

PN-59/A-04010 Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości arsenu
 PN-80/A-04011 Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości ołowiu
 PN-80/A-04012 Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości miedzi

PN-59/A-04013 Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości cynku
 PN-80/A-04014 Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości cyny
 PN-64/A-04023 Artykuły żywnościowe. Wykrywanie drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*

PN-75/A-04024 Produkty żywnościowe. Wykrywanie i ilościowe oznaczanie gronkowców chorobotwórczych (koagulazododatnich)

PN-73/A-86502 Jaja w proszku

BN-74/8036-01 Przetwory jajowe mrożone. Żółtko. Białko

BN-72/8036-02 Przetwory jajowe. Masa jajowa mrożona

BN-74/8036-09 Przetwory jajowe suszone. Żółtko w proszku. Białko w proszku

4. Autorzy projektu normy — dr A. Płotka i mgr Z. Woś — Centralny Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Drobniarstwa, Poznań.

- 1 **BN-83/8036-05 Przetwory jajowe. Pobieranie próbek i metody badań** 1293 **poprawka 1**

W punkcie 3.3.4.3. **Wykonanie oznaczenia**, w trzecim zdaniu, temperatura, zamiast: 45°C, powinno być: 65°C.

(Biuletyn PKNMiJ nr 6/84 poz. 45)

przez Dyrektora Centralnego Ośrodka Badawczo-Rozwojowego Drobiarstwa

- 13 **BN-83/8036-05 Przetwory jajowe. Pobieranie próbek i metody badań** 1219 **zmiana 1**
86.04.23

W punkcie 3.3.6.4, szóste zdanie zmienia się następująco: Temperaturę łaźni doprowadzić do wrzenia i utrzymywać ją przez 60 minut, lekko wstrząsając naczynie co kilka minut.

poprawka 1 Biuletyn PKNMiJ nr 6/84 poz. 44

(Biuletyn PKNMiJ nr 8/86 poz. 73)

przez Dyrektora Centralnego Ośrodka Badawczo-Rozwojowego

- 16 **BN-83/8036-05 Przetwory jajowe. Pobieranie próbek i metody badań** 1219 **zmiana 2**
88.08.18

W punkcie 3.4.6.3. **Namnażanie selektywne**, pierwsze zdanie zmienia się następująco:

Z hodowli przygotowanej wg 3.4.6.2 należy przenieść po 10 cm³ do kolby zawierającej 100 cm³ podłoża z kwaśnym seleninem sodowym i systyną, przygotowano zgodnie z załącznikiem p. 2.6 oraz do kolby zawierającej 100 cm³ podłoża z czterotionianem sodowym, przygotowanego zgodnie z załącznikiem p. 2.6.

poprawka 1 — Biuletyn PKNMiJ nr 6/84 poz. 44
zmiana 1 — Biuletyn PKNMiJ nr 8/86 poz. 73

(Biuletyn PKNMiJ nr 12/88 poz. 137)

przez Dyrektora Centralnego Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych

44. **BN-82/8136-05 Ekstrakty kaw zbożowych** 1293 **zmiana 3**
90.12.09

Punkt 4.2.2. **Okres przechowywania** — uzupełnia się następująco:
— w torebkach z poliestru metalizowanego laminowanego polietylenem —
12 miesięcy.

zmiana 1 — Biuletyn PKNMiJ nr 7/86 poz. 64
zmiana 2 — Biuletyn PKNMiJ nr 8/89 poz. 76

(Biuletyn PKNMiJ nr 3/91 poz. 25)