31971L0250

PIRMOJI KOMISIJOS DIREKTYVA

1971 m. birželio 15 d.

nustatanti oficialiai pašarų kontrolei taikytinus Bendrijos analizės metodus

(71/250/EEB)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos ekonominės bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1970 m. liepos 20 d. Tarybos direktyvą dėl Bendrijos mėginių atrankos ir analizės metodų, vykdant oficialią pašarų kontrolę, įvedimo ([1]), ypač į jos 2 straipsnį,

kadangi ta direktyva reikalauja, kad oficiali pašarų kontrolė būtų atliekama taikant Bendrijos mėginių atrankos ir analizės metodus, siekiant patikrinti, ar jie atitinka reikalavimus, kuriuos numato įstatymai ar kiti teisės aktai dėl pašarų kokybės ir sudėties;

kadangi visi privalomi analizės metodai turi būti nustatyti kaip galima greičiau; kadangi vandenilio cianido, kalcio, karbonatų, žalių pelenų kiekio, HCl netirpių pelenų kiekio, chloridų chloro, garstyčių aliejaus, laktozės, kalio, natrio, cukrų, teobromino ir karbamido, alkaloidų lubinuose ir sojų produktuose esančios ureazės aktyvumo nustatymas yra pirmoji šio proceso pakopa;

kadangi priemonės, numatytos šioje direktyvoje, sutampa su Pašarų nuolatinio komiteto nuomone,

PRIĖMĖ ŠIĄ DIREKTYVĄ:

1 straipsnis

Valstybės narės reikalauja, kad atlikdamos pašarų kontrolę valstybės institucijos vandenilio cianido, kalciui, karbonatams, žalių pelenų kiekiui, HCl netirpių pelenų kiekiui, chloridų chlorui, garstyčių aliejui, laktozei, kaliui, natriui, cukrams, teobrominui, karbamidui, alkaloidams lubinuose ir sojų produktuose esančios ureazės aktyvumui nustatyti taikytų šios direktyvos priede nurodytus metodus.

2 straipsnis

Valstybės narės priima įstatymus ir kitus teisės aktus, kurie, įsigalioję ne vėliau kaip iki 1972 m. liepos 1 d., įgyvendina šią direktyvą. Apie tai jos nedelsdamos praneša Komisijai.

3 straipsnis

Ši direktyva skirta valstybėms narėms.

Priimta Briuselyje, 1971 m. birželio 15 d.

Tarybos vardu

Pirmininkas

Franco M. MALFATTI

([1]) OL L 170, 1970 8 3, p. 2.

PRIEDAS

PAŠARŲ KOMPONENTŲ CHEMINĖS ANALIZĖS METODAI

1. ĮVADAS

Pašarų cheminės analizės metodai paprastai tinka visoms pašarinėms žaliavoms ir kombinuotiesiems pašarams. Tačiau kai kuriems pašarams dėl jiems būdingų sudėties savybių reikia taikyti atskirus, tik jiems tinkamus analizės metodus. Šie atvejai metodų aprašymuose yra pateikiami po antrašte „pastabos“.

Jeigu pašarui nustatyti gali būti taikomi du ar daugiau metodų, tuomet, jei kitaip nenurodyta, metodą pasirenka analizę atliekanti laboratorija; tačiau taikomas metodas turi būti nurodytas analizės sertifikate.

Mėginių paruošimas analizei

Svarbu, kad cheminė analizė būtų atliekama naudojant *homogeninį mėginį*. Tačiau atlikti kai kuriuos makroskopinius ar mikroskopinius nustatymus, taip pat nustatyti drėgnumą galima su tokio pavidalo mėginiu, koks jis pateko į laboratoriją. Kad būtų galima patenkinti abu šiuos reikalavimus, *mėginys padalijamas į dvi dalis. Viena dalis imama tokia, kokia ji yra; antroji paruošiama taip, kaip to reikalauja cheminės analizės metodas*.

Mėginys padalijamas mechaniškai arba rankomis, prieš tai jį gerai sumaišius ant švaraus sauso paviršiaus. Dalijant rankomis patartina naudoti mėginio ketvirčiavimo metodą, pagal kurį mėginys paeiliui imamas iš dviejų priešingų segmentų. Pačiai analizei paimamas maždaug 100 g masės mėginys, kuris prireikus sumalamas taip, kad visas mėginys nusisijotų per sietą su apvaliomis 1 mm skersmens akutėmis. Mėginys iš karto dedamas į sausą indą su hermetiškai uždaromu dangčiu ir uždaromas.

Jei mėginys yra labai drėgnas, jis prieš analizę turi būti džiovinamas, kad drėgnumas sumažėtų iki 8–12 %. Dėl to mėginys reikiamą laiką džiovinamas esant atitinkamai temperatūrai.

Reagentai ir prietaisai

Analizės metodų aprašymuose nurodyti tik specialūs arba netipiniai prietaisai ar aparatai. Nemanoma, kad reikia vardyti visą aparatūrą ar prietaisus, kurie sudaro analizės laboratorijų įprastos įrangos dalį.

Be to, kur kalbant apie skiedimą ar plovimą minimas *vanduo*, visuomet turimas omenyje *distiliuotas vanduo*. Tai pat, jei be jokių papildomų nurodymų minimas reagento tirpalas, turimas omenyje *tirpalas distiliuotame vandenyje*.

Rezultatų pateikimas

Analizės sertifikate pateikiamas rezultatas turi būti ne mažiau kaip dviejų bandymų vidurkis. Laikantis specialių nuostatų rezultatas pateikiamas procentine masės dalimi pradinio mėginio, koks jis pateko į laboratoriją. Rezultatas turi būti pateikiamas su reikšmingų skaitmenų skaičiumi, kuris nebūtų didesnis, negu leidžia analizės metodo tikslumas.

2. VANDENILIO CIANIDO NUSTATYMAS

1. Tikslas ir taikymo sritis

Metodu nustatomas laisvas ir glikozidų pavidalu sujungtas vandenilio cianido kiekis pašaruose, ypač produktuose, gautuose iš linų sėmenų, manijokos miltų ir kai kurių rūšių pupų.

2. Metodo esmė

Mėginys suspenduojamas vandenyje. Vandenilio cianidas veikiant fermentams išlaisvinamas, nudistiliuojamas vandens garais ir surenkamas tiksliame parūgštinto sidabro nitrato tirpalo tūryje. Sidabro cianidas atskiriamas filtruojant ir sidabro nitrato perteklius titruojamas amonio tiocianato tirpalu.

3. Reagentai

3.1. Saldžių migdolų suspensija: dvidešimt blanširuotų saldžių migdolų išspaudžiama į 100 ml vandens esant nuo 37 °C iki 40 °C temperatūrai. Naudojant natrio pikrate mirkytą popierių ar atliekant tuščią bandymą, kaip aprašyta 5 skyriaus paskutinėje pastraipoje, patikrinama, ar 10 ml suspensijos nėra vandenilio cianido.

3.2. Natrio acetato 10 % (m/v) tirpalas, neutralus pagal fenolftaleiną.

3.3. Priešpučio emulsija (pvz., silikono).

3.4. Nitrato rūgštis, $\rho = 1{,}40$ g/ml.

3.5. Sidabro nitrato 0,02 mol/l tirpalas.

3.6. Amonio tiocianato 0,02 mol/l tirpalas.

3.7. Sotusis amonio-geležies (III) sulfato tirpalas.

3.8. Amoniakas: $\rho = 0{,}958$ g/ml.

4. Prietaisai

4.1. Džiovinimo spinta su termorele, nustatyta 38 °C.

4.2. Prietaisai distiliacijai vandens garais, turintys kondensatorių su lenktu antgaliu.

4.3. 1 000 ml plokščiadugnės kolbos su šlifo kamščiais.

4.4. Alyvos vonia.

4.5. Biuretė su 0,05 ml padalos verte.

5. Matavimas

20 g mėginio pasveriama 5 mg tikslumu, mėginys supilamas į 1 litro plokščiadugnę kolbą ir įpilama 50 ml vandens bei 10 ml saldžių migdolų suspensijos (3.1). Kolba užkemšama ir 16 val. laikoma spintoje 38 °C temperatūroje. Paskui kolba aušinama iki kambario temperatūros, į ją įpilama 80 ml vandens, 10 ml natrio acetato tirpalo (3.2) ir lašas priešpučio emulsijos (3.3).

Kolba prijungiama prie distiliavimo su vandens garais įtaiso ir pastatoma ant alyvos vonios, kuri prieš tai buvo pašildyta iki truputį aukštesnės kaip 100 °C temperatūros. Nudistiliuojama nuo 200 iki 300 ml skysčio, per kolbą leidžiant stiprią garų srovę ir atsargiai šildant alyvos vonią. Distiliatas surenkamas į užtemdytą Erlenmejerio kolbą, kurioje yra lygiai 50 ml 0,02 mol/l sidabro nitrato tirpalo (3.5) ir 1 ml nitrato rūgšties tirpalo (3.4). Žiūrima, kad kondensatoriaus antgalis būtų panardintas į sidabro nitrato tirpalą.

Erlenmejerio kolbos turinys supilamas į 500 ml matavimo kolbą, praskiedžiamas iki žymės vandeniu, sumaišomas ir filtruojamas. Paimama 250 ml filtrato, į jį įpilama maždaug 1 ml amonio-geležies (III) sulfato tirpalo (3.7) ir sidabro nitrato tirpalo perteklius retitruojamas amonio tiocianato 0,02 mol/l tirpalu (3.6), pilamu iš biuretės su 0,05 ml padalomis.

Prireikus galima atlikti tuščiąjį bandymą pagal tą pačią metodiką analizuojant 10 ml saldžių migdolų suspensijos (3.1), tik neįdėjus analizuojamo mėginio.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Jei tuščiojo bandymo metu buvo sunaudotas 0,02 mol/l sidabro nitrato tirpalas, jo tūris atimamas iš sidabro nitrato tirpalo tūrio, sunaudoto mėginio distiliato. 1 ml 0,02 mol/l $AgNO_3$ atitinka 0,54 mg HCN. Rezultatas išreikiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastaba**

Jeigu mėginyje yra daug sulfidų (pvz., pupos), susidaro juodos sidabro sulfido nuosėdos, kurios filtruojasi kartu su sidabro cianido nuosėdomis. Susidarant šioms nuosėdoms netenkama dalies 0,02 mol/l sidabro nitrato tirpalo, kurio tūris turi būti atimamas iš tūrio, naudojamo HCN kiekiui apskaičiuoti. Daroma taip:

ant filtro likusios nuosėdos apdorojamos 50 ml amoniako tirpalo (3.8), kad ištirptų sidabro cianidas. Liekana plaunama praskiestu amoniako tirpalu ir joje nustatomas sidabro kiekis. Gauta vertė perskaičiuojama į 0,02 mol/l sidabro nitrato tirpalo mililitrų skaičių.

HCN kiekis mėginyje taip pat gali būti nustatytas parūgštintą amoniakinį filtratą titruojant nitrato rūgštimi.

---

3. KALCIO NUSTATYMAS

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas bendras kalcio kiekis pašaruose.

2. **Metodo esmė**

Kalcio junginiai paverčiami pelenais, pelenai apdorojami vandenilio chloridu ir kalcis nusodinamas kalcio oksalato pavidalu. Nuosėdos ištirpinamos sulfato rūgštyje ir susidariusi oksalo rūgštis titruojama kalio permanganato tirpalu.

3. **Reagentai**

3.1. Vandenilio chloridas, a. r., ρ = 1,14 g/ml.

3.2. Nitrato rūgštis, a. r., ρ = 1,40 g/ml.

3.3. Sulfato rūgštis, a. r., ρ = 1,13 g/ml.

3.4. Amoniakinis vanduo, a. r., ρ = 0,98 g/ml.

3.5. Šaltyje sotusis amonio oksalato tirpalas, a. r.

3.6. Citrinų rūgšties, a. r., 30 % (m/v) tirpalas.

3.7. 5 % amonio chlorido tirpalas (m/m)

3.8. Bromkrezolio žaliojo 0,04 % (m/v) tirpalas.

3.9. Kalio permanganato 0,1 mol/l tirpalas.

4. **Prietaisai**

4.1. Elektrinė mufelinė krosnis su oro cirkuliacija ir termorele.

4.2. Platinos, kvarco ar porcelianinis tigliai mėginiui sudeginti.

4.3. Stiklo filtrai, kurių akytumas G_4.

5. **Matavimas**

1 mg tikslumu pasveriama apie 5 g mėginio (prireikus – daugiau), sudeginama 550 °C temperatūroje ir pelenai supilami į 250 ml laboratorinę stiklinę.

Įpilama 40 ml vandenilio chlorido (3.1), 60 ml vandens ir keli lašai nitrato rūgšties (3.2). Stiklinės turinys užvirinamas ir verdamas apie 30 minučių. Tirpalas aušinamas ir supilamas į 250 ml matavimo kolbą. Stiklinė plaunama, kolbos turinys plovimo vandeniu skiedžiamas iki žymės, maišomas ir filtruojamas.

Pipete į 250 ml stiklinę pagal numatomą kalcio kiekį paimama alikvotinė tirpalo dalis, turinti nuo 10 mg iki 40 mg kalcio. Įpilama 1 ml citrinų rūgšties tirpalo (3.6) ir 5 ml amonio chlorido tirpalo (3.7).

Vandeniu skiedžiama maždaug iki 100 ml. Tirpalas užvirinamas, įpilama nuo aštuonių iki dešimties lašų bromkrezolio žaliojo tirpalo (3.8) ir 30 ml šilto amonio oksalato tirpalo (3.5). Jei susidaro nuosėdos, jos ištirpinamos įpylus kelis lašus vandenilio chlorido (3.1).

Tirpalas labai lėtai neutralizuojamas amoniakiniu vandeniu (3.4) visą laiką maišant, kol pH vertė pasiekia 4,4–4,6 (t. y., kai indikatorius pakeičia spalvą). Stiklinė pastatoma ant verdančio vandens vonios ir laikoma trisdešimt minučių, kad susidariusios nuosėdos galėtų nusėsti. Stiklinė nukeliama nuo vandens vonios. Palaukiama vieną valandą ir filtruojama per G_4 akytumo filtrą.

Stiklinė ir filtras plaunami vandeniu, kol visiškai bus pašalintas amonio oksalato perteklius (chloridų nebuvimas plovimo vandenyje rodo, kad nuosėdos buvo gerai išplautos).

Nuosėdos ant filtro ištirpinamos 50 ml šiltos sulfato rūgšties (3.3). Filtras plaunamas su šiltu vandeniu, kol filtrato tūris bus apie 100 ml. Temperatūra pakeliama iki 70 °C–80 °C, tirpalas lašas po lašo titruojamas kalio permanganato tirpalu (3.9), kol tampa rožinis, ir ši spalva neišnyksta per minutę.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

1 ml kalio permanganato tirpalo atitinka 2,004 mg kalcio. Rezultatas išreikiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastabos:**

7.1. Jeigu kalcio kiekiai nedideli, daroma taip: kalcio oksalato nuosėdos filtruojamos per bepelenį popierinį filtrą. Išplovus filtras džiovinamas ir sudeginamas platininiame tiglyje 550 °C temperatūroje. Nuosėdos iš naujo ištirpinamos keliuose lašuose sulfato rūgšties (3.3), tirpalas garinamas iki sausos liekanos, kuri vėl iškaitinama 550 °C temperatūroje ir pasveriama. Jei W yra gauto kalcio sulfato masė, kalcio kiekis mėginyje, kurį sudaro alikvotinė tirpalo dalis, lygus W × 0,2944.

7.2. Jei mėginį sudaro tik neorganinės medžiagos, jis tirpinamas vandenilio chloride prieš tai jo nesudeginant. Jei būtų tokios medžiagos, pvz., kalcio-aliuminio fosfatas, kurios sunkiai tirpsta rūgštyje, prieš tirpinimą atliekamas šarminis sulydimas: analizuojamas mėginys platininiame tiglyje gerai sumaišomas su penkis kartus didesnės masės mišiniu, kurį lygiomis masės dalimis sudaro kalio karbonatas ir natrio karbonatas. Atsargiai kaitinama, kol mišinys visiškai išsilydo. Lydalas aušinamas ir ištirpinamas vandenilio chloride.

7.3. Jei mėginyje yra daug magnio, kalcio oksalatas nusodinamas pakartotinai.

4. KARBONATŲ NUSTATYMAS

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu pašaruose nustatomas karbonatų kiekis, kuris paprastai perskaičiuojamas į kalcio karbonato kiekį.

Tačiau tam tikrais atvejais (pvz., naudojant geležies karbonatą) būtina naudoti specialų metodą.

2. **Metodo esmė**

Karbonatai suardomi vandenilio chloridu; išsiskyręs anglies dioksidas surenkamas į matavimo biuretę ir jo tūris palyginamas su tūriu, kuris tomis pačiomis sąlygomis susidaro iš žinomo kalcio karbonato, a. r., kiekio.

3. **Reagentai**

3.1. Vandenilio chloridas, ρ = 1,10 g/ml.

3.2. Kalcio karbonatas, a. r.

3.3. Sulfato rūgštis, maždaug 0,01 mol/l, nudažyta metilraudonuoju tirpalu.

4. **Prietaisai**

Scheibler-Dietrich aparatas (žr. piešinį) ar panašus aparatas.

5. **Matavimas**

Atsižvelgiant į karbonatų kiekį mėginyje, sveriamas toks mėginio kiekis:

0,5 g produktų, kuriuose karbonatai, reiškiant kalcio karbonatu, sudaro nuo 50 % iki 100 %;

1,0 g produktų, kuriuose karbonatai, reiškiant kalcio karbonatu, sudaro nuo 40 % iki 50 %;

2,0 g–3,0 g kitų produktų.

Mėginys supilamas į specialų aparato butelį (4), į kurį įstatytas iš nedūžtančios medžiagos pagamintas mažas mėgintuvėlis su 10 ml vandenilio chlorido (3.1). Butelis prijungiamas prie aparato. Trišakis čiaupas (5) pasukamas taip, kad vamzdis (1) susijungtų su atmosfera. Kilnojamu vamzdžiu (2), kuris yra užpildytas nudažyta sulfato rūgštimi (3.3) ir prijungtas prie matavimo biuretės (1), skysčio lygis nustatomas ties nuline padala. Čiaupas (5) pasukamas taip, kad biuretė (1) ir vamzdis (3) būtų sujungti, ir patikrinama, ar skysčio lygis yra ties nuline padala.

Vandenilio chloridas (3.1) palenkiant butelį (4) po truputį supilamas ant mėginio. Slėgis išlyginamas nuleidžiant vamzdį (2). Butelys (4) kratomas tol, kol anglies dioksidas nustoja skirtis.

Slėgis atkuriamas sulyginant skysčio lygį biuretėje (1) ir vamzdyje (2). *Po kelių minučių*, jei dujų tūris daugiau nekinta, rodmuo pažymimas.

Tomis pačiomis sąlygomis atliekamas kontrolinis bandymas su 0,5 g kalcio karbonato (3.2).

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Karbonatų, kurių masė išreikšta kalcio karbonato gramais, procentinis kiekis mėginyje apskaičiuojamas pagal formulę:

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

čia:

V = CO_2 tūris, kuris susidaro iš mėginio, mililitrais.

T = CO_2 tūris, kuris susidaro iš 0,5 g $CaCO_3$, a. r., mililitrais.

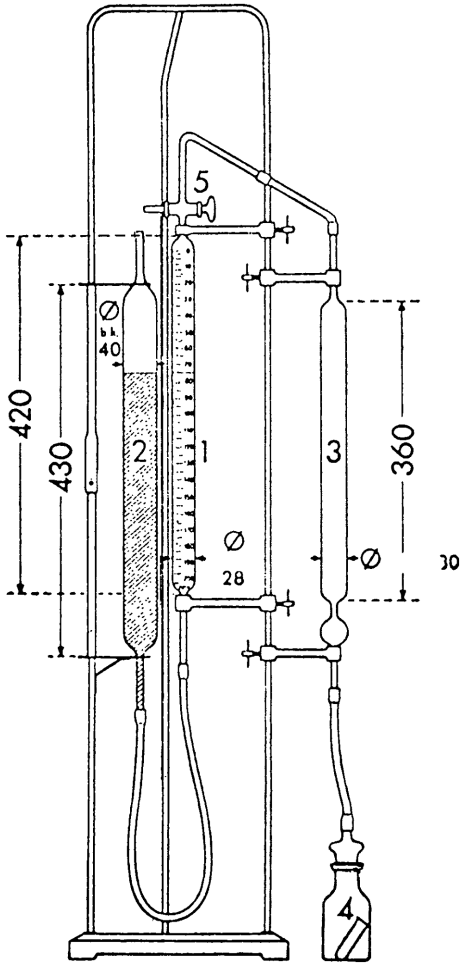
W = mėginio masė gramais.

7. **Pastabos**

7.1. Jei mėginio masė didesnė kaip 2 g, iš pradžių į butelį (4) įpilama 15 ml distiliuoto vandens ir prieš analizę sumaišoma. Toks pats vandens tūris naudojamas atliekant kontrolinį bandymą.

7.2. Jei naudotas aparatas turi kitokį tūrį nei Scheiber-Dietrich aparato tūris, sveriamo mėginio masė ir kontrolinio mėginio masė bei rezultatų apskaičiavimas turi būti atitinkamai pakeisti.

SCHEIBER-DIETRICH APARATAS CO_2 TŪRIUI NUSTATYTI



Mastelis 1 : 8

(išmatuota mm)

5. ŽALIŲ PELENŲ KIEKIO NUSTATYMAS

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu nustatomas žalių pelenų kiekis pašaruose.

2. **Metodo esmė**

Mėginys sudeginamas 550 °C temperatūroje; liekana pasveriama.

3. **Reagentai**

Amonio nitrato 20 % (m/v) tirpalas.

4. **Prietaisai**

4.1. Elektrinė viryklė.

4.2. Elektrinė mufelinė krosnis su termorele.

4.3. Tigliai mėginiui sudeginti, pagaminti iš platinos ar iš platinos ir aukso lydinio (10 % Pt, 90 % Au); stačiakampiai (60 × 40 × 25 mm) ar apvalūs (skersmuo: nuo 60 mm iki 75 mm, aukštis: nuo 20 mm iki 25 mm).

5. **Matavimas**

Maždaug 5 g mėginio (2,5 g tuo atveju, kai analizuojami linkę išsipūsti produktai) pasveriama 1 mg tikslumu ir supilama į mėginiui sudeginti skirtą tiglį, kuris pats prieš tai buvo iškaitintas ir pasvertas. Tiglis statomas ant elektrinės viryklės ir iš lėto šildomas, kol medžiaga suanglėja. Tiglis dedamas į mufelinę krosnį, nustatytą 550 °C ± 5 °C. Medžiaga laikoma toje temperatūroje, kol virsta baltais, šviesiai pilkais ar rausvais pelenais, kuriuose greičiausiai nebeliko anglingųjų dalelių. Tiglis dedamas į eksikatorių, paliekamas jame aušti ir tuojau pat pasveriamas.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Liekanos masė apskaičiuojama atimant tiglio masę.

Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastabos:**

7.1. Pelenai *medžiagų, kurias sunku paversti pelenais*, iš pradžių turi būti kaitinami ant viryklės ne trumpiau kaip tris valandas, paskui į atšaldytą liekaną įlašinami keli lašai 20 % amonio nitrato tirpalo (lašinama atsargiai, kad pelenai neišsklistų arba kad nesušoktų į gabalus). Išdžiovinus toliau kaitinama krosnyje. Prireikus operacija pakartojama, kol medžiaga visiškai virsta pelenais.

7.2. Jei medžiagos atsparios apdorojimui, aprašytam 7.1 punkte, daroma taip: po maždaug trijų valandų kaitinimo pelenai supilami į šiltą vandenį ir filtruojami per mažą bepelenį filtrą. Filtras su turiniu sudeginamas tiglyje, kuris buvo naudotas prieš tai. Filtratas supilamas į ataušusį tiglį, išgarinamas iki sausumo, iškaitinamas ir pasveriamas.

7.3. Analizuojant *aliejų ir riebalus* tinkamo dydžio tiglyje tiksliai pasveriamas maždaug 25 g mėginys. Mėginys anglinamas padegant jį bepelenio filtro popieriaus juostele. Sudeginus liekana sudrėkinama kuo mažesniu kiekiu vandens. Liekana džiovinama ir iškaitinama, kaip aprašyta 5 skyriuje.

6. VANDENILIO CHLORIDE NETIRPIŲ PELENŲ KIEKIO NUSTATYMAS

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo metodu galima nustatyti neorganinių medžiagų, kurios netirpsta vandenilio chloride, kiekį pašaruose. Nelygu mėginio kilmė, galima naudoti du metodus.

1.1. *A metodas*: taikomas organinėms pašarinėms žaliavoms ir didesnei daliai kombinuotųjų pašarų.

1.2. *B metodas*: taikomas neorganiniams junginiams ir mišiniams, taip pat kombinuotiesiems pašarams, kuriuose A metodu nustatytas vandenilio chloride netirpių medžiagų kiekis yra didesnis kaip 1 %.

2. **Metodo esmė**

2.1. *A metodas*: mėginys paverčiamas pelenais, pelenai virinami vandenilio chloride, neištirpusi dalis filtruojama ir sveriama.

2.2. *B metodas*: mėginys veikiamas vandenilio chloridu. Tirpalas filtruojamas, liekana paverčiama pelenais, kurie apdorojami pagal A metodą.

3. **Reagentai**

3.1. Vandenilio chlorido 3 mol/l tirpalas.

3.2. Trichloracto rūgšties 20 % (m/v) tirpalas.

3.3. Trichloracto rūgšties 1 % (m/v) tirpalas.

4. **Prietaisai**

4.1. Elektrinė vyriklė.

4.2. Elektrinė mufelinė krosnis su termorele.

4.3. Tigliai mėginiui sudeginti, pagaminti iš platinos ar iš platinos ir aukso lydinio (10 % Pt, 90 % Au); stačiakampiai (60 × 40 × 25 mm) ar apvalūs (skersmuo: nuo 60 mm iki 75 mm, aukštis: nuo 20 mm iki 25 mm).

5. **Matavimas**

5.1. *A metodas*

Mėginys sudeginamas taip pat, kaip nustatant žalių pelenų kiekį. Galima panaudoti pelenus, gautus atliekant šią analizę.

Pelenai su 75 ml 3 mol/l vandenilio chlorido (3.1) nuplaunami į 250 ml–400 ml laboratorinę stiklinę. Mišinys lėtai užvirinamas ir atsargiai virinamas penkiolika minučių. Šiltas tirpalas filtruojamas per bepelenį filtrą ir liekana plaunama šiltu vandeniu, kol plovimo vanduo nerodo rūgščios reakcijos. Filtras su liekana džiovinamas ir pasvertame tiglyje sudeginamas ne žemesnėje kaip 550 °C, bet ne aukštesnėje kaip 700 °C temperatūroje. Tiglis aušinamas eksikatoriuje ir pasveriamas.

5.2. *B metodas*

5 g mėginio pasveriama 1 mg tikslumu ir supilama į 250 ml–400 ml laboratorinę stiklinę. Iš pradžių įpilama 25 ml vandens, paskui 25 ml 3 mol/l vandenilio chlorido (3.1), sumaišoma ir palaukiama, kol nustoja audringai skirtis burbuliukai. Įpilama dar 50 ml 3 mol/l vandenilio chlorido (3.1). Palaukiama dar galimo dujų skyrimosi pabaigos, stiklinė statoma ant verdančio vandens vonios ir laikoma ant jos trisdešimt minučių, prireikus ir ilgiau, kad visiškai būtų hidrolizuotas krakmolas, kurio galėjo būti mėginyje.

Šiltas tirpalas filtruojamas per bepelenį filtrą, liekana plaunama 50 ml šilto vandens (žiūr. 7 punkto pastabą). Filtras su liekana dedamas į mėginiui sudeginti skirtą tiglį, džiovinamas ir sudeginamas ne žemesnėje kaip 550 °C, bet ne aukštesnėje kaip 700 °C temperatūroje. Pelenai su 75 ml 3 mol/l vandenilio chloridu (3.1) nuplaunami į 250 ml–400 ml laboratorinę stiklinę; tęsiama, kaip nurodyta antroje 5.1 punkto pastraipoje.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Liekanos masė skaičiuojama, atimant tiglio masę. Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastaba**

Jei mėginys sunkiai filtruojasi, analizė atliekama iš naujo, 50 ml 3 mol/l vandenilio chlorido (3.1) pakeičiant 50 ml 20 % trichloracto rūgšties (3.2) ir plaunant filtrą šiltu 1 % trichloracto rūgšties tirpalu (3.3).

---

7. **CHLORIDŲ CHLORO NUSTATYMAS**

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas vandenyje tirpių chloridų chloro kiekis. Paprastai jo kiekis reiškiamas natrio chlorido kiekiu. Metodas tinka visiems pašarams.

2. **Metodo esmė**

Chloridai ištirpinami vandenyje. Jei produkte yra organinių medžiagų, jis skaidrinamas. Tirpalas šiek tiek parūgštinamas nitrato rūgštimi ir chloridai nusodinami sidabro chlorido pavidalu, veikiant sidabro nitrato tirpalu. Sidabro perteklius yra titruojamas Volhard metodu su amonio tiocianatu.

3. **Reagentai**

3.1. Amonio tiocianato 0,1 mol/l tirpalas.

3.2. Sidabro nitrato 0,1 mol/l tirpalas.

3.3. Sotusis amonio-geležies (III) sulfato tirpalas.

3.4. Nitrato rūgštis, ρ = 1,38 g/ml.

3.5. Dietileteris, a. r.

3.6. Acetonas, a. r.

3.7. Carrez I tirpalas: vandenyje ištirpinama 21,9 g cinko acetato dihidrato, $Zn(CH_3COO)_2\ 2H_2O$ ir 3 g ledinės acto rūgšties. Vandeniu skiedžiama iki 100 ml.

3.8. Carrez II tirpalas: vandenyje ištirpinama 10,6 g kalio heksacianoferato (4-) trihidrato, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Skiedžiama vandeniu iki 100 ml.

3.9. Aktyvintos anglys, a. r., be chloridų ir jų neabsorbuojančios.

4. **Prietaisai**

Maišiklis (vartytuvas): apytikriai nuo 35 iki 40 aps./min.

5. **Matavimas**

5.1. *Tirpalo ruošimas*

Atsižvelgiant į mėginio prigimtį tirpalas ruošiamas pagal 5.1.1, 5.1.2 arba 5.1.3 punktą.

Kartu atliekamas *tuščiasis bandymas*, nededant analizuojamo mėginio.

5.1.1. *Mėginiai be organinės medžiagos*

1 mg tikslumu pasveriama ne daugiau kaip 10 g mėginio, kuriame chloro chloridų pavidalu būtų ne daugiau kaip 3 g. Mėginys supilamas į 500 ml matavimo kolbą su 400 ml maždaug 20 °C temperatūros vandens. Trisdešimt minučių maišomas vartytuve, praskiedžiamas iki žymės, sumaišomas ir filtruojamas.

5.1.2. *Mėginiai, kuriuose yra organinių medžiagų, išskyrus produktus, išvardytus 5.1.3.*

1 mg tikslumu pasveriama ne daugiau kaip 5 g mėginio, kuris kartu su 1 g aktyvintų anglių supilamas į 500 ml matavimo kolbą. Įpilama 400 ml apie 20 °C temperatūros vandens ir 5 ml Carrez I tirpalo (3.7), maišoma, įpilama 5 ml Carrez II tirpalo (3.8). Vartytuve turinys maišomas trisdešimt minučių, skiedžiamas iki žymės, sumaišomas ir filtruojamas.

5.1.3. *Virti pašarai, linų sėmenų išspaudos ir miltai, produktai, kuriuose daug linų sėmenų miltų, ir kiti produktai, kuriuose daug glitėsių ar koloidinių medžiagų (pvz., dekstrinuotas krakmolas)*

Tirpalas ruošiamas taip, kaip aprašyta 5.1.2 punkte, tačiau nefiltruojamas. Tirpalas dekantuojamas (prireikus centrifuguojamas), 100 ml filtrato paimama į 200 ml matavimo kolbą. Dekantantas maišomas su acetonu (3.6), šiuo tirpikliu skiedžiamas iki žymės, tirpalas sumaišomas ir filtruojamas.

5.2. *Titravimas*

Pipete į Erlenmejerio kolbą paimama nuo 25 ml iki 100 ml (pagal numatomą chlorido kiekį) tirpalo, paruošto pagal aprašymo 5.1.1, 5.1.2 ar 5.1.3 punktus. Paimtoje alikvotinėje tirpalo dalyje turi būti ne daugiau nei 150 mg chloro (Cl). Prireikus tirpalas skiedžiamas ne mažiau kaip 50 ml vandens, įpilama 5 ml nitrato rūgšties (3.4), 20 ml sočiojo amonio-geležies (III) sulfato tirpalo (3.3) ir du lašai amonio tiocianato tirpalo (3.1), lašinamo iš biuretės, užpildytos iki nulinės žymės. Iš biuretės įpilama tiek sidabro nitrato tirpalo (3.2), kad susidarytų 5 ml perteklius. Įpilama 5 ml dietileterio (3.5) ir purtoma, kad nuosėdos koaguliuotų.

Sidabro nitrato perteklius titruojamas amonio tiocianato tirpalu (3.1), kol atsiradusi raudonai ruda spalva neišnyksta per minutę.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Chloro kiekis, išreikštas natrio chlorido kiekiu (W), esančiu titravimui paimto tirpalo tūryje, apskaičiuojamas pagal tokią formulę:

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

čia

V_1 = įpilto 0,1 mol/l sidabro nitrato tirpalo tūris mililitrais.

V_2 = analizei suvartoto 0,1 mol/l amonio tiocianato tirpalo tūris mililitrais.

Jei 0,1 mol/l sidabro nitrato tirpalas buvo sunaudotas tuščiajame bandyme, sunaudoto tirpalo tūris atimamas iš skirtumo ($V_1 - V_2$).

7. **Pastabos**

7.1. Titravimą taip pat galima atlikti potenciometriškai.

7.2. Tuo atveju, jei produktuose yra daug aliejaus ir riebalų, iš pradžių dietileteriu ar petroleteriu pašalinami riebalai.

7.3. Tiriant žuvų miltus chloridus galima titruoti Mohr metodu.

8. GARSTYČIŲ ALIEJAUS NUSTATYMAS

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas garstyčių aliejaus kiekis *Brassica* ir *Sinapis* rūšių išspaudose bei kombinuotuose pašaruose, su šių augalų rūšių išspaudomis, ir reiškiamas alilizotiocianato, kuris gali būti nudistiliuotas garais, kiekiu.

2. **Metodo esmė**

Mėginys suspenduojamas vandenyje. Veikiant fermentams, izotiocianatai ir tiocianatai išlaisvinami, nudistiliuojami alkoholio garais ir surenkami į praskiestą amoniako tirpalą. Šiltas tirpalas veikiamas tam tikru kiekiu sidabro nitrato tirpalo, aušinamas ir filtruojamas. Sidabro nitrato perteklius titruojamas amonio tiocianato tirpalu.

3. **Reagentai**

3.1. Baltosios garstyčios (*Sinapis alba*).

3.2. 95 %–96 % (v/v) etanolis.

3.3. Priešpučio emulsija (pvz., silikono).

3.4. Amoniako tirpalas, $\rho = 0{,}958$ g/ml.

3.5. Sidabro nitrato 0,1 mol/l tirpalas.

3.6. Amonio tiocianato 0,1 mol/l tirpalas.

3.7. Nitrato rūgštis, $\rho = 1{,}40$ g/ml.

3.8. Sotusis amonio-geležies (III) sulfato tirpalas.

4. **Prietaisai**

4.1. 500 ml plokščiadugnės kolbos su šlifo kamščiais.

4.2. Distiliavimo aparatas, turintis kondensatorių ir įrangą, apsaugančią nuo lašų išnešimo.

5. **Matavimas**

10 g mėginio, pasverto 1 mg tikslumu, supilama į 500 ml plokščiadugnę kolbą, įdedama 2 g smulkiai sumaltų baltųjų garstyčių (3.1) (fermentų šaltinis) ir įpilama 200 ml 20 °C temperatūros vandens. Kolba užkemšama ir apie 2 valandas laikoma 20 °C temperatūroje dažnai purtant. Įpilama 40 ml etanolio (3.2) ir lašas priešpučio emulsijos (3.3). Nudistiliuojama maždaug 150 ml distiliato, kuris surenkamas į 250 ml matavimo kolbą, į kurią įpilta 20 ml amoniako (3.4). Žiūrima, kad kondensatoriaus antgalis būtų įmerktas į skystį. Į amoniakinį tirpalą įpilama 50 ml 0,1 mol/l sidabro nitrato tirpalo (3.5) (prireikus ir daugiau), ant matavimo kolbos uždedamas mažas piltuvas ir mišinys vieną valandą šildomas ant verdančio vandens vonios. Tirpalas paliekamas aušti, skiedžiamas vandeniu iki žymės, išmaišomas ir filtruojamas. Imama 100 ml skaidraus filtrato, į jį įpilama 5 ml nitrato rūgšties (3.7) ir maždaug 5 ml amonio-geležies (III) sulfato tirpalo (3.8). Sidabro nitrato perteklius titruojamas 0,1 mol/l amonio tiocianato tirpalu (3.6).

Atliekamas *tuščiasis bandymas* be analizuojamo mėginio, taikant tą pačią cheminės analizės metodiką su 2 g smulkiai sutrintų baltųjų garstyčių.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Iš 0,1 mol/l sidabro nitrato tirpalo kiekio, kurį sunaudoja tirpale esantis alilizotiocianatas, atimamas tuščiame bandyme sunaudotas sidabro nitrato tirpalo kiekis. Gauta vertė yra 0,1 mol/l sidabro nitrato tirpalo, kuris sureagavo su mėginyje esančiais izotiocianatais ir tiocianatais, mililitrų kiekis. 1 ml 0,1 mol/l sidabro nitrato atitinka 4,956 mg alilizotiocianato. Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

9. LAKTOZĖS NUSTATYMAS

1. Tikslas ir taikymo sritis

Metodu nustatomas laktozės kiekis pašaruose, kai jos yra daugiau kaip 0,5 %.

2. Metodo esmė

Cukrūs ištirpinami vandenyje. Tirpalas fermentuojamas pridedant mielių *Saccharomyces cerevisiae*, kurios laktozės neliečia. Po skaidrinimo ir filtracijos laktozės kiekis filtrate nustatomas Luff-Schoorl metodu.

3. Reagentai

3.1. *Saccharomyces cerevisiae* suspensija: 25 g šviežių mielių išmaišoma 100 ml vandens. Suspensija šaldytuve išsilaiko ne ilgiau kaip savaitę.

3.2. Carrez I tirpalas: vandenyje ištirpinama 21,9 g cinko acetato dihidrato, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ir 3 g ledinės acto rūgšties. Šiltu vandeniu skiedžiama iki 100 ml.

3.3. Carrez II tirpalas: vandenyje ištirpinama 10,6 g kalio heksacianoferato (4-) trihidrato, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Skiedžiama vandeniu iki 100 ml.

3.4. Luff-Schoorl reagentas:

Gerai maišant citrinų rūgšties tirpalas (3.4.2) supilamas į natrio karbonato tirpalą (3.4.3). Įpilamas vario sulfato tirpalas (3.4.1) ir vandeniu skiedžiama iki 1 litro. Paliekama nusistovėti per naktį ir tirpalas filtruojamas. Tikrinama tokiu būdu gauto reagento molinė ekvivalentų koncentracija (Cu – 0,1 mol/l, Na_2CO_3 – 1 mol/l). Tirpalo pH turi būti apie 9,4.

3.4.1. Vario sulfato tirpalas: 25 g vario sulfato pentahidrato, a. r., $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ be geležies ištirpinama 100 ml vandens.

3.4.2. Citrinų rūgšties tirpalas: 50 g citrinų rūgšties monohidrato, a. r., $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ištirpinama 50 ml vandens.

3.4.3. Natrio karbonato tirpalas: 143,8 g bevandenio natrio karbonato, a. r., ištirpinama maždaug 300 ml šilto vandens. Paliekama aušti.

3.5. Pemzos granulės, virintos druskos rūgšties tirpale, išplautos ir išdžiovintos.

3.6. Kalio jodido 30 % (m/v) tirpalas.

3.7. Sulfato rūgšties 3 mol/l tirpalas.

3.8. Natrio tiosulfato 0,1 mol/l tirpalas.

3.9. Krakmolo tirpalas: 5 g tirpaus krakmolo mišinys su 30 ml vandens supilamas į 1 litrą verdančio vandens. Virinama tris minutes, tirpalas aušinamas, prireikus į jį kaip konservanto įdedama 10 mg gyvsidabrio (II) jodido.

4. Prietaisai

Termostatuojama vandens vonia, nustatyta 38 °C–40 °C temperatūrai.

5. Matavimas

1 g mėginio, pasverto 1 mg tikslumu, supilama į 100 ml matavimo kolbą. Įpilama 25 ml–30 ml vandens. Kolba 30 minučių laikoma ant verdančio vandens vonios, paskui aušinama iki maždaug 35 °C temperatūros. Įdedama apie 5 ml mielių suspensijos (3.1) ir išmaišoma. Kolba paliekama stovėti dvi valandas ant vandens vonios 38 °C–40 °C temperatūroje. Aušinama iki maždaug 20° C temperatūros.

Įpilama 2,5 ml Carrez I tirpalo (3.2) ir 30 sekundžių maišoma, paskui – 2,5 ml Carrez II tirpalo (3.3) ir vėl maišoma 30 sekundžių. Skiedžiama vandeniu iki 100 ml, sumaišoma ir filtruojama. Ne daugiau kaip 25 ml šio tirpalo, kuriame laktozės turėtų būti nuo 40 mg iki 80 mg, pipete paimama į 300 ml Erlenmejerio kolbą. Prireikus iki 25 ml praskiedžiama vandeniu.

Tokiu pačiu būdu atliekamas tuščiasis bandymas su 5 ml mielių suspensijos (3.1).

Laktozės kiekis Luff-Schoorl metodu nustatomas taip: įpilama lygiai 25 ml Luff-Schoorl reagento (3.4) ir įdedamos dvi pemzos (3.5) granulės. Tirpalas maišomas laikant kolbą rankoje ir tuo pat metu šildant virš vidutinės atviros liepsnos, kad tirpalas užvirtų maždaug per dvi minutes. Iš karto Erlenmejerio kolba statoma ant asbestu padengto vielos tinklelio su maždaug 6 cm skersmens skyle, po kuria dega liepsna. Liepsna turi būti reguliuojama tokiu būdu, kad būtų šildomas tik Erlenmejerio kolbos dugnas. Prie Erlenmejerio kolbos prijungiamas grįžtamasis kondensatorius. Virinama lygiai dešimt minučių. Iš karto po to kolba aušinama šaltame vandenyje ir maždaug po penkių minučių titruojama taip:

įpilama 10 ml kalio jodido tirpalo (3.6) ir tuojau pat (atsargiai, nes gali stipriai putoti) įpilama 25 ml 3 mol/l sulfato rūgšties tirpalo (3.7). Titruojama natrio tiosulfato 0,1 mol/l tirpalu (3.8), kol spalva tampa vos gelsva, kaip indikatoriaus įpilama krakmolo tirpalo (3.9) ir titravimas užbaigiamas.

Toks pats titravimas, tik nevirinant, atliekamas su tiksliai 25 ml Luff-Schoorl reagento (3.4) ir 25 ml vandens mišiniu, įpilant 10 ml kalio jodido tirpalo (3.6) ir 25 ml 3 mol/l sulfato rūgšties tirpalo (3.7).

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Pagal pridedamą lentelę nustatomas laktozės kiekis miligramais, kuris atitinka dviejų titravimų rezultatų skirtumą, reiškiamą mililitrais 0,1 mol/l natrio tiosulfato tirpalo.

Rezultatas pateikiamas procentais išreiškiant bevandenės laktozės masės dalį.

7. **Pastaba**

Produktams, kuriuose yra daugiau kaip 40 % fermentuojamo cukraus, naudojama daugiau kaip 5 ml mielių suspensijos.

Verčių lentelė, kai naudojama 25 ml Luff-Schoorl reagento

0,1 mol/l $Na_2S_2O_3$ ml, dvi minutes šildyti, dešimt minučių virti

0,1 mol/l $Na_2S_2O_3$ ml	Gliukozė, fruktozė, invertuotieji cukrūs, $C_6H_{12}O_6$		Laktozė, $C_{12}H_{22}O_{11}$		Maltozė, $C_{12}H_{22}O_{11}$		0,1 mol/l $Na_2S_2O_3$
Ml	mg	Verčių žingsnis	mg	Verčių žingsnis	mg	Verčių žingsnis	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. KALIO NUSTATYMAS

1. Tikslas ir taikymo sritis

Metodu nustatomas kalio kiekis pašaruose.

2. Metodo esmė

Mėginys sudeginamas ir pelenai ištirpinami vandenilio chloride. Kalio kiekis tirpale nustatomas liepsnos fotometrijos metodu, esant cezio chloridui ir aliuminio nitratui. Šių medžiagų dedama, kad būtų gerokai sumažinama trukdančių elementų įtaka.

3. Reagentai

3.1. Vandenilio chloridas, a. r, ρ = 1,12 g/ml.

3.2. Cezio chloridas, a. r.

3.3. Aliuminio nitratas, A l $(NO_3)_3$, t. r.

3.4. Bevandenis kalio chloridas, a. r.

3.5. Fotometrijos buferis: vandenyje ištirpinama 50 g cezio chlorido (3.2) ir 250 g aliuminio nitrato (3.3), tirpalas skiedžiamas vandeniu iki 1 litro ir sumaišomas. Tirpalas laikomas plastiko buteliuose.

3.6. Etaloninis kalio tirpalas: vandenyje ištirpinama 1,907 g kalio chlorido (3.4), įpilama 5 ml vandenilio chlorido (3.1), vandeniu skiedžiama iki 1 litro ir tirpalas sumaišomas. Tirpalas laikomas plastiko buteliuose. 1 ml šio tirpalo yra 1 mg kalio.

4. Prietaisai

4.1. Platinos, kvarco ar porcelianinis tigliai mėginiui sudeginti, kurie prireikus uždengiami.

4.2. Elektrinė mufelinė krosnis su termorele.

4.3. Liepsnos fotometras.

5. Matavimas

5.1. *Mėginio analizė*

Paprastai 10 mg tikslumu pasveriama 10 g mėginio, kuris supilamas į tiglį ir tris valandas kaitinamas esant 450 °C. Tigliui ataušus, pelenai kiekybiškai suplaunami į 500 ml matavimo kolbą, tam sunaudojant nuo 250 iki 300 ml vandens, paskui 50 ml vandenilio chlorido tirpalo (3.1). Nustojus skirtis anglies dioksidui tirpalas pašildomas ir dvi valandas kartais pamaišant laikomas maždaug 90 °C temperatūroje. Atšaldytas iki kambario temperatūros tirpalas skiedžiamas vandeniu iki žymės, sumaišomas ir filtruojamas. Į 100 ml matavimo kolbą paimama alikvotinė filtrato dalis, kurioje būtų ne daugiau nei 1 mg kalio, įpilama 10,0 ml fotometrijos buferio (3.5), tirpalas vandeniu skiedžiamas iki žymės ir sumaišomas. Tuo atveju, kai kalio yra daugiau, prieš įpilant fotometrijos buferį analizuojamas tirpalas atitinkamai praskiedžiamas.

Lentelėje pateikiami orientaciniai praskiedimo koeficientai, imant maždaug 10 g masės mėginį.

Numatomas kalio kiekis mėginyje (% K)	Tirpalo skiedimo santykis	Cheminei analizei imamo tirpalo tūrio dalis, ml
iki 0,1	–	50
nuo 0,1 iki 0,5	–	10
nuo 0,5 iki 1,0	–	5
nuo 1,0 iki 5,0	1 : 10	10
nuo 5,0 iki 10,0	1 : 10	5
nuo 10,0 iki 20,0	1 : 20	5

Matuojama liepsnos fotometru, esant 768 nm bangos ilgiui. Rezultatas apskaičiuojamas pagal kalibracinę kreivę.

5.2. *Kalibracinė kreivė*

Lygiai 10 ml etaloninio tirpalo (3.6) įpilama į 250 ml matavimo kolbą, tirpalas skiedžiamas vandeniu iki žymės ir sumaišomas. Į 100 ml kolbas tiksliai įpilama 5 ml, 10 ml, 15ml, 20 ml ir 25 ml šio tirpalo, kuriame atitinkamai būtų 0,2ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml ir 1,0 mg kalio. Į dar vieną kolbą etaloninio tirpalo neįpilama. Į kiekvieną kolbą įpilama 10 ml fotometrijos buferio (3.5), tirpalas skiedžiamas vandeniu iki žymės ir sumaišomas. Atliekami 5.1 punkte nurodyti matavimai. Paprastai kalibracinė kreivė yra tiesi iki kalio koncentracijos 1 mg 100 ml tirpalo.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastaba**

Norint pašalinti nustatymui trukdančių elementų įtaką ne visada būtina pilti fotometrijos buferio (3.5).

---

11. **NATRIO NUSTATYMAS**

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas natrio kiekis pašaruose.

2. **Metodo esmė**

Mėginys sudeginamas ir pelenai ištirpinami vandenilio chloride. Natrio kiekis tirpale nustatomas liepsnos fotometrijos metodu, esant cezio chloridui ir aliuminio nitratui. Šių medžiagų dedama, kad būtų gerokai sumažinama trukdančių elementų įtaka.

3. **Reagentai**

3.1. Vandenilio chloridas, a. r, ρ = 1,12 g/ml.

3.2. Cezio chloridas, a. r.

3.3. Aliuminio nitratas, $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, techninis reagentas.

3.4. Bevandenis natrio chloridas, a. r.

3.5. Fotometrijos buferis: vandenyje ištirpinama 50 g cezio chlorido (3.2) ir 250 g aliuminio nitrato (3.3), tirpalas skiedžiamas vandeniu iki 1 litro ir sumaišomas. Tirpalas laikomas plastiko buteliuose.

3.6. Etaloninis natrio tirpalas: vandenyje ištirpinama 2,542 g natrio chlorido (3.4), įpilama 5 ml vandenilio chlorido (3.1), vandeniu skiedžiama iki 1 litro ir tirpalas sumaišomas. Tirpalas laikomas plastiko buteliuose. 1 ml šio tirpalo yra 1 mg natrio.

4. **Prietaisai**

4.1. Platinos, kvarco ar porcelianinis tigliai mėginiui sudeginti, kurie prireikus uždengiami.

4.2. Elektrinė mufelinė krosnis su termorele.

4.3. Liepsnos fotometras.

5. **Matavimas**

5.1. *Mėginio cheminė analizė*

Paprastai 10 mg tikslumu pasveriama 10 g mėginio, kuris supilamas į tiglį ir tris valandas kaitinamas 450 °C temperatūroje. Vengiama perkaitinti (kad neužsidegtų). Tigliui ataušus, pelenai kiekybiškai suplaunami į 500 ml matavimo kolbą, tam panaudojant nuo 250 ml iki 300 ml vandens, po to 50 ml vandenilio chlorido tirpalo (3.1). Nustojus skirtis anglies dioksidui tirpalas pašildomas ir dvi valandas laikomas maždaug 90 °C temperatūroje, kartais maišant. Ataušintas iki kambario temperatūros tirpalas skiedžiamas vandeniu iki žymės, sumaišomas ir filtruojamas. Į 100 ml matavimo kolbą paimama alikvotinė filtrato dalis, kurioje būtų ne daugiau kaip 1 mg natrio, įpilama 10,0 ml fotometrijos buferio (3.5), tirpalas vandeniu skiedžiamas iki žymės ir sumaišomas. Tuo atveju, kai natrio yra daugiau, prieš įpilant fotometrijos buferį analizuojamas tirpalas atitinkamai praskiedžiamas.

Lentelėje pateikiami orientaciniai praskiedimo koeficientai, maždaug 10 g masės mėginiui.

Numatomas natrio kiekis mėginyje (% Na)	Tirpalo skiedimo santykis	Analizei imamo tirpalo tūrio dalis, ml
iki 0,1	–	50
nuo 0,1 iki 0,5	–	10
nuo 0,5 iki 1,0	–	5
nuo 1,0 iki 5,0	1 : 10	10
nuo 5,0 iki 10,0	1 : 10	5
nuo 10,0 iki 20,0	1 : 20	5

Matuojama liepsnos fotometru, esant 589 nm bangos ilgiui. Rezultatas apskaičiuojamas pagal kalibracinę kreivę.

5.2. *Kalibracinė kreivė*

Lygiai 10 ml etaloninio tirpalo (3.6) paimama į 250 ml matavimo kolbą, tirpalas skiedžiamas vandeniu iki žymės ir sumaišomas. Į 100 ml kolbas paimama lygiai 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml ir 25 ml šio tirpalo, kuriame atitinkamai yra 0,2 mg, 0,4 mg, 0,6 mg, 0,8 mg ir 1,0 mg natrio. Į dar vieną kolbą etaloninio tirpalo neįpilama. Į kiekvieną kolbą įpilama 10 ml fotometrijos buferio (3.5), tirpalas skiedžiamas vandeniu iki žymės ir sumaišomas. Atliekami 5.1 punkte nurodyti matavimai. Paprastai kalibracinė kreivė yra tiesi iki natrio koncentracijos 1 mg 100 ml tirpalo.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastabos**

7.1. Produktus, kuriuose yra daugiau kaip 4 % natrio, pelenais geriausiai būtų paversti kaitinant dvi valandas uždengtame tiglyje. Liekanai ataušus įpilama vandens, pelenai suspenduojami maišant platinos viela, tirpalas džiovinamas ir vėl dvi valandas kaitinamas uždengtame tiglyje.

7.2. Jei mėginį sudaro tik neorganinės medžiagos, jis ištirpinamas prieš tai neiškaitinant.

12. **CUKRAUS NUSTATYMAS**

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas redukuojančių cukrų kiekis ir bendras cukrų po inversijos kiekis, reiškiamas gliukozės kiekiu ar, kur tinka, sacharozės kiekiu, dauginant rezultatą iš koeficiento 0,95. Metodas tinka kombinuotiesiems pašarams. Kitiems pašarams numatyti specialūs metodai. Kur būtina, laktozė turi būti nustatyta atskirai, ir į jos kiekį atsižvelgiama skaičiuojant rezultatus.

2. **Metodo esmė**

Cukrūs ekstrahuojami praskiestu etanoliu; tirpalas skaidrinamas I ir II Carrez tirpalais. Etanolį pašalinus cukrų kiekiai prieš ir po inversijos nustatomi Luff-Schoorl metodu.

3. **Reagentai**

3.1. Etanolis 40 % (v/v), ρ = 0,948 g/ml 20 °C temperatūroje, neutralus pagal fenolftaleiną.

3.2. Carrez I tirpalas: vandenyje ištirpinama 21,9 g cinko acetato dihidrato, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ir 3 g ledinės acto rūgšties. Šiltu vandeniu skiedžiama iki 100 ml.

3.3. Carrez II tirpalas: vandenyje ištirpinama 10,6 g kalio heksacianoferato (4-) trihidrato, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Skiedžiama vandeniu iki 100 ml.

3.4. Metiloranžinio 0,1 % (m/v) tirpalas.

3.5. Vandenilio chlorido 4 mol/l tirpalas.

3.6. Vandenilio chlorido 0,1 mol/l tirpalas.

3.7. Natrio hidroksido 0,1 mol/l tirpalas.

3.8. Luff-Schoorl reagentas:

Gerai maišant, citrinų rūgšties tirpalas (3.8.2) supilamas į natrio karbonato tirpalą (3.8.3). Įpilamas vario sulfato tirpalas (3.8.1) ir vandeniu skiedžiama iki 1 litro. Paliekama nusistovėti per naktį ir tirpalas filtruojamas. Tikrinama taip gauto reagento molinė ekvivalentų koncentracija (Cu – 0,1 mol/l, Na_2CO_3 – 1 mol/l). Tirpalo pH turi būti apie 9,4.

3.8.1. Vario sulfato tirpalas: 25 g vario sulfato pentahidrato, a. r., $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ be geležies ištirpinama 100 ml vandens.

3.8.2. Citrinų rūgšties tirpalas: 50 g citrinų rūgšties monohidrato, a. r., $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ištirpinama 50 ml vandens.

3.8.3. Natrio karbonato tirpalas: 143,8 g bevandenio natrio karbonato, a. r., ištirpinama maždaug 300 ml šilto vandens. Paliekama aušti.

3.9. Natrio tiosulfato 0,1 mol/l tirpalas.

3.10. Krakmolo tirpalas: 5 g tirpaus krakmolo mišinys su 30 ml vandens supilamas į 1 litrą verdančio vandens. Verdama tris minutes, aušinama ir prireikus kaip konservanto įdedama 10 mg gyvsidabrio (II) jodido.

3.11. Sulfato rūgšties 3 mol/l tirpalas.

3.12. Kalio jodido 30 % (m/v) tirpalas.

3.13. Pemzos granulės, virintos druskos rūgšties tirpale, išplautos ir išdžiovintos.

3.14. 3-metil-1-butanolis.

4. **Prietaisai**

Maišiklis (vartytuvas): apytikriai nuo 35 aps./min. iki 40 aps./min.

5. **Matavimas**

5.1. *Mėginio ekstrahavimas*

2,5 g mėginio, pasverto 1 mg tikslumu, supilama į 250 ml matavimo kolbą. Įpilama 200 ml etanolio (3.1) ir vieną valandą maišoma maišikliu. Įpilama 5 ml Carrez I tirpalo (3.2) ir maišoma vieną minutę. Įpilama 5 ml Carrez II tirpalo (3.3) ir vėl maišoma 1 minutę. Etanoliu (3.1) skiedžiama iki žymės, sumaišoma ir filtruojama. Imama 200 ml filtrato ir, norint pašalinti didesnę dalį etanolio, garinama, kol tūris sumažėja maždaug du kartus. Likutis po išgarinimo naudojant šiltą vandenį kiekybiškai supilamas į 200 ml matavimo kolbą, tirpalas aušinamas, skiedžiamas iki žymės vandeniu, sumaišomas ir prireikus filtruojamas. Šis tirpalas naudojamas nustatyti redukuojančių cukrų kiekį ir – po inversijos – bendrą cukrų kiekį.

5.2. *Redukuojančių cukrų nustatymas*

Pipete paimama ne daugiau kaip 25 ml tirpalo, turinčio mažiau kaip 60 mg redukuojančių cukrų, kurių kiekis reiškiamas gliukozės kiekiu. Prireikus distiliuotu vandeniu skiedžiama iki 25 ml ir redukuojančių cukrų kiekis nustatomas Luff-Schoorl metodu. Rezultatas išreiškiamas procentiniu gliuokozės kiekiu mėginyje.

5.3. *Suminio invertuotų cukrų kiekio nustatymas*

Pipete paimama 50 ml tirpalo ir supilama į 100 ml matavimo kolbą. Įlašinami keli lašai metiloranžinio tirpalo (3.4) ir atsargiai, nuolat maišant, pilama 4 mol/l vandenilio chlorido tirpalo (3.5), kol tirpalo raudona spalva neišnyksta. Įpilama 15 ml 0,1 mol/l vandenilio chlorido (3.6), kolba nuleidžiama į nuolat verdančio vandens vonią, kurioje laikoma trisdešimt minučių. Tirpalas greitai aušinamas iki maždaug 20 °C temperatūros ir į jį įpilama 15 ml 0,1 mol/l natrio hidroksido tirpalo (3.7). Vandeniu skiedžiama iki 100 ml ir sumaišoma. Paimama ne daugiau kaip 25 ml šio tirpalo, turinčio mažiau kaip 60 mg redukuojančių cukrų, išreikštų gliukoze. Prireikus distiliuotu vandeniu skiedžiama iki 25 ml ir redukuojančių cukrų kiekis nustatomas Luff-Schoorl metodu. Rezultatas išreiškiamas gliukozės procentiniu kiekiu arba, kur tinka, sacharozės kiekiu, gautą rezultatą padauginus iš koeficiento 0,95.

5.4. *Titravimas Luff-Schoorl metodu*

Pipete paimama 25 ml Luff-Schoorl reagento (3.8) ir supilama į 300 ml Erlenmejerio kolbą; įpilama lygiai 25 ml skaidrinto cukrų tirpalo. Įdedamos dvi pemzos (3.13) granulės, tirpalas šildomas ir maišomas, laikant kolbą rankoje virš vidutinės atviros liepsnos, kad tirpalas užvirtų maždaug per dvi minutes. Iš karto Erlenmejerio kolba statoma ant asbestu dengto vielos tinklelio su maždaug 6 cm skersmens skyle, po kuria dega liepsna. Liepsna turi būti reguliuojama taip, kad būtų šildomas tik Erlenmejerio kolbos dugnas. Prie Erlenmejerio kolbos prijungiamas grįžtamasis kondensatorius. Virinama lygiai dešimt minučių. Paskui kolba iš karto aušinama šaltame vandenyje ir maždaug po penkių minučių titruojama taip:

įpilama 10 ml kalio jodido tirpalo (3.12) ir tuojau pat (atsargiai, nes gali stipriai putoti) įpilama 25 ml 3 mol/l sulfato rūgšties (3.11). Titruojama natrio tiosulfato 0,1 mol/l tirpalu (3.9), kol spalva tampa vos gelsva, kaip indikatoriaus įpilama krakmolo tirpalo (3.10), ir titravimas užbaigiamas.

Toks pats titravimas, tik nevirinant, atliekamas su lygiai 25 ml Luff-Schoorl reagento (3.8) ir 25 ml vandens mišiniu, įpilant 10 ml kalio jodido tirpalo (3.12) ir 25 ml 3 mol/l sulfato rūgšties tirpalo (3.11).

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Pagal lentelę nustatomas gliukozės kiekis miligramais, kuris atitinka dviejų titravimų rezultatų skirtumą, reiškiamą mililitrais 0,1 mol/l natrio tiosulfato tirpalo.

Rezultatas pateikiamas mėginio masės procentais.

7. **Specialūs metodai**

7.1. Pašarų, kuriuose yra daug melasos, ir kitų pašarų, kurie nėra ypač vienalyčiai, pasveriama 20 g ir su 500 ml vandens nuplaunama į 1000 ml tūrio matavimo kolbą. Maišikliu maišoma vieną valandą. Skaidrinama naudojant Carrez I (3.2) ir II (3.3) tirpalus, kaip aprašyta 5.1 punkte, tačiau naudojant keturiskart didesnius reagentų kiekius. Skiedžiama iki žymės 80 % (v/v) etanoliu.

Tirpalas sumaišomas ir filtruojamas. Etanolis pašalinamas, kaip aprašyta 5.1 punkte. Jei mėginyje nėra dekstrinizuoto krakmolo, skiedžiama iki žymės vandeniu.

7.2. Melasos ir grynųjų pašarų, kuriuose yra daug cukraus ir beveik nėra krakmolo (*ceratonia siliqua* vaisiai, džiovinti runkelių griežiniai ir t. t.), 5 g mėginio sudedama į 250 ml matavimo kolbą, įpilama 200 ml distiliuoto vandens ir valandą maišoma maišikliu, prireikus – ir ilgiau. Skaidrinama naudojant Carrez I (3.2) ir II (3.3) tirpalus, kaip aprašyta 5.1 punkte. Skiedžiama iki žymės šaltu vandeniu, maišoma ir filtruojama. Norint nustatyti suminį cukrų kiekį, daroma, kaip aprašyta 5.3 punkte.

8. **Pastabos**

8.1. Putojimo išvengiama, jei prieš virinant su Luff-Schoorl reagentu įpilama (nepaisant tūrio) apie 1 ml 3-metil-1-butanolio (3.14).

8.2. Skirtumas tarp cukrų po inversijos suminio kiekio, išreikšto gliukozės kiekiu, ir redukuojančių cukrų kiekio, išreikšto gliukozės kiekiu, padauginus iš 0,95, yra procentinis sacharozės kiekis.

8.3. Norint nustatyti redukuojančių cukrų be laktozės kiekį, galima taikyti du metodus:

8.3.1. skaičiuojant apytikriai, atskiru analizės metodu nustatytas laktozės kiekis dauginamas iš 0,675 ir gautas rezultatas atimamas iš redukuojančių cukrų kiekio;

8.3.2. redukuojančių cukrų be laktozės kiekį skaičiuojant tiksliai, tas pats mėginys turi būti tiriamas dviem metodais. Viena cheminė analizė atliekama su alikvotine dalimi tirpalo, gauto pagal 5.1 punktą, kita – su alikvotine dalimi tirpalo, gauto nustatant laktozę pagal šiam tikslui numatytą metodą (atlikus kitų cukrų fermentaciją ir skaidrinimą).

Abiem atvejais turimas cukrų kiekis nustatomas Luff-Schoorl metodu ir perskaičiuojamas į gliukozės kiekį miligramais. Viena iš verčių atimama iš kitos ir skirtumas išreiškiamas mėginio masės procentais.

Pavyzdys

Du kiekvienam nustatymui paimti tūriai atitinka 250 mg mėginį.

Pirmuoju atveju sunaudota 17 ml 0,1 mol/l natrio tiosulfato tirpalo, tai atitinka 44,2 mg gliukozės; antruoju atveju sunaudota 11 ml, tai atitinka 27,6 mg gliukozės.

Skirtumas yra 16,6 mg gliukozės.

Redukuojančių cukrų kiekis (neskaitant laktozės), perskaičiuotas į gliukozę, tokiu atveju yra lygus:

$$\frac{4 \text{ x } 16.6}{10} = 6.64\,\%$$

Verčių lentelė, kai naudojama 25 ml Luff-Schoorl reagento

0,1 mol/l $Na_2S_2O_3$ ml, dvi minutes šildyti, dešimt minučių virti

0,1 mol/l $Na_2S_2O_3$ ml	Gliukozė, fruktozė, invertuotieji cukrūs, $C_6H_{12}O_6$		Laktozė, $C_{12}H_{22}O_{11}$		Maltozė, $C_{12}H_{22}O_{11}$		0,1 mol/l $Na_2S_2O_3$ ml
Ml	mg	Verčių žingsnis	mg	Verčių žingsnis	mg	Verčių žingsnis	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. **TEOBROMINO NUSTATYMAS**

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas teobromino kiekis kakavos pupelių perdirbimo šalutiniuose produktuose.

2. **Metodo esmė**

Teobrominas ekstrahuojamas chloroformu. Ekstaktas garinamas iki sausos liekanos, kuri tirpinama vandenyje ir veikiama tiksliu sidabro nitrato kiekiu. Išsiskyrusi nitrato rūgštis titruojama natrio hidroksido tirpalu.

3. **Reagentai**

3.1. Chloroformas, a. r.

3.2. Amoniakas, $\rho = 0{,}958$ g/ml.

3.3. Natrio sulfatas, bevandenis, a. r.

3.4. Natrio hiroksido 0,1 mol/l tirpalas.

3.5. Sidabro nitrato 0,1 mol/l tirpalas.

3.6. Fenolsulfoftaleino (fenolio raudonojo) 0,1 % (m/v) tirpalas etanolyje.

3.7. Petroleteris, virimo temp. 40–60 °C.

4. **Prietaisai**

Plokščiadugnės 500 ml tūrio kolbos su šlifo kamščiais.

5. **Matavimas**

1 mg tikslumu pasvertas mėginys, kurio masė ne didesnė kaip 10 g ir kuriame yra ne daugiau kaip 80 mg teobromino, supilamas į 500 ml plokščiadugnę kolbą su šlifo kamščiu, į kurią dar įpilama 270 ml chloroformo (3.1) bei 10 ml amoniako (3.2). Kolba užkemšama ir stipriai purtoma penkias minutes. Pridedama 12 g bevandenio natrio sulfato (3.3), turinys vėl purtomas ir paliekamas iki kitos dienos nusistovėti. Filtruojama į 500 ml Erlenmejerio kolbą ir nuosėdos plaunamos 100 ml chloroformo (3.1). Tirpiklis distiliuojamas ir paskutiniai jo pėdsakai pašalinami ant verdančio vandens vonios. Ekstraktas ištirpinamas 50 ml vandens ir užvirinamas.

Tirpalas aušinamas, tiksliai neutralizuojamas natrio hidroksido tirpalu, kaip indikatorių naudojant 0,5 ml fenolsulfoftaleino tirpalą (3.6). Įpilama 20 ml sidabro nitrato tirpalo (3.5). Išsiskyrusi nitrato rūgštis titruojama natrio hidroksido tirpalu (3.4), kol indikatorius keičia spalvą (pH = 7,4).

6. **Rezultatų skaičiavimas**

1 ml 0,1 mol/l NaOH atitinka 18 mg teobromino.

Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastaba**

Iš produktų, kuriuose yra daugiau kaip 8 % žalios aliejingos medžiagos, pirmiausia turi būti pašalinti riebalai, ekstrahuojant juos šešias valandas petroleteriu (jo virimo temperatūra 40–60 °C).

14. **KARBAMIDO NUSTATYMAS**

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas karbamido kiekis pašaruose.

2. **Metodo esmė**

Mėginys suspenduojamas vandenyje kartu su skaidrinančia medžiaga. Suspensija filtruojama. Dedama 4-dimetilaminobenzaldehido (4-DMAB) ir karbamido kiekis filtrate nustatomas matuojant optinį tankį, esant 420 nm bangos ilgiui.

3. **Reagentai**

3.1. 4-dimetilaminobenzaldehido tirpalas: 1,6 g 4-DMAB ištirpinama 100 ml 96 % etanolio ir įpilama 10 ml vandenilio chlorido, a. r. (ρ = 1,19 g/ml). Šį reagentą galima laikyti ne ilgiau kaip dvi savaites.

3.2. Carrez I tirpalas: vandenyje ištirpinama 21,9 g cinko acetato dihidrato, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ir 3 g ledinės acto rūgšties. Vandeniu skiedžiama iki 100 ml.

3.3. Carrez II tirpalas: vandenyje ištirpinama 10,6 g kalio heksacianoferato (4-) trihidroksidas, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Skiedžiama vandeniu iki 100 ml.

3.4. Aktyvintos anglys, a. r., neabsorbuojančios karbamido (turi būti patikrinta).

3.5. Karbamido, a. r. 0,1 % (m/v) tirpalas.

4. **Prietaisai**

4.1. Maišiklis (vartytuvas): apytikriai nuo 35 iki 40 aps./min.

4.2. Mėgintuvėliai: 160 × 16 mm su šlifo kamščiais.

4.3. Spektrofotometras.

5. **Matavimas**

5.1. *Mėginio cheminė analizė*

1 mg tikslumu pasveriama 2 g mėginio, kuris kartu su 1 g aktyvintų anglių (3.4) supilamas į 500 ml matavimo kolbą. Įpilama 400 ml vandens ir po 5 ml Carrez I (3.2) bei II (3.3) tirpalų. Trisdešimt minučių tirpalas maišomas maišikliu. Tirpalas praskiedžiamas vandeniu iki žymės, sumaišomas ir filtruojamas.

Į mėgintuvėlius su šlifo kamščiais įpilama 5 ml skaidraus bespalvio filtrato, 5 ml 4-DMAB tirpalo (3.1) ir sumaišoma. Mėgintuvėlis statomas ant 20 °C temperatūros vandens vonios. Po penkiolikos minučių spektrofotometru matuojamas mėginio tirpalo optinis tankis, esant 420 nm bangos ilgiui. Lyginama su tuščiajam mėginiui ruošti naudojamų reagentų tirpalu.

5.2. *Kalibracinė kreivė*

Į 100 ml matavimo kolbas įpilama 1, 2, 4, 5 ir 10 ml karbamido tirpalo (3.5) ir skiedžiama vandeniu iki žymės. Į atskirus mėgintuvėlius su šlifo kamščiais įpilama po 5 ml kiekvieno tirpalo, į kiekvieną mėgintuvėlį įpilama 5 ml 4-DMAB tirpalo (3.1), tirpalas sumaišomas ir, kaip nurodyta anksčiau, matuojamas jo optinis tankis, lyginant su kontroliniu tirpalu, turinčiu 5 ml 4-DMAB ir 5 ml vandens, tačiau be karbamido. Brėžiama kalibracinė kreivė.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Pagal kalibracinę kreivę nustatomas karbamido kiekis mėginyje.

Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

7. **Pastabos**

7.1. Tais atvejais, kai karbamido kiekis yra didesnis kaip 3 %, imama 1 g mėginio arba pradinis tirpalas skiedžiamas tiek, kad jo 500 ml būtų ne daugiau kaip 50 mg karbamido.

7.2. Tuo atveju, kai karbamido yra mažai, mėginio kiekis padidinamas tiek, kad filtratas dar liktų skaidrus ir bespalvis.

7.3. Jei mėginyje yra nesudėtingų azoto junginių, pvz., aminorūgščių, optinis tankis turi būti matuojamas, kai bangos ilgis 435 nm.

---

15. **ALKALOIDŲ LUBINUOSE NUSTATYMAS**

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Metodu nustatomas alkaloidų kiekis lubinų sėklose.

2. **Metodo esmė**

Alkaloidai ištirpinami dietiletrio ir chloroformo mišinyje ir ekstrahuojami vandenilio chloridu. Alkaloidai nusodinami silicio volframo rūgštimi, nuosėdos iškaitinamos ir liekana pasveriama.

3. **Reagentai**

3.1. Dietileteris.

3.2. Chloroformas.

3.3. Natrio hidroksido 4 mol/l tirpalas.

3.4. Vandenilio chlorido 0,3 mol/l tirpalas.

3.5. Natrio chloridas, a. r.

3.6. Silicio volframo rūgšties, $SiO_2 \cdot 12WO_3 \cdot 26H_2O$, 10 % (m/v) tirpalas.

4. **Prietaisai**

4.1. Mechaninis maišiklis.

4.2. Platinos, kvarco ar porcelianinis tigliai mėginiui sudeginti.

4.3. Elektrinė mufelinė krosnis.

5. **Matavimas**

5 mg tikslumu pasveriama 15 g mėginio, kuris supilamas į maždaug 200 ml talpos indą, užkemšamą šlifo kamščiu (pvz., dalijamąjį piltuvą). Įpilama lygiai 100 ml dietileterio (3.1), 50 ml chloroformo (3.2) ir su matavimo pipete įpilama 10 ml natrio hidroksido tirpalo (3.3). Tirpalas stipriai purtomas, kad neįvyktų aglomeracija. Mišinys papurtomas dar keletą kartų ir paliekamas stovėti per naktį. Jei viršutinis sluoksnis ne visiškai skaidrus, įlašinami keli lašai vandens. Eterio ir chloroformo sluoksnis filtruojamas. 50 ml filtrato surenkama 50 ml matavimo kolboje ir kiekybiškai supilama į 150 ml dalijamąjį piltuvą, naudojant 50 ml dietileterio (3.1). Tris kartus nuosekliai ekstrahuojama su 20 ml vandenilio chlorido (3.4), ekstraktui leidžiama nusistovėti ir po kiekvieno ekstrahavimo rūgštus sluoksnis surenkamas. Rūgštūs ekstraktai supilami į 250 ml stiklinę ir, atsargiai šildant, pašalinami paskutiniai eterio ir chloroformo likučiai. Įdedama maždaug 1 g natrio chlorido (3.5), tirpalas aušinamas ir alkaloidai nusodinami silicio volframo rūgštimi (3.6). Trisdešimt minučių mišinys maišomas mechaniniu maišikliu. Mišinys paliekamas nakčiai nuosėdoms nusistovėti, paskui jos filtruojamos per bepelenį filtrą, plaunamos nuosekliai du kartus su 10 ml ir du kartus su 5 ml vandenilio chlorido tirpalu (3.4). Filtras su nuosėdomis dedamas į tiglį ir sudeginamas 900 °C temperatūroje. Tiglis paliekamas aušti, paskui pasveriamas.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Alkaloidų kiekis mėginyje gaunamas pelenų masę padauginus iš koeficiento 0,2.

Rezultatas išreiškiamas mėginio masės procentais.

---

16. **SOJŲ PRODUKTŲ UREAZĖS AKTYVUMO NUSTATYMAS**

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šiuo bandymu įvertinamas ureazės aktyvumas produktuose, kurie gaunami iš sojų, ir nustatoma, ar šie produktai buvo pakankamai ilgai virti.

2. **Metodo esmė**

Ureazės aktyvumas įvertinamas amoniakinio azoto kiekiu, kurį išskiria 1 g produkto iš karbamido tirpalo per 1 minutę 30 °C temperatūroje.

3. **Reagentai**

3.1. Vandenilio chlorido 0,1 mol/l tirpalas.

3.2. Natrio hidroksido 0,1 mol/l tirpalas.

3.3. Buferinis 0,05 mol/l fosfatų tirpalas; 4,45 g dinatrio-vandenilio fosfato dihidrato ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) ir 3,40 g kalio-divandenilio fosfato (KH_2PO_4) 1000 ml tirpalo.

3.4. Šviežias karbamido buferinis tirpalas; 30 g karbamido 1000 ml buferinio tirpalo (3.3); pH 6,9–7,0.

4. **Prietaisai**

4.1. Potenciometrinio titravimo aparatas arba didelio jautrumo pH-metras (0,02 pH) su magnetiniu maišikliu.

4.2. Tiksliai 30 °C temperatūroje termostatuojama vandens vonia.

4.3. Mėgintuvėliai su šlifo kamščiais, 150 mm × 18 mm.

5. **Matavimas**

Maždaug 10 g mėginio sumalama (pvz., kavos malūnėlyje) taip, kad jo milteliai nusisijotų per sietą, kurio akutės yra 0,2 mm skersmens. 1 mg tikslumu pasveriama 0,2 g sumalto mėginio. Jis supilamas į mėgintuvėlį su šlifo kamščiu, į kurį įpilama 10 ml karbamido buferinio tirpalo (3.4). Mėgintuvėlis iš karto užkemšamas ir stipriai purtomas. Mėgintuvėlis statomas ant vandens vonios, nustatytos tiksliai 30 °C, ir lygiai 30 minučių ant jos laikomas. Iš karto po to įpilama 10 ml 0,1 mol/l vandenilio chlorido (3.1), tirpalas greitai aušinamas iki 20 °C ir kiekybiškai supilamas į titravimo indą, mėgintuvėlį du kartus plaunant su 5 ml vandens. Tirpalas iš karto ir greitai potenciometriškai titruojamas natrio hidroksido 0,1 mol/l tirpalu (3.2) iki pH 4,7 naudojant stiklo elektrodą.

Kontrolinis bandymas atliekamas taip:

1 mg tikslumu pasveriama 0,2 g mėginio, kuris greitai supilamas į mėgintuvėlį su šlifo kamščiu, įpilama 10 ml 0,1 mol/l vandenilio chlorido (3.1) ir 10 ml karbamido buferio (3.4). Mėgintuvėlis greitai aušinamas lediniame vandenyje, jame laikomas trisdešimt minučių. Anksčiau nurodytomis sąlygomis mėgintuvėlio turinys supilamas į titravimo indą ir titruojamas 0,1 mol/l natrio hidroksido tirpalu (3.2) iki pH 4,7.

6. **Rezultatų skaičiavimas**

Ureazės aktyvumas skaičiuojamas pagal formulę:

$$\frac{\text{mg N}}{\text{g min}}\,30^{\circ}\,\text{C} = \frac{1 \times 4(b - a)}{30 \times E}$$

čia:

a = 0,1 mol/l natrio hidroksido tirpalo kiekis, sunaudotas mėginio titravimui, mililitrais.

b = 0,1 mol/l natrio hidroksido tirpalo kiekis, sunaudotas kontroliniame bandyme, mililitrais.

E = mėginio masė gramais.

7. **Pastabos**

7.1. Šis metodas tinka, kai ureazės aktyvumas 30 °C temperatūroje yra ne didesnis kaip 1 mg N/(g/min). Produktams su didesniu aktyvumu mėginio masė gali būti sumažinta iki 50 mg.

7.2. Produktai, kuriuose yra daugiau kaip 10 % žalių riebalų, prieš cheminę analizę turi būti nuriebalinti žemoje temperatūroje.