31971L0250

ESIMENE KOMISJONI DIREKTIIV,

15. juuni 1971,

millega kehtestatakse ühenduse analüüsimeetodid söötade ametlikuks kontrollimiseks

(71/250/EMÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Majandusühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 20. juuli 1970. aasta direktiivi loomasööda ametlikuks kontrollimiseks ettenähtud ühenduse proovivõtu- ja analüüsimeetodite kehtestamise kohta, ([1]) eriti selle artiklit 2,

ning arvestades, et:

kõnealuse direktiiviga nähakse ette, et söötade ametlik kontrollimine söötade kvaliteeti ja koostist reguleerivates õigusaktides sätestatud tingimustele vastavuse kindlakstegemiseks peab toimuma ühenduse proovivõtu- ja analüüsimeetodite abil;

kõik vajalikud analüüsimeetodid tuleks kehtestada niipea kui võimalik; selle protsessi esimene etapp on meetodite kehtestamine vesiniktsüaniidhappe, kaltsiumi, karbonaatide, kogu tuha, soolhappes lahustumatu tuha, kloriididest pärit kloori, sinepiõli, laktoosi, kaaliumi, naatriumi, suhkrute, teobromiini ja karbamiidi määramiseks, alkaloidide määramiseks lupiinides ning sojast saadud toodete ureaasi aktiivsuse hindamiseks;

käesolevas direktiivis ettenähtud meetmed on kooskõlas alalise söödakomitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

Artikkel 1

Liikmesriigid sätestavad, et söötade ametlik kontroll nendes sisalduva vesiniktsüaniidhappe, kaltsiumi, karbonaatide, kogu tuha, soolhappes lahustumatu tuha, kloriididest pärit kloori, sinepiõli, laktoosi, kaaliumi, naatriumi, suhkrute, teobromiini ja karbamiidi määramiseks, alkaloidide määramiseks lupiinides ning sojast saadud toodete ureaasi aktiivsuse hindamiseks toimub käesoleva direktiivi lisas ettenähtud meetodite abil.

Artikkel 2

Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi järgimiseks vajalikud õigusaktid hiljemalt 1. juulil 1972. Liikmesriigid teatavad sellest viivitamata komisjonile.

Artikkel 3

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 15. juuni 1971

Komisjoni nimel

president

Franco M. MALFATTI

([1]) EÜT L 170, 3.8.1970, lk 2.

LISA

SÖÖDAKOMPONENTIDE ANALÜÜSIMEETODID

1. SISSEJUHATUS

Söödakomponentide analüüsimeetodid on üldiselt kohaldatavad kõigi liht- ja segasöötade suhtes. Teatavate söötade puhul on nende koostisomaduste tõttu siiski vaja eraldi analüüsimeetodeid. Sellised juhud on toodud meetodite kirjelduses pealkirja "Tähelepanekud" all.

Kui söödakomponendi määramiseks võib kasutada kahte või enamat meetodit, valib meetodi asjaomane labor, kui ei ole sätestatud teisiti; kasutatud meetod tuleb märkida analüüsitõendile.

Proovi ettevalmistamine analüüsiks

On oluline, et keemiline analüüs tehtaks *homogeense prooviga*. Teatavaid makro- ja mikroskoopilisi määramisi peaks prooviga siiski olema võimalik teha ja proovi niiskusesisaldust määrata samas seisundis, nagu proov laborisse jõuab. Nende kahe tingimuse täitmiseks *jagatakse proov kaheks osaks. Üks osa jäetakse sellisena, nagu see on; teine osa valmistatakse keemiliseks analüüsiks ette järgmiselt.*

Proov jagatakse osadeks mehaaniliselt või käsitsi pärast kogu proovi hoolikat segamist puhtal kuival pinnal. Käsitsi jagamise puhul soovitatakse kasutada kvarteerimismeetodit, st proove võetakse kordamööda kahest diagonaalselt vastastikku asuvast osast. Lõpuks võetakse analüüsiks umbes 100 g massiga osa, mis vajaduse korral purustatakse, nii et kogu proov läbiks 1 mm ümmarguste avadega sõela. See proov pannakse kohe õhukindla korgiga kuiva konteinerisse ning plommitakse.

Kui proov on väga niiske, tuleb see eelnevalt kuivatada, et niiskusesisaldus oleks 8–12 %. Selleks kuivatatakse proovi sobival temperatuuril sobiva aja jooksul.

Reaktiivid ja seadmed

Analüüsimeetodite kirjelduses on märgitud üksnes spetsiaalsed või eristandarditele vastavad instrumendid ja seadmed. Vajalikuks ei ole peetud nimetada kõiki seadmeid ega instrumente, mis on katselaborite igapäevase varustuse osa.

Kui lahjendamise või pesemise juures nimetatakse *vett*, peetakse alati silmas *destilleeritud vett*. Kui mainitakse reaktiivi *lahust* ilma muude märgeteta, peetakse samuti silmas *lahust destilleeritud vees*.

Tulemuste väljendamine

Analüüsitõendil märgitav tulemus peab olema vähemalt kahe katse põhjal saadud keskmine väärtus. Kui erisätetes ei ole ette nähtud teisiti, väljendatakse tulemus protsendimäärana esialgsest laborisse jõudnud proovist. Tulemus ei tohi sisaldada rohkem tüvenumbreid, kui kasutatud analüüsimeetodi täpsus lubab.

2. VESINIKTSÜANIIDHAPPE MÄÄRAMINE

1. Eesmärk ja rakendusala

Selle meetodiga on võimalik määrata vaba ja glükosiididena kombineeritud vesiniktsüaniidhappe taset söödas, eelkõige linaseemnetest, maniokijahust ja teatavatest oaliikidest saadud toodetes.

2. Põhimõte

Proov suspendeeritakse vees. Vesiniktsüaniidhape vabaneb ensüümide tegevuse tulemusena, see destilleeritakse auruga ja kogutakse kindlaksmääratud hapestatud hõbenitraadilahuse kogusesse. Hõbetsüaniid eraldatakse filtreerides ja hõbenitraadi ülehulk tiitritakse ammooniumtiotsüanaadi lahusega.

3. Reaktiivid

3.1. Mandlisuspensioon: 20 kooritud mandlit purustatakse 100 ml vees 37–40 °C juures. Kontrollitakse, et 10 ml suspensioonis ei oleks vesiniktsüaniidhapet, kasutades naatriumpikrootpaberit või punkti 5 viimases lõigus kirjeldatud pimekatset.

3.2. 10 % ((massi/mahu) protsent) naatriumatsetaadilahus, fenoolftaleiini suhtes neutraalne.

3.3. Vahutamisvastane emulsioon (nt silikoon).

3.4. Lämmastikhape, d: 1,40.

3.5. Hõbenitraadi lahus: 0,02 N.

3.6. Ammooniumtiotsüanaadi lahus: 0,02 N.

3.7. Ammooniumraudsulfaadi küllastunud lahus.

3.8. Ammoniaak, d: 0,958.

4. Seadmed

4.1. Kuivatuskapp, mille termostaat on reguleeritud temperatuurile 38 °C.

4.2. Aurdestilleerimisseade, mille küljes on kõvera pikendustoruga kondensaator.

4.3. 1 000 ml lihvkorgiga seisukolvid.

4.4. Õlivann.

4.5. 1/20 ml gradueeritud büretт.

5. Töö käik

5 mg täpsusega võetud 20 g proovi kaalutis pannakse 1 l seisukolbi ning lisatakse 50 ml vett ja 10 ml mandlisuspensiooni (3.1). Kolb suletakse ja asetatakse 16 tunniks kuivatuskappi 38 °C juures. Jahutatakse toatemperatuurini ja lisatakse 80 ml vett, 10 ml naatriumatsetaadi lahust (3.2) ja tilk vahutamisvastast emulsiooni (3.3).

Kolb ühendatakse aurdestilleerimisseadme külge ja asetatakse õlivanni, mis on eelnevalt kuumutatud veidi üle 100 °C. Destilleeritakse 200–300 ml vedelikku, juhtides tugeva aurujoa läbi kolvi ja soojendades ettevaatlikult õlivanni. Destillaat kogutakse valguse eest kaitstud Erlenmeyeri kolbi, milles on täpselt 50 ml 0,02 N hõbenitraadi lahust (3.5) ja 1 ml lämmastikhapet (3.4). Kondensaatori pikendustoru peab olema üleni hõbenitraadi lahuses.

Erlenmeyeri kolvi sisu kantakse 500 ml mõõtekolbi, kolb täidetakse veega kuni märgini, sisu segatakse ja filtritakse. Eemaldatakse 250 ml filtraati, lisatakse umbes 1 ml ammooniumraudsulfaadi lahust (3.7) ja tiitritakse hõbenitraadi ülekogus tagasi 0,02 N ammooniumtiotsüanaadi lahusega (3.6), kasutades 1/20 ml gradueeritud büretti.

Vajaduse korral võib 10 ml mandlisuspensiooniga (3.1) teha pimekatse, kasutades sama meetodit, kuid jättes välja analüüsitava proovi.

6. **Tulemuste arvutamine**

Kui pimekatse näitab 0,02 N hõbenitraadi lahuse tarbimist, lahutatakse see väärtus proovi destillaadi tarbitud kogusest. 1 ml 0,02 N AgNO vastab 0,54 mg HCN-le. Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanek**

Kui proov sisaldab suures koguses sulfiide (nt oad), moodustub must hõbesulfiidi sade, mis filtritakse koos hõbetsüaniidi jäägiga. Sellise sademe moodustumine põhjustab 0,02 N hõbenitraadi lahuse kadu ning see kogus tuleb lahutada HCN sisalduse arvutamisel aluseks olevast kogusest. Selleks toimitakse järgmiselt.

Filtril olevat jääki töödeldakse hõbetsüaniidi lahustamiseks 50 ml ammoniaagiga (3.8). Jääk pestakse lahjendatud ammoniaagiga ja seejärel määratakse jäägi hõbedasisaldus. Saadud väärtus arvestatakse ümber 0,02 N hõbenitraadi lahuse milliliitriteks.

Proovi HCN sisaldust võib samuti määrata hapestatud ammoniakaalse filtraadi tiitrimisel lämmastikhappega.

---

3. KALTSIUMI MÄÄRAMINE

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata kaltsiumi üldsisaldust söödas.

2. **Põhimõte**

Kaltsium tuhastatakse, tuhk töödeldakse soolhappega ning kaltsium sadestatakse kaltsiumoksalaadina. Sade lahustatakse väävelhappes ning moodustuv oksaalhape tiitritakse kaaliumpermanganaadi lahusega.

3. **Reaktiivid**

3.1. Soolhape AR, d: 1,14.

3.2. Lämmastikhape AR, d: 1,40.

3.3. Väävelhape AR, d: 1,13.

3.4. Ammoniaak AR, d: 0,98.

3.5. Ammooniumoksalaadi külm küllastunud lahus AR.

3.6. 30 % (massi/mahu) protsent) sidrunhappe lahus AR.

3.7. 5 % (massi/mahu) protsent) ammooniumkloriidi lahus AR.

3.8. 0,04 % (massi/mahu) protsent) broomkresoolrohelise lahus.

3.9. 0,1 N kaaliumpermanganaadi lahus.

4. **Seadmed**

4.1. Elektriline muhvelahi ventilatsiooni ja termostaadiga.

4.2. Plaatina-, kvarts- või portselantiiglid tuhastamiseks.

4.3. Klaasist filtertiiglid poorsusega G_4.

5. **Töö käik**

1 mg täpsusega võetud ligikaudu 5 g proovi kaalutis (või vajaduse korral rohkem) kaltsineeritakse 550 °C juures ja tuhk kantakse 250 ml keeduklaasi.

Lisatakse 40 ml soolhapet (3.1), 60 ml vett ja mõni tilk lämmastikhapet (3.2). Segu lastakse keema ja keedetakse kolmkümmend minutit. Lahus jahutatakse ja kantakse 250 ml mõõtekolbi. Loputatakse, täiendatakse veega kuni märgini, homogeenitakse ja filtritakse.

Vastavalt arvatavale kaltsiumisisaldusele võetakse pipetiga alikvootne kogus, mis sisaldab 10–40 mg kaltsiumi, ja pannakse see 250 ml keeduklaasi. Lisatakse 1 ml sidrunhappe lahust (3.6) ja 5 ml ammooniumkloriidi lahust (3.7).

Täiendatakse veega kuni ligikaudu 100 ml lahuse saamiseni. Segu lastakse keema, lisatakse kaheksa kuni kümme tilka broomkresoolrohelise lahust (3.8) ja 30 ml sooja ammooniumoksalaadi lahust (3.5). Sademe tekke korral lisatakse selle lahustamiseks mõni tilk soolhapet (3.1).

Neutraliseeritakse hästi aeglaselt ammoniaagiga (3.4), segades pidevalt, kuni pH väärtus on 4,4–4,6 (st kui indikaator muudab värvi). Keeduklaas asetatakse keeva vee vanni ja hoitakse seal 30 minutit, et tekkinud sade settiks. Keeduklaas võetakse veevannist välja. Lastakse seista tund aega ja filtritakse läbi G_4 filtertiigli.

Keeduklaas ja tiigel pestakse veega, kuni ammooniumoksalaadi ülekogus on täielikult eemaldatud (kloriidi puudumine pesuvees näitab, et nõusid on pestud piisavalt).

Filtril olev sade lahustatakse 50 ml soojas väävelhappes (3.3). Tiigel loputatakse sooja veega ja filtraat täiendatakse ligikaudu 100 ml-ni. Soojendatakse 70–80 °C-i ja tiitritakse tilkhaaval kaaliumpermanganaadi lahusega (3.9), kuni tekib roosa värvus, mis püsib ühe minuti.

6. **Tulemuste arvutamine**

1 ml 0,1 N kaaliumpermanganaati vastab 2,004 mg kaltsiumile. Saadud tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanekud**

7.1. Väga madala kaltsiumisisalduse puhul toimitakse järgmiselt: kaltsiumoksalaadi sade filtritakse läbi tuhavaba filterpaberi. Pärast pesemist filter kuivatatakse ja tuhastatakse plaatinatiiglis 550 °C juures. Jääk lahustatakse veel kord mõne tilga väävelhappega (3.3), aurustatakse kuivaks, kaltsineeritakse uuesti 550 °C juures ja kaalutakse. Kui p on saadud kaltsiumsulfaadi mass, siis prooviks võetud alikvootse koguse kaltsiumisisaldus = W × 0,2944.

7.2. Kui proov koosneb üksnes mineraalainetest, lahustatakse see soolhappes ilma eelneva tuhastamiseta. Happes raskesti lahustuvad tooted, näiteks kaltsiumalumiiniumfosfaat, sulatatakse enne lahustamist järgmise leeliselise protsessi abil: analüüsitav proov segatakse plaatinatiiglis hoolikalt seguga, mille mass on proovi massist viis korda suurem ja mis koosneb võrdses koguses kaalium- ja naatriumkarbonaadist. Kuumutatakse hoolikalt, kuni segu on täielikult sulanud. Jahutatakse ja lahustatakse soolhappes.

7.3. Kui proovi magneesiumisisaldus on suur, sadestatakse kaltsiumoksalaat teist korda.

4. KARBONAATIDE MÄÄRAMINE

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata harilikult kaltsiumkarbonaadina väljendatavate karbonaatide sisaldust enamikus söötades.

Teatavatel juhtudel (näiteks raudkarbonaadi puhul) tuleb kasutada erimeetodit.

2. **Põhimõte**

Karbonaadid lagunevad soolhappes; tekkiv süsinikdioksiid kogutakse büretti ja gaasi ruumala võrreldakse ruumalaga, mis tekib samadel tingimustel teadaolevast kogusest kaltsiumkarbonaadist AR.

3. **Reaktiivid**

3.1. Soolhape, d: 1,10.

3.2. Kaltsiumkarbonaat, AR.

3.3. Umbes 0,1 N väävelhape, värvitud metüülpunasega.

4. **Seadmed**

Scheibler-Dietrichi aparaat (vt joonis) või samaväärne aparaat.

5. **Töö käik**

Sõltuvalt proovi karbonaadisisaldusest kaalutakse järgmine osa proovist:

0,5 g toodete puhul, mis sisaldavad 50–100 % kaltsiumkarbonaadina väljendatud karbonaate;

1 g toodete puhul, mis sisaldavad 40–50 % kaltsiumkarbonaadina väljendatud karbonaate;

2–3 g muude toodete puhul.

Proovi osa pannakse aparaadi spetsiaalsesse kolbi (4), mille küljes on väike purunematust materjalist toru ja mis sisaldab 10 ml soolhapet (3.1), ning kolb ühendatakse aparaadiga. Kraan (5) keeratakse nii, et toru (1) oleks ühenduses välisõhuga. Kasutades tõstetavat toru (2), mis on täidetud värvitud väävelhappega (3.3) ja ühendatud büreti (1) külge, viiakse vedeliku tase nullmärgini. Torude (1) ja (3) ühendamiseks keeratakse kraani (5) ning kontrollitakse, et vedeliku tase on nullis.

Soolhape (3.1) juhitakse kolbi (4) kallutades aeglaselt proovi osa peale. Rõhu võrdsustamiseks langetatakse toru (2). Kolbi (4) raputatakse, kuni süsinikdioksiidi eraldumine on täielikult lõppenud.

Rõhu taastamiseks viiakse vedelik torudes (1) ja (2) samale tasemele. *Mõne minuti möödudes*, kui gaasi hulk on konstantne, loetakse tulemus.

Samades tingimustes tehakse kontrollkatse 0,5 g kaltsiumkarbonaadiga (3.2).

6. **Tulemuste arvutamine**

Kaltsiumkarbonaadina väljendatud karbonaatide sisaldus grammides arvutatakse protsendimäärana proovist järgmise valemi abil:

$$\frac{V \times 100}{T \times 2W}$$

milles:

V = proovi osast saadud CO_2 milliliitrites.

T = 0,5 g CaCO AR-st saadud CO_2 milliliitrites.

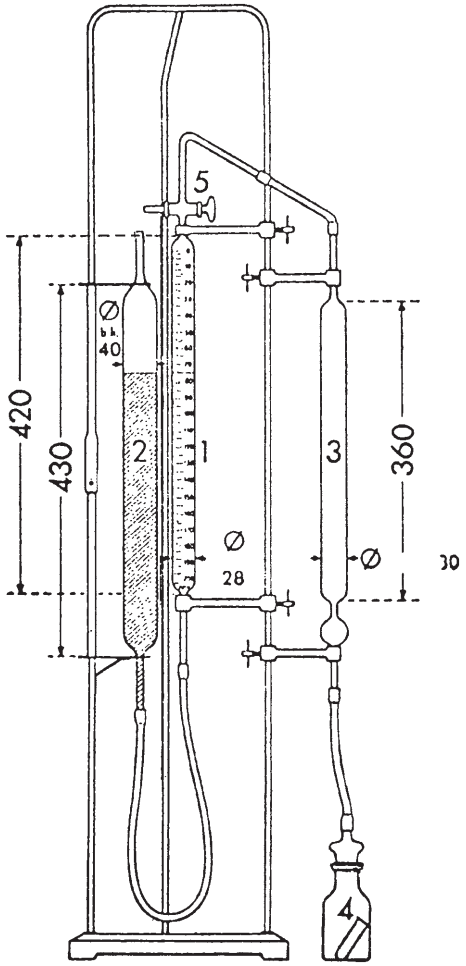
W = proovi osa mass grammides.

7. **Tähelepanekud**

7.1. Kui proovi osa kaalub üle 2 g, lisatakse enne katset kolbi (4) 15 ml destilleeritud vett ja segatakse. Kontrollkatse jaoks võetakse sama kogus vett.

7.2. Kui kasutatava aparaadi maht erineb Scheibler-Dietrichi aparaadi mahust, tuleb proovist ja kontrollainest võetud osasid ning tulemuste arvutamist vastavalt kohandada.

SCHEIBLER-DIETRICHI APARAAT CO_2 MÄÄRAMISEKS



Mõõtkava $\frac{1}{8}$

(millimeetrites)

5. KOGU TUHA MÄÄRAMINE

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata kogu sööda tuhasisaldust.

2. **Põhimõte**

Proov tuhastatakse 550 °C juures; jääk kaalutakse.

3. **Reaktiivid**

20 % ((massi/mahu) protsent) ammooniumnitraadi lahus.

4. **Seadmed**

4.1. Kuumutusplaat.

4.2. Elektriline muhvelahi termostaadiga.

4.3. Nelinurksed (60 × 40 × 25 mm) või ümmargused (läbimõõt 60–75 mm, kõrgus 20–25 mm) plaatinast või plaatina ja kulla sulamist (10 % Pt, 90 % Au) tiiglid tuhastamiseks.

5. **Töö käik**

1 mg täpsusega ligikaudu 5 g proovi kaalutis (2,5 g toodete puhul, millel on kalduvus paisuda) pannakse tuhastamistiiglisse, mis on eelnevalt kaltsineeritud ja tareeritud. Tiigel asetatakse kuumutusplaadile ja kuumutatakse järkjärgult kuni aine söestumiseni. Tiigel asetatakse muhvelahju, mis on seatud temperatuurile 550 °C ± 5 °C. Tiiglit hoitakse sel temperatuuril, kuni tekib valge, helehall või punakas tuhk, milles ilmselt ei ole söeosakesi. Tiigel asetatakse eksikaatorisse, lastakse jahtuda ning kaalutakse viivitamata.

6. **Tulemuste arvutamine**

Jäägi massi arvutamiseks lahutatakse nõu mass.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanekud**

7.1. *Raskesti tuhastatavate ainete* tuhka võib eelnevalt tuhastada vähemalt kolm tundi, seejärel jahutada ja lisada mõned tilgad ammooniumnitraati (ettevaatlikult, et vältida tuha hajumist ja tompude tekkimist). Pärast kuivatuskapis kuivatamist jätkatakse kaltsineerimist. Korratakse seni, kuni aine on täielikult tuhastunud.

7.2. Ainete puhul, mille puhul punktis 7.1 kirjeldatud meetod ei anna tulemust, toimitakse järgmiselt: pärast kolmetunnilist tuhastamist pannakse tuhk sooja vette ja filtritakse läbi väikese tuhavaba filtri. Filter ja selle sisu tuhastatakse esialgses tiiglis. Filtraat pannakse jahtunud tiiglisse, aurutatakse kuivaks, tuhastatakse ja kaalutakse.

7.3. *Õlide ja rasvade* puhul pannakse sobiva suurusega tiiglisse ligikaudu 25 g suurune täpselt kaalutud proov. Aine süüdatakse tuhavaba filterpaberi ribaga ja söestatakse. Pärast põlemist niisutatakse võimalikult vähese veega. Kuivatatakse ja tuhastatakse punkti 5 kohaselt.

6. SOOLHAPPES LAHUSTUMATU TUHA MÄÄRAMINE

1. Eesmärk ja rakendusala

Selle meetodiga on võimalik määrata soolhappes lahustumatute mineraalainete taset söödas. Proovi iseloomust sõltuvalt võib kasutada kahte meetodit.

1.1. *Meetod A*: kohaldatakse orgaaniliste lihtsöötade ja enamiku segasöötade puhul;

1.2. *meetod B*: kohaldatakse mineraalsöötade ja söödasegude puhul ning selliste segasöötade puhul, kus soolhappes lahustumatute ainete sisaldus, mis määratakse meetodiga A, on üle 1 %.

2. Põhimõte

2.1. *Meetod A*: proov tuhastatakse, tuhk keedetakse soolhappes ning lahustumatu jääk filtritakse ja kaalutakse.

2.2. *Meetod B*: proovi töödeldakse soolhappega. Lahus filtritakse, jääk tuhastatakse ja selliselt saadud tuhk töödeldakse meetodi A järgi.

3. Reaktiivid

3.1. 3 N soolhape.

3.2. 20 % ((massi/mahu) protsent) trikloroäädikhappe lahus.

3.3. 1 % ((massi/mahu) protsent) trikloroäädikhappe lahus.

4. Seadmed

4.1. Kuumutusplaat.

4.2. Elektriline muhvelahi termostaadiga.

4.3. Nelinurksed (60 × 40 × 25 mm) või ümmargused (läbimõõt 60–75 mm, kõrgus 20–25 mm) plaatinast või plaatina ja kulla sulamist (10 % Pt, 90 % Au) tiiglid tuhastamiseks.

5. Töö käik

5.1. *Meetod A*

Proov tuhastatakse kogu tuha määramiseks ettenähtud meetodi järgi. Kasutada võib ka kõnealusel analüüsil saadud tuhka.

Tuhk pannakse 250–400 ml keeduklaasi, kasutades 75 ml 3 N soolhapet (3.1). Segu aetakse aeglaselt keema ja keedetakse vaikselt 15 minutit. Soe lahus filtritakse läbi tuhavaba filterpaberi ja jääk pestakse sooja veega, kuni happe reaktsioon ei ole enam nähtav. Filter jäägiga kuivatatakse ja tuhastatakse tareeritud tiiglis temperatuuril mitte alla 550 °C ja mitte üle 700 °C. Jahutatakse eksikaatoris ning kaalutakse.

5.2. *Meetod B*

Võetakse ligikaudu 5 g proovi kaalutis täpsusega 1 mg ja pannakse 250–400 ml keeduklaasi. Lisatakse üksteise järel 25 ml vett ja 25 ml 3 N soolhapet (3.1), segatakse ning oodatakse, kuni kihisemine on lõppenud. Lisatakse veel 50 ml 3 N soolhapet (3.1). Oodatakse gaaside eraldumise lõppemiseni, seejärel asetatakse keeduklaas keeva vee vanni ja hoitakse seal kolmkümmend minutit või vajaduse korral kauem lahuses sisalduva tärklise täielikuks hüdrolüüsiks.

Filtrida soojalt läbi tuhavaba filtri ning pesta filter 50 ml soojas vees (vt tähelepanek 7). Filter jäägiga asetatakse tuhastamiseks ettenähtud tiiglisse, kuivatatakse ja tuhastatakse temperatuuril mitte alla 550 °C ja mitte üle 700 °C. Tuhk pannakse 250–400 ml keeduklaasi, kasutades 75 ml 3 N soolhapet (3.1); jätkatakse vastavalt punkti 5.1 teisele lõigule.

6. **Tulemuste arvutamine**

Jäägi massi arvutamiseks lahutatakse nõu mass. Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanek**

Kui filtrimine osutub raskeks, tehakse analüüs uuesti, sealjuures asendatakse 50 ml 3 N soolhapet (3.1) 50 ml 20 % trikloroäädikhappega (3.2) ja pestakse filter 1 % trikloroäädikhappe soojas lahuses (3.3).

---

7. **KLORIIDIDEST PÄRIT KLOORI MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

See meetod võimaldab määrata kloori kogust, mis sisaldub vees lahustuvates kloriidides ning mis harilikult väljendatakse naatriumkloriidina. See on kohaldatav kõikide söötade puhul.

2. **Põhimõte**

Kloriidid lahustatakse vees. Kui toode sisaldab orgaanilisi aineid, see selitatakse. Lahus hapestatakse kergelt lämmastikhappega ja kloriidid sadestatakse hõbekloriidina hõbenitraadilahuse abil. Hõbenitraadi ülekogus tiitritakse ammooniumtiotsüanaadi lahusega, kasutades Volhardi meetodit.

3. **Reaktiivid**

3.1. 0,1 N ammooniumtiotsüanaadi lahus.

3.2. 0,1 N hõbenitraadi lahus.

3.3. Ammooniumraudsulfaadi küllastunud lahus.

3.4. Lämmastikhape, d: 1,38.

3.5. Dietüüleeter AR.

3.6. Atsetoon AR.

3.7. Carrez' lahus I: vees lahustatakse 24 g tsinkatsetaati, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ja 3 g jää-äädikat. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.8. Carrez' lahus II: vees lahustatakse 10,6 g kaaliumferrotsüaniidi $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.9. Kloriidivaba ja kloriide mitte absorbeeriv aktiivsüsi AR.

4. **Seadmed**

Segur (trummel): umbes 35–40 pööret minutis.

5. **Töö käik**

5.1. *Lahuse valmistamine*

Sõltuvalt proovi iseloomust valmistatakse lahus punkti 5.1.1, 5.1.2 või 5.1.3 kohaselt.

Samal ajal tehakse pimekatse, jättes välja analüüsitava proovi.

5.1.1. *Proovid, mis ei sisalda orgaanilisi aineid*

Täpsusega 1 mg võetakse mitte üle 10 g proovi kaalutis, mis ei sisalda kloriididena rohkem kui 3 g kloori. Kaalutis pannakse 400 ml veega 500 ml mõõtekolbi temperatuuril ligikaudu 20 °C. Segatakse trumlis 30 minutit, täiendatakse veega kuni märgini, homogeenitakse ja filtritakse.

5.1.2. *Orgaanilist ainet sisaldavad proovid, välja arvatud punktis 5.1.3 loetletud tooted*

Täpsusega 1 mg võetud ligikaudu 5 g proovi kaalutis pannakse 1 g aktiivsöega 500 ml mõõtekolbi. Lisatakse 400 ml vett temperatuuriga ligikaudu 20 °C ja 5 ml Carrez' lahust I (3.7), segatakse ning lisatakse 5 ml Carrez lahust II (3.8). Segatakse trumlis 30 minutit, täiendatakse veega kuni märgini, homogeenitakse ja filtritakse.

5.1.3. *Kuumtöödeldud söödad, linakoogid ja -jahu, linajahurikkad tooted ja muud taimeliimi- või kolloidaineterikkad tooted (näiteks dekstriinitud tärklis)*

Lahus valmistatakse punkti 5.1.2 kohaselt, kuid seda ei filtrita. Dekanteeritakse (vajaduse korral), eemaldatakse 100 ml supernatanti ja kantakse 200 ml mõõtekolbi. Segatakse atsetooniga (3.6), täiendatakse veega kuni märgini, homogeenitakse ja filtritakse.

5.2. *Tiitrimine*

Sõltuvalt arvatavast kloorisisaldusest kantakse pipeti abil Erlenmeyeri kolbi 25–100 ml punkti 5.1.1, 5.1.2 või 5.1.3 kohaselt saadud filtraati. Alikvoot ei tohi sisaldada rohkem kui 150 mg kloori (Cl). Vajaduse korral lahjendatakse vähemalt 50 ml veega, lisatakse 5 ml lämmastikhapet (3.4), 20 ml ammooniumraudsulfaadi küllastunud lahust (3.3) ja nullmärgini täidetud büreti abil kaks tilka ammooniumtiotsüanaadi lahust (3.1). Büreti abil lisatakse hõbenitraadi lahust (3.2), nii et saadakse ülekogus 5 ml. Lisatakse 5 ml dietüüleetrit (3.5) ja loksutatakse tugevalt sademe koaguleerimiseks.

Hõbenitraadi ülekogus tiitritakse ammooniumtiotsüanaadi lahusega (3.1), kuni punakaspruun värvus püsib ühe minuti.

6. **Tulemuste arvutamine**

Tiitrimiseks võetud filtraadis sisalduv kloorikogus (W), mis väljendatakse naatriumkloriidina, arvutatakse järgmise valemi abil:

$$W = 5{,}845\ (V_1 - V_2)\ \text{mg}$$

milles:

V_1 = lisatud 0,1 N hõbenitraadi lahus milliliitrites

V_2 = tiitrimiseks kasutatud 0,1 N ammooniumtiotsüanaadi lahus milliliitrites.

Kui pimekatse näitab 0,1 N hõbenitraadi lahuse tarbimist, lahutatakse see väärtus kogusest $(V_1 - V_2)$.

7. **Tähelepanekud**

7.1. Tiitrida võib ka potentsiomeetriliselt.

7.2. Väga õli- ja rasvarikaste toodete puhul rasvatustatakse proov eelnevalt dietüüleetri või petrooleetriga.

7.3. Kalajahu puhul võib tiitrida Mohri meetodi abil.

8. SINEPIÕLI MÄÄRAMINE

1. **Eesmärk ja rakendusala**

See meetod võimaldab määrata auruga destilleeritava ja allüülisotiotsüanaadina väljendatava sinepiõli sisaldust *Brassica* ja *Sinapis*e liikidest valmistatud kookides ja kõnealustest liikidest valmistatud kooke sisaldavates segasöötades.

2. **Põhimõte**

Proov suspendeeritakse vees. Sinepiõli vabaneb ensüümide tegevuse tulemusena, see destilleeritakse etanooliga ja kogutakse lahjendatud ammoniaagis. Lahust töödeldakse soojalt teadaoleva koguse hõbenitraadi lahusega, jahutatakse ja filtritakse. Hõbenitraadi ülekogus tiitritakse ammooniumtiotsüanaadi lahusega.

3. **Reaktiivid**

3.1. Valge sinep (*Sinapis alba*).

3.2. 95–96 % (mahuprotsent) etanool.

3.3. Vahutamisvastane emulsioon (nt silikoon).

3.4. Ammoniaak, d: 0,958.

3.5. 0,1 N hõbenitraadi lahus.

3.6. 0,1 N ammooniumtiotsüanaadi lahus.

3.7. Lämmastikhape, d: 1,40.

3.8. Ammooniumraudsulfaadi küllastunud lahus.

4. **Seadmed**

4.1. 500 ml lihvkorgiga seisukolvid.

4.2. Destilleerimisaparaat, mille küljes on kondensaator ja piiskade kaasahaaramist vältiv seade.

5. **Töö käik**

1 mg täpsusega võetud 10 g proovi kaalutis pannakse 500 ml seisukolbi ning lisatakse 2 g peeneks jahvatatud valget sinepit (3.1) (ensüümiallikas) ja 200 ml vett temperatuuriga 20 °C. Kolb suletakse ja hoitakse sageli loksutades umbes 2 tundi 20 °C juures. Lisatakse 40 ml etanooli (3.2) ja üks tilk vahutamisvastast emulsiooni (3.3). Destilleeritakse ligikaudu 150 ml ja kogutakse destillaat 250 ml mõõtekolbi, milles on 20 ml ammoniaaki (3.4), jälgides, et kondensaatori ots on vedelikuga kaetud. Ammoniaaki sisaldavale lahusele lisatakse 50 ml 0,1 N hõbenitraadi lahust (3.5) (vajaduse korral rohkem), mõõtekolbi kohale asetatakse väike lehter ja segu kuumutatakse keeva vee vanni kohal tund aega. Lastakse jahtuda, täiendatakse veega kuni märgini, segatakse ja filtritakse. Eemaldatakse 100 ml selget filtraati, lisatakse 5 ml lämmastikhapet (3.7) ja umbes 5 ml ammooniumraudsulfaadi lahust (3.8). Hõbenitraadi ülekogus tiitritakse tagasi 0,1 N ammooniumtiotsüanaadi lahusega (3.6).

2 g peeneks jahvatatud valge sinepiga tehakse samal meetodil *pimekatse*, jättes välja analüüsitava proovi.

6. **Tulemuste arvutamine**

Pimekatses tarbitud 0,1 N hõbenitraadi lahuse kogus lahutatakse proovilahuses tarbitud kogusest. Saadud väärtus näitab proovis olnud sinepiõli poolt tarbitud 0,1 N hõbenitraadi lahuse kogust milliliitrites. 1 ml 0,1 N $AgNO_3$ vastab 4,956 mg allüülisotiotsüanaadile. Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

9. **LAKTOOSI MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata laktoosi taset söötades, mis sisaldavad laktoosi üle 0,5 %.

2. **Põhimõte**

Suhkrud lahustatakse vees. Lahus kääritatakse *Saccharomyces cerevisiae* pärmiga, mis jätab laktoosi esialgsele kujule. Pärast selitamist ja filtrimist määratakse filtraadi laktoosisisaldus Luff-Schoorli meetodi abil.

3. **Reaktiivid**

3.1. *Saccharomyces cerevisiae* suspensioon: 25 g värsket pärmi suspendeeritakse 100 ml vees. Suspensioon säilib külmikus kõige rohkem ühe nädala.

3.2. Carrez' lahus I: vees lahustatakse 21,9 g tsinkatsetaati $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ja 3 g jää-äädikat. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.3. Carrez' lahus II: vees lahustatakse 10,6 g kaaliumferrotsüaniidi $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.4. Luff-Schoorli reaktiiv

Ettevaatlikult segades valatakse sidrunhappe lahus (3.4.2) naatriumkarbonaadi lahusesse (3.4.3). Lisatakse vasksulfaadi lahus (3.4.1) ja täiendatakse veega 1 liitrini. Lastakse öö läbi settida ja filtritakse. Kontrollitakse sel viisil saadud reaktiivi normaalsust (Cu 0,1 N, Na_2CO_3 2 N). Lahuse pH peaks olema ligikaudu 9,4.

3.4.1. Vasksulfaadi lahus: 25 g rauavaba vasksulfaati AR $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ lahustatakse 100 ml vees.

3.4.2. Sidrunhappe lahus: 50 g sidrunhapet AR $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ lahustatakse 50 ml vees.

3.4.3. Naatriumkarbonaadi lahus: 143,8 g veevaba naatriumkarbonaati AR lahustatakse umbes 300 ml soojas vees. Jahutatakse.

3.5. Pimsskivigraanulid, mis on keedetud soolhappes, pestud vees ning kuivatatud.

3.6. 30 % ((massi/mahu protsent) naatriumjodiidi lahus.

3.7. 6 N väävelhape.

3.8. 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahus.

3.9. Tärkliselahus: 1 liitrile keevale veele lisatakse 5 g lahustuva tärklise ja 30 ml vee segu. Keedetakse kolm minutit, lastakse jahtuda ja vajaduse korral lisatakse säilitusainena 10 mg elavhõbejodiidi.

4. **Seadmed**

Temperatuurile 38–40 °C seatud termostaadiga veevann.

5. **Töö käik**

Võetakse ligikaudu 1 g proovi kaalutis täpsusega 1 mg ja pannakse 100 ml mõõtekolbi. Lisatakse 25–30 ml vett. Kolb asetatakse 30 minutiks keeva vee vanni ning jahutatakse seejärel umbes 35 °C-ni. Lisatakse 5 ml pärmisuspensiooni (3.1) ja homogeenitakse. Lastakse kolvil seista kaks tundi veevannis temperatuuril 38–40 °C. Jahutatakse umbes 20 °C-ni.

Lisatakse 2,5 ml Carrez' lahust I (3.2) ja segatakse 30 sekundit, seejärel lisatakse 2,5 ml Carrez' lahust II (3.3) ja segatakse veel 30 sekundit. Täiendatakse veega 100 ml-ni, segatakse ja filtritakse. Pipetiga eemaldatakse filtraadikogus, mis ei ületa 25 ml ja mis soovitavalt sisaldab 40–80 mg laktoosi, ning kantakse see 300 ml Erlenmeyeri kolbi. Vajaduse korral täiendatakse veega 25 ml-ni.

5 ml pärmisuspensiooniga (3.1) tehakse samal viisil pimekatse.

Laktoosisisaldus määratakse Luff-Schoorli meetodi abil järgmiselt: lisatakse täpselt 25 ml Luff-Schoorli reaktiivi (3.4) ja kaks pimsskivigraanulit (3.5). Segatakse käsitsi keskmise kõrgusega lahtise leegi kohal ja segu kuumutatakse keemiseni umbes kahe minuti jooksul. Erlenmeyeri kolb asetatakse viivitamatult asbestkattega traatvõrgule, milles on umbes 6 cm läbimõõduga auk ning mille all on eelnevalt süüdatud leek. Leeki reguleeritakse nii, et kuumutataks üksnes Erlenmeyeri kolvi põhja. Erlenmeyeri kolvi külge pannakse püstjahuti. Keedetakse täpselt 10 minutit. Jahutatakse kohe külmas vees ja umbes 5 minuti möödudes tiitritakse järgmiselt.

Lisatakse 10 ml kaaliumjodiidi lahust (3.6) ja kohe seejärel lisatakse (intensiivse vahutamise ohu tõttu ettevaatlikult) 25 ml 6 N väävelhapet (3.7). Tiitritakse 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahusega (3.8) kuni kahvatukollase värvuse tekkimiseni, lisatakse tärkliseindikaator (3.9) ja viiakse tiitrimine lõpule.

Sama tiitrimine ilma keetmata tehakse seguga, milles on täpselt mõõdetud 25 ml Luff-Schoorli reaktiivi (3.4) ja 25 ml vett ning millele on eelnevalt lisatud 10 ml kaaliumjodiidi lahust (3.6) ja 25 ml 6 N väävelhapet (3.7).

6. **Tulemuste arvutamine**

Juuresoleva tabeli abil määratakse laktoosisisaldus milligrammides, mis vastab 0,1 N naatriumtiosulfaadi milliliitrites väljendatud kahe tiitrimise tulemuste vahele.

Veevabale laktoosile vastav tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanek**

Toodete puhul, mis sisaldavad üle 40 % fermenteeritavat suhkrut, kasutatakse rohkem kui 5 ml pärmisuspensiooni (3.1).

Väärtuste tabel 25 ml Luff Schoorli reaktiivi jaoks

0,1 N $Na_2S_2O_3$ milliliitrites pärast kahte minutit kuumutamist ja 10 minutit keetmist

$Na_2S_2O_3$ 0,1 N	Glükoos, fruktoos, invertsuhkrud		Laktoos		Maltoos		$Na_2S_2O_3$ 0,1 N
ml	mg	vahe	mg	vahe	mg	vahe	ml
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2		88,0		94,6		23

10. **KAALIUMI MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata kaaliumi taset söödas.

2. **Põhimõte**

Proov tuhastatakse ja tuhk lahustatakse soolhappes. Lahuse kaaliumisisaldus määratakse leekfotomeetria abil tseesiumkloriidi ja alumiiniumnitraadi juuresolekul. Nende ainete lisamisega välistatakse suuresti häirivate elementide mõju.

3. **Reaktiivid**

3.1. Soolhape AR, d: 1,12.

3.2. Tseesiumkloriid AR.

3.3. Alumiiniumnitraat $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, universaalreaktiiv.

3.4. Veevaba kaaliumkloriid AR.

3.5. Puhverlahus: 50 g tseesiumkloriidi (3.2) ja 250 g alumiiniumnitraati (3.3) lahustatakse vees, täiendatakse veega 1 liitrini ja homogeenitakse. Säilitatakse plastikpudelites.

3.6. Kaaliumi standardlahus: 1,907 g kaaliumkloriidi (3.4) lahustatakse vees, lisatakse 5 ml soolhapet (3.1), täiendatakse veega 1 liitrini ja homogeenitakse. Säilitatakse plastikpudelites. 1 ml saadud lahust sisaldab 1,00 mg kaaliumi.

4. **Seadmed**

4.1. Plaatina-, kvarts- või portselantiiglid tuhastamiseks, vajaduse korral kaanega.

4.2. Elektriline muhvelahi termostaadiga.

4.3. Leekfotomeeter.

5. **Töö käik**

5.1. *Proovi analüüs*

Üldreeglina võetakse 10 g proovi kaalutis täpsusega 10 mg, pannakse see tiiglisse ja tuhastatakse 450 °C juures kolm tundi. Pärast jahutamist kantakse tuhk kvantitatiivselt 500 ml mõõtekolbi, kasutades 250–300 ml vett ning seejärel 50 ml soolhapet (3.1). Kui süsinikdioksiidi eraldumine on lõppenud, kuumutatakse lahust ja hoitakse temperatuuril umbes 90 °C kaks tundi, aeg-ajalt segades. Pärast toatemperatuurini jahutamist täidetakse kolb veega kuni märgini, loksutatakse ja filtritakse. Filtraadi alikvoot, mis sisaldab maksimaalselt 1,0 g kaaliumi, kantakse 100 ml mõõtekolbi, lisatakse 10,0 ml puhverlahust (3.5), täiendatakse veega kuni märgini ja homogeenitakse. Suurema kaaliumisisalduse puhul lahjendatakse analüüsitav lahus enne puhverlahuse lisamist sobivas vahekorras.

Allpool esitatud tabel on suuniseks ligikaudu 10 g proovi puhul.

Proovi oletatav kaaliumisisaldus (% K)	Lahjendusaste	Lahuse alikvoot milliliitrites
alla 0,1	–	50
0,1 kuni 0,5	–	10
0,5 kuni 1,0	–	5
1,0 kuni 5,0	1 : 10	10
5,0 kuni 10,0	1 : 10	5
10,0 kuni 20,0	1 : 20	5

Mõõdetakse leekfotomeetria abil lainepikkusel 768 nm. Tulemused arvutatakse kalibreerimiskõvera abil.

5.2. *Kalibreerimiskõver*

Täpselt 10 ml standardlahust (3.6) pannakse 250 ml mõõtekolbi, täiendatakse veega kuni märgini ja homogeenitakse. 100 ml mõõtekolbidesse pannakse täpselt 5, 10, 15, 20 ja 25 ml kõnealust lahust, mis vastavad vastavalt kaaliumikogustele 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ja 1,0 mg. Rea lõpetab kontrollkolb, milles ei ole standardlahust. Igasse kolbi lisatakse 10 ml puhverlahust (3.5), täiendatakse veega kuni märgini ja homogeenitakse. Tehakse punktis 5.1 osutatud mõõtmised. Kalibreerimiskõver on üldiselt lineaarne kuni kaaliumikontsentratsioonini 1 mg 100 ml lahuses.

6. **Tulemuste arvutamine**

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanekud**

Häirivate elementide mõju kõrvaldamiseks ei ole alati vaja lisada puhverlahust (3.5).

---

11. **NAATRIUMI MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata naatriumi taset söödas.

2. **Põhimõte**

Proov tuhastatakse ja tuhk lahustatakse soolhappes. Lahuse naatriumisisaldus määratakse leekfotomeetria abil tseesiumkloriidi ja alumiiniumnitraadi juuresolekul. Nende ainete lisamisega välistatakse suuresti häirivate elementide mõju.

3. **Reaktiivid**

3.1. Soolhape AR, d: 1,12.

3.2. Tseesiumkloriid AR.

3.3. Alumiiniumnitraat $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, universaalreaktiiv.

3.4. Veevaba naatriumkloriid AR.

3.5. Puhverlahus: 50 g tseesiumkloriidi (3.2) ja 250 g alumiiniumnitraati (3.3) lahustatakse vees, täiendatakse veega 1 liitrini ja homogeenitakse. Säilitatakse plastikpudelites.

3.6. Naatriumi standardlahus: 2,542 g naatriumkloriidi (3.4) lahustatakse vees, lisatakse 5 ml soolhapet (3.1), täiendatakse veega 1 liitrini ja homogeenitakse. Säilitatakse plastikpudelites, 1 ml saadud lahust sisaldab 1,00 mg naatriumi.

4. **Seadmed**

4.1. Plaatina-, kvarts- või portselantiiglid tuhastamiseks, vajaduse korral kaanega.

4.2. Elektriline muhvelahi termostaadiga.

4.3. Leekfotomeeter.

5. **Töö käik**

5.1. *Proovi analüüs*

Üldreeglina võetakse 10 g proovi kaalutis täpsusega 10 mg, pannakse see tiiglisse (4.2) ja tuhastatakse 450 °C juures kolm tundi. Tuleks vältida ülekuumutamist (süttimist). Pärast jahutamist kantakse tuhk kvantitatiivselt 500 ml mõõtekolbi, kasutades 250–300 ml vett ning seejärel 50 ml soolhapet (3.1). Kui süsinikdioksiidi eraldumine on lõppenud, kuumutatakse lahust ja hoitakse temperatuuril umbes 90 °C kaks tundi, aeg-ajalt segades. Pärast toatemperatuurini jahutamist täidetakse kolb veega kuni märgini, loksutatakse ja filtritakse. Filtraadi alikvoot, mis sisaldab maksimaalselt 1,0 mg naatriumi, kantakse 100 ml mõõtekolbi, lisatakse 10,0 ml puhverlahust (3.5), täiendatakse veega kuni märgini ja homogeenitakse. Suurema naatriumisisalduse puhul lahjendatakse analüüsitav lahus enne puhverlahuse lisamist sobivas vahekorras.

Allpool esitatud tabel on suuniseks ligikaudu 10 g proovi puhul.

Proovi oletatav naatriumisisaldus (% Na)	Lahjendusaste	Lahuse alikvoot milliliitrites
alla 0,1	–	50
0,1 kuni 0,5	–	10
0,5 kuni 1,0	–	5
1,0 kuni 5,0	1 : 10	10
5,0 kuni 10,0	1 : 10	5
10,0 kuni 20,0	1 : 20	5

Mõõdetakse leekfotomeetria abil lainepikkusel 589 nm. Tulemused arvutatakse kalibreerimiskõvera abil.

5.2. *Kalibreerimiskõver*

Täpselt 10 ml standardlahust (3.6) pannakse 250 ml mõõtekolbi, täiendatakse veega kuni märgini ja homogeenitakse. 100 ml mõõtekolbidesse pannakse täpselt 5, 10, 15, 20 ja 25 ml kõnealust lahust, mis vastavad vastavalt naatriumikogustele 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ja 1,0 mg. Rea lõpetab kontrollkolb, milles ei ole standardlahust. Igasse kolbi lisatakse 10 ml puhverlahust (3.5), täiendatakse veega kuni märgini ja homogeenitakse. Tehakse punktis 5.1 osutatud mõõtmised. Kalibreerimiskõver on üldiselt lineaarne kuni naatriumikontsentratsioonini 1 mg 100 ml lahuses.

6. **Tulemuste arvutamine**

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanekud**

7.1. Toodete puhul, mis sisaldavad üle 4 % naatriumi, soovitatakse ainet tuhastada kaks tundi kaanega tiiglis. Pärast jahutamist lisatakse vett, suspendeeritakse tuhk plaatinatraadi abil, kuivatatakse ja tuhastatakse veel kord kaks tundi kaanega tiiglis.

7.2. Kui proov koosneb üksnes mineraalainetest, lahustatakse see ilma eelneva tuhastamiseta.

12. **SUHKRU MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata redutseerivate suhkrute hulka ja üldsuhkru hulka pärast inversiooni, see väljendatakse glükoosina või sõltuvalt olukorrast sahharoosina, kasutades ümberarvestustegurit 0,95. See meetod on kohaldatav segasöötade puhul. Muude söötade puhul on sätestatud erimeetodid. Vajaduse korral tuleks laktoosi hulk mõõta eraldi ja tulemuste arvutamisel seda arvesse võtta.

2. **Põhimõte**

Suhkrud ekstraheeritakse lahjendatud etanoolis; lahus selitatakse Carrez' lahustega I ja II. Pärast etanooli eemaldamist määratakse kogused enne ja pärast inversiooni Luff-Schoorli meetodi abil.

3. **Reaktiivid**

3.1. 40 % (mahuprotsent) etanool, 20 °C d: 0,948, fenoolftaleiini suhtes neutraalne.

3.2. Carrez' lahus I: vees lahustatakse 21,9 g tsinkatsetaati $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ja 3 g jää-äädikat. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.3. Carrez' lahus II: vees lahustatakse 10,6 g kaaliumferrotsüaniidi $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.4. 0,1 % ((massi/mahu) protsent) metüüloranži lahus.

3.5. 4 N soolhape.

3.6. 0,1 N soolhape.

3.7. 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahus.

3.8. Luff-Schoorli reaktiiv

Ettevaatlikult segades valatakse sidrunhappe lahus (3.8.2) naatriumkarbonaadi lahusesse (3.8.3). Lisatakse vasksulfaadi lahus (3.8.1) ja täiendatakse veega 1 liitrini. Lastakse öö läbi settida ja filtritakse. Kontrollitakse sel viisil saadud reaktiivi normaalsust (Cu 0,1 N, Na_2CO_3 2 N). Lahuse pH peaks olema ligikaudu 9,4.

3.8.1. Vasksulfaadi lahus: 25 g rauavaba vasksulfaati AR $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ lahustatakse 100 ml vees.

3.8.2. Sidrunhappe lahus: 50 g sidrunhapet AR $C_6H_8O_7$ lahustatakse 50 ml vees.

3.8.3. Naatriumkarbonaadi lahus: 143,8 g veevaba naatriumkarbonaati AR lahustatakse umbes 300 ml soojas vees. Jahutatakse.

3.9. 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahus.

3.10. Tärkliselahus: 1 liitrile keevale veele lisatakse 5 g lahustuva tärklise ja 30 ml vee segu. Keedetakse kolm minutit, lastakse jahtuda ja vajaduse korral lisatakse säilitusainena 10 mg elavhõbejodiidi.

3.11. 6 N väävelhape.

3.12. 30 % ((massi/mahu) protsent) kaaliumjodiidi lahus.

3.13. Pimsskivigraanulid, mis on keedetud soolhappes, pestud vees ning kuivatatud.

3.14. 3-metüülbutaan-1-ool.

4. **Seadmed**

Segur (trummel): umbes 35–40 pööret minutis.

5. **Töö käik**

5.1. *Proovi ekstraheerimine*

Võetakse 2,5 g proovi kaalutis täpsusega 1 mg ja pannakse 250 ml mõõtekolbi. Lisatakse 200 ml etanooli (3.1) ning segatakse trumlis tund aega. Lisatakse 5 ml Carrez' lahust I (3.2) ja segatakse üks minut. Lisatakse 5 ml Carrez' lahust II (3.3) ja segatakse veel üks minut. Täiendatakse etanooliga (3.1) kuni märgini, homogeenitakse ja filtritakse. Eemaldatakse 200 ml filtraati ja aurutatakse ligikaudu poole mahuni, et vabaneda enamikust etanoolist. Aurutamise jääk kantakse sooja vett kasutades kvantitatiivselt 200 ml mõõtekolbi, jahutatakse, täiendatakse veega kuni märgini, homogeenitakse ja vajaduse korral filtritakse. Seda lahust kasutatakse redutseerivate suhkrute hulga ja pärast inversiooni üldsuhkru hulga määramiseks.

5.2. *Redutseerivate suhkrute määramine*

Pipetiga eemaldatakse kuni 25 ml lahust, mis sisaldab alla 60 mg redutseerivaid suhkruid, mis on väljendatud glükoosina. Vajaduse korral täiendatakse destilleeritud veega 25 ml-ni ja määratakse redutseerivate suhkrute hulk Luff-Schoorli meetodi abil. Tulemus väljendatakse glükoosisisalduse protsendimäärana proovist.

5.3. *Üldsuhkru määramine pärast inversiooni*

Pipetiga võetakse 50 ml lahust ja kantakse see 100 ml mõõtekolbi. Lisatakse mõni tilk metüüloranži lahust (3.4) ning seejärel lisatakse hoolikalt ja samal ajal pidevalt segades 4 N soolhapet (3.5), kuni vedelik värvub selgelt punaseks. Lisatakse 15 ml 0,1 N soolhapet (3.6), sukeldatakse kolb tugevalt keeva veega vanni ning hoitakse seal 30 minutit. Jahutatakse kiiresti umbes 20 °C-ni ja lisatakse 15 ml 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahust (3.7). Täiendatakse veega 100 ml-ni ja homogeenitakse. Eemaldatakse kuni 25 ml lahust, mis sisaldab alla 60 mg redutseerivaid suhkruid, mis on väljendatud glükoosina. Vajaduse korral täiendatakse destilleeritud veega 25 ml-ni ja määratakse redutseerivate suhkrute hulk Luff-Schoorli meetodi abil. Tulemus väljendatakse glükoosi protsendimäärana või sõltuvalt olukorrast sahharoosi protsendimäärana, korrutades tulemuse teguriga 0,95.

5.4. *Tiitrimine Luff-Schoorli meetodiga*

Pipetiga võetakse 25 ml Luff-Schoorli reaktiivi (3.8) ja kantakse 300 ml Erlenmeyeri kolbi; lisatakse täpselt 25 ml selitatud suhkrulahust. Lisatakse 2 pimsskivigraanulit (3.13), kuumutatakse käsitsi segades keskmise kõrgusega lahtise leegi kohal ja segu kuumutatakse keemiseni umbes kahe minuti jooksul. Erlenmeyeri kolb asetatakse viivitamatult asbestkattega traatvõrgule, milles on umbes 6 cm läbimõõduga auk ning mille all on eelnevalt süüdatud leek. Leeki reguleeritakse nii, et kuumutataks üksnes Erlenmeyeri kolvi põhja. Erlenmeyeri kolvi külge pannakse püstjahuti. Keedetakse täpselt 10 minutit. Jahutatakse kohe külmas vees ja umbes 5 minuti möödudes tiitritakse järgmiselt.

Lisatakse 10 ml kaaliumjodiidi lahust (3.12) ja kohe seejärel lisatakse (intensiivse vahutamise ohu tõttu ettevaatlikult) 25 ml 6 N väävelhapet (3.11). Tiitritakse 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahusega (3.9) kuni kahvatukollase värvuse tekkimiseni, lisatakse tärkliseindikaator (3.10) ja viiakse tiitrimine lõpule.

Sama tiitrimine ilma keetmata tehakse seguga, milles on täpselt mõõdetud 25 ml Luff-Schoorli reaktiivi (3.8) ja 25 ml vett ning millele on eelnevalt lisatud 10 ml kaaliumjodiidi lahust (3.12) ja 25 ml 6 N väävelhapet (3.11).

6. **Tulemuste arvutamine**

Tabeli abil määratakse glükoosi hulk milligrammides, mis vastab 0,1 N naatriumtiosulfaadi milliliitrites väljendatud kahe tiitrimise tulemuste vahele.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Erimeetodid**

7.1. Melassirikaste söötade ja muude mitte eriti homogeensete söötade puhul võetakse 20 g proovi kaalutis ja pannakse 500 ml veega 1 l mõõtekolbi. Segatakse trumlis tund aega. Selitatakse Carrez' lahustega I (3.2) ja II (3.3) punkti 5.1 kohaselt, kasutades sealjuures iga reaktiivi neljakordset kogust. Täiendatakse kuni märgini 80 % (mahuprotsent) etanooliga.

Homogeenitakse ja filtritakse. Etanool eemaldatakse punkti 5.1 kohaselt. Kui dekstriinitud tärklist ei ole, täiendatakse destilleeritud veega kuni märgini.

7.2. Melassi ning suhkrurikaste, kuid praktiliselt tärklisevabade lihtsöötade puhul (jaanikaunad, kuivatatud peedipealsed jms) võetakse 5 g proovi kaalutis, pannakse see 250 ml mõõtekolbi, lisatakse 200 ml destilleeritud vett ja segatakse trumlis tund aega või vajaduse korral kauem. Selitatakse Carrez' lahustega I (3.2) ja II (3.3) punkti 5.1 kohaselt. Täiendatakse külma veega kuni märgini, homogeenitakse ja filtritakse. Üldsuhkru hulga määramiseks jätkatakse vastavalt punktile 5.3.

8. **Tähelepanekud**

8.1. Vahutamise vältimiseks on soovitatav lisada (proovi kogusest sõltumatult) umbes 1 ml 3-metüülbutaan-1-ooli (3.14) enne keetmist Luff-Schoorli reaktiiviga.

8.2. Sahharoosisisalduse protsendimäär on glükoosina väljendatud inversioonijärgse üldsuhkrute sisalduse ja glükoosina väljendatud redutseerivate suhkrute sisalduse vahe, mis on korrutatud 0,95ga.

8.3. Redutseerivate suhkrute (v.a laktoosi) sisalduse määramiseks võib kasutada kahte meetodit:

8.3.1. ligikaudseks arvutamiseks korrutatakse muu meetodi abil saadud laktoosisisaldus 0,675ga ja lahutatakse saadud tulemus redutseerivate suhkrute sisaldusest.

8.3.2. redutseerivate suhkrute (v.a laktoosi) täpseks arvutamiseks tuleb kaks lõplikku määramist teha sama prooviga. Üks analüüs tehakse punkti 5.1 kohaselt saadud lahuse ühe osaga, teine analüüs sellise lahuse ühe osaga, mis on saadud laktoosi määramise käigus selleks ettenähtud meetodiga (pärast muude suhkruliikide fermenteerimist ja selitamist).

Mõlemal juhul määratakse proovis sisalduv suhkur Luff-Schoorli meetodi abil ja arvutatakse glükoosi milligrammideks. Üks väärtus lahutatakse teisest ja vahe väljendatakse protsendimäärana proovist.

Näide

Võetud kogused vastavad mõlema määramise puhul 250 mg massiga proovile.

Esimesel juhul tarbitakse 17 ml 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahust, mis vastab 44,2 mg glükoosile; teisel juhul tarbitakse 11 ml, mis vastab 27,6 mg glükoosile.

Vahe on 16,6 mg glükoosi.

Redutseerivate suhkrute (v.a laktoosi) sisaldus glükoosiks arvutatuna on seega:

$$\frac{4 \times 16{,}6}{10} = 6{,}64\,\%$$

Väärtuste tabel 25 ml Luff-Schoorli reaktiivi jaoks

0,1 N $Na_2S_2O_3$ milliliitrites pärast kahte minutit kuumutamist ja 10 minutit keetmist

$Na_2S_2O_3$ 0,1 N	Glükoos, fruktoos, invertsuhkrud, $C_6H_{12}O_6$		Laktoos, $C_{12}H_{12}O_{11}$		Maltoos, $C_{12}H_{22}O_{11}$		$Na_2S_2O_3$ 0,1 N
ml	mg	vahe	mg	vahe	Mg	vahe	ml
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2		88,0		94,6		23

13. **TEOBROMIINI MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata teobromiini kogust kakaoubade töötlemisel tekkinud kõrvalsaadustes.

2. **Põhimõte**

Teobromiin ekstraheeritakse kloroformiga. Ekstrakt aurutatakse kuivaks, lahustatakse vees ja töödeldakse määratletud koguse hõbenitraadi lahusega. Vabanev lämmastikhape tiitritakse naatriumhüdroksiidi lahusega.

3. **Reaktiivid**

3.1. Kloroform AR.

3.2. Ammoniaak, d: 0,958.

3.3. Veevaba naatriumsulfaat AR.

3.4. 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahus.

3.5. 0,1 N hõbenitraadi lahus.

3.6. 1 % ((massi/mahu) protsent) fenoolpunase etanoolilahus.

3.7. Petrooleeter, keemistemperatuur 40–60 °C.

4. **Seadmed**

500 ml lihvkorgiga seisukolvid.

5. **Töö käik**

Täpsusega 1 mg võetud maksimaalselt 10 g proovi kaalutis, mis ei sisalda rohkem kui 80 mg teobromiini, pannakse 500 ml lihvkorgiga seisukolbi ning lisatakse 270 ml kloroformi (3.1) ja 10 ml ammoniaaki (3.2). Kolb suletakse ning loksutatakse tugevalt 5 minutit. Lisatakse 12 g veevaba naatriumsulfaati (3.3), loksutatakse veel kord ja jäetakse kuni järgmise päevani settima. Filtritakse 500 ml Erlenmeyeri kolbi ja jääk pestakse 100 ml kloroformiga (3.1). Lahusti destilleeritakse ja viimased jäägid eemaldatakse keeva vee vanni kohal. Ekstrakt lahustatakse uuesti 50 ml vees ja kuumutatakse keemiseni.

Jahutatakse ja neutraliseeritakse täpselt naatriumhüdroksiidi lahusega (3.4), kasutades 0,5 ml fenoolpunase lahust (3.6). Lisatakse 20 ml hõbenitraadi lahust (3.5). Vabanev lämmastikhape tiitritakse naatriumhüdroksiidi lahusega (3.4), kuni indikaator muudab värvi (pH 7,4).

6. **Tulemuste arvutamine**

1 ml 0,1 N NaOH = 18 mg teobromiini.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanekud**

Tooted, mis sisaldavad üle 8 % toorrasvainet, tuleb eelnevalt rasvatustada, ekstraheerides neid kuus tundi petrooleetriga (keemistemperatuur 40–60 °C).

14. **KARBAMIIDI MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata karbamiidi taset söödas.

2. **Põhimõte**

Proov suspendeeritakse vees selitava ainega. Suspensioon filtritakse. Filtraadi karbamiidisisaldus määratakse pärast 4-dimetüülaminobensaldehüüdi (4-DMAB) lisamist optilise tiheduse mõõtmise teel lainepikkusel 420 nm.

3. **Reaktiivid**

3.1. 4-dimetüülaminobensaldehüüdi lahus: 1,6 g 4-DMAB AR lahustatakse 100 ml 96 % etanoolis ja lisatakse 10 ml soolhapet AR (d: 1,19). See reaktiiv säilib maksimaalselt kaks nädalat.

3.2. Carrez' lahus I: vees lahustatakse 21,9 g tsinkatsetaati $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ja 3 g jää-äädikat. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.3. Carrez' lahus II: vees lahustatakse 10,6 g kaaliumferrotsüaniidi $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Täiendatakse veega kuni 100 ml lahuse saamiseni.

3.4. Karbamiidi mitte absorbeeriv aktiivsüsi AR (kontrollida).

3.5. 0,1 % ((massi/mahu protsent) karbamiidi lahus AR.

4. **Seadmed**

4.1. Segur (trummel): umbes 35–40 pööret minutis.

4.2. Katseklaasid: 160 × 16 mm, lihvkorgiga.

4.3. Spektrofotomeeter.

5. **Töö käik**

5.1. *Proovi analüüs*

Täpsusega 1 mg võetud ligikaudu 2 g proovi kaalutis pannakse 1 g aktiivsöega (3.4) 500 ml mõõtekolbi. Lisatakse 400 ml vett ning 5 ml Carrez' lahust I (3.2) ja Carrez' lahust II (3.3). Segatakse trumlis 30 minutit. Täiendatakse veega kuni märgini, loksutatakse ja filtritakse.

Eemaldatakse 5 ml läbipaistvat värvitut filtraati, pannakse see lihvkorgiga katseklaasidesse, lisatakse 5 ml 4-DMAB lahust (3.1) ja segatakse. Katseklaasid asetatakse sooja vee vanni temperatuuriga 20 °C. 15 minuti pärast mõõdetakse proovilahuse optiline tihedus spektrofotomeetriga lainepikkusel 420 nm. Võrreldakse reaktiivide kontroll-lahustega.

5.2. *Kalibreerimiskõver*

Võetakse 1, 2, 4, 5 ja 10 ml kogused karbamiidilahust (3.5), pannakse 100 ml mõõtekolbidesse ja täiendatakse veega kuni märgini. Igast lahusest võetakse ära 5 ml, lisatakse sellele 5 ml 4-DMAB lahust (3.1), homogeenitakse ja mõõdetakse eespool kirjeldatud viisil optiline tihedus võrrelduna kontroll-lahusega, mis sisaldab 5 ml 4-DMAB lahust ja 5 ml karbamiidivaba vett. Ehitatakse kaliibrimiskõver.

6. **Tulemuste arvutamine**

Proovis sisalduv karbamiidikogus määratakse kaliibrimiskõvera abil.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

7. **Tähelepanekud**

7.1. Üle 3 % karbamiidisisalduse puhul vähendatakse proovi 1 grammini või lahjendatakse esialgset lahust, nii et 500 ml-s ei oleks karbamiidi üle 50 mg.

7.2. Madala karbamiidisisalduse puhul suurendatakse proovi massi, tingimusel et filtraat jääb läbipaistvaks ja värvituks.

7.3. Kui proov sisaldab lihtsaid lämmastikuühendeid, nagu näiteks aminohappeid, tuleks optilist tihedust mõõta lainepikkusel 435 nm.

---

15. **ALKALOIDIDE MÄÄRAMINE LUPIINIDES**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle meetodiga on võimalik määrata alkaloidide taset lupiiniseemnetes.

2. **Põhimõte**

Alkaloidid lahustatakse dietüüleetri ja kloroformi segus ning ekstraheeritakse soolhappega. Alkaloidid sadestatakse ränivolframhappes, sade tuhastatakse ja jääk kaalutakse.

3. **Reaktiivid**

3.1. Dietüüleeter.

3.2. Kloroform.

3.3. 4 N naatriumhüdroksiidi lahus.

3.4. 0,3 N soolhape.

3.5. Naatriumkloriid AR.

3.6. 10 % ((massi/mahu) protsent) ränivolframhappe lahus $SiO_2 \cdot 12WO_3 \cdot 26H_2O$.

4. **Seadmed**

4.1. Mehaaniline segur.

4.2. Plaatina-, kvarts- või portselantiiglid tuhastamiseks.

4.3. Elektriline muhvelahi.

5. **Töö käik**

5 mg täpsusega võetud 15 g proovi kaalutis pannakse umbes 200 ml lihvkorgiga nõusse (nt jaotuslehtrisse). Lisatakse täpselt 100 ml dietüüleetrit (3.1) ja 50 ml kloroformi (3.2) ning seejärel, kasutades gradueeritud pipetti, 10 ml naatriumhüdroksiidi lahust (3.3). Loksutatakse tugevalt, et vältida aglomeerumist. Loksutatakse veel mitu korda ning jäetakse ööseks seisma. Kui supernatant ei ole täiesti läbipaistev, lisatakse mõni tilk vett. Eetri ja kloroformi kiht filtritakse. 50 ml filtraati kogutakse 50 ml mõõtekolbi ja kantakse kvantitatiivselt 150 ml jaotuslehtrisse, kasutades 50 ml dietüüleetrit (3.1). Ekstraheeritakse kolm korda järjest 20 ml soolhappega (3.4), lastakse settida ja kogutakse happe ekstrakt pärast iga ekstraheerimist. Happe ekstraktid kogutakse 250 ml keeduklaasi ning viimased eetri- ja kloroformijäägid kõrvaldatakse kergelt kuumutades. Lisatakse umbes 1 g naatriumkloriidi (3.5), lastakse jahtuda ja sadestatakse alkaloidid ränivolframhappe lahuses (3.6). Segatakse mehaanilise segistiga 30 minutit. Jäetakse ööseks settima, filtritakse läbi tuhavaba filtri ning sade pestakse järjest kaks korda 10 ml ja kaks korda 5 ml soolhappega (3.4).

Filter sademega pannakse tiiglisse ja tuhastatakse 900 °C juures. Jahutatakse ja kaalutakse.

6. **Tulemuste arvutamine**

Proovi alkaloididesisalduse saamiseks korrutatakse tuha mass teguriga 0,2.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

---

16. SOJAST SAADUD TOODETE UREAASI AKTIIVSUSE HINDAMINE

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Selle katsega on võimalik hinnata sojast saadud toodete ureaasi aktiivsust ning teha kindlaks, kas kõnealuseid tooteid on kuumutatud piisavalt.

2. **Põhimõte**

Ureaasi aktiivsust hinnatakse ammoniakaalse lämmastiku hulga alusel, mis vabaneb karbamiidi lahusest 1 g toote kohta 1 minuti jooksul 30 °C juures.

3. **Reaktiivid**

3.1. 0,1 N soolhape.

3.2. 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahus.

3.3. 0,05 M fosfaadi puhverlahus, mis sisaldab 1 000 ml kohta 4,45 g dinaatriumfosfaati ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) ja 3,40 g monokaaliumfosfaati (KH_2PO_4).

3.4. Värskelt valmistatud karbamiidi puhverlahus, mis sisaldab 30,0 g karbamiidi 1 000 ml puhverlahuse (3.3) kohta; pH 6,9–7,0.

4. **Seadmed**

4.1. Potentsiomeetriline tiitrimisaparaat või suure tundlikkusega pH-meeter (0,02 pH) magnetseguriga.

4.2. Täpselt 30 °C-le seatud termostaadiga veevann.

4.3. Lihvkorgiga katseklaasid, 150 × 18 mm.

5. **Töö käik**

Umbes 10 g proovi purustatakse (näiteks kohviveskis), nii et see läbiks 0,2 mm aukudega sõela. Võetakse 0,2 g purustatud proovi kaalutis täpsusega 1 mg, pannakse see lihvkorgiga katseklaasi ja lisatakse 10 ml karbamiidi puhverlahust (3.4). Suletakse kohe ja loksutatakse tugevalt. Katseklaas asetatakse sooja vee vanni temperatuuriga täpselt 30 °C ja hoitakse seal täpselt 30 minutit. Lisatakse kohe 10 ml 0,1 N soolhapet (3.1), jahutatakse kiiresti 20 °C-ni ja kantakse katseklaasi sisu kvantitatiivselt tiitrimisnõusse, loputades kaks korda 5 ml veega. Kasutades klaaselektroodi (4.1), tiitritakse kohe ja kiiresti elektromeetriliselt 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahusega (3.2) kuni pH väärtuseni 4,7.

Pimekatse tehakse järgmiselt.

Võetakse 0,2 g proovi kaalutis täpsusega 1 mg, pannakse see kiiresti lihvkorgiga katseklaasi, lisatakse 10 ml 0,1 N soolhapet (3.1) ja seejärel 10 ml karbamiidi puhverlahust (3.4). Katseklaas jahutatakse kohe jäävees ja jäetakse sinna 30 minutiks. Eespool kirjeldatud tingimustel kantakse katseklaasi sisu tiitrimisnõusse ja tiitritakse 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahust (3.2), kasutades pH väärtuseni 4,7.

6. **Arvutamine**

Ureaasi aktiivsus arvutatakse järgmise valemi abil:

$$\frac{\text{mg N}}{\text{g min}} \text{ 30 °C juures} \frac{1 \times 4(b - a)}{30 \times E}$$

milles:

a = proovi tarbitud 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahuse kogus milliliitrites,

b = pimekatses tarbitud 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahuse kogus milliliitrites,

E = proovi mass grammides.

7. **Tähelepanek**

7.1. See meetod sobib kasutamiseks ureaasi aktiivsuse puhul kuni 1 mg N/g minutis 30 °C juures. Suurema aktiivsusega toodete puhul võib proovi suurust vähendada 50 mg-ni.

7.2. Tooted, mis sisaldavad üle 10 % toorrasvainet, tuleb eelnevalt külmalt rasvatustada.