31971L0393

20.12.1971 *EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA* L 279/7

TEINE KOMISJONI DIREKTIIV,

18. november 1971,

millega kehtestatakse ühenduse analüüsimeetodid sööda ametlikuks kontrollimiseks

(71/393/EMÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Majandusühenduse asutamislepingut,

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

ning arvestades järgmist:

kõnealuse direktiiviga nähakse ette sööda ametlik kontrollimine ühenduse poovivõtu- ja analüüsimeetodite abil, selleks et kontrollida sööda vastavust sööda kvaliteeti ja koostist käsitlevates õigusaktides sätestatud nõuetele;

komisjoni 15. juuni 1971. aasta direktiivis 71/250/EMÜ [2] on kehtestatud mitmed ühenduse analüüsimeetodid; võttes arvesse edusamme pärast kõnealuse direktiivi vastuvõtmist tehtud töös, on soovitatav võtta vastu teine rühm meetodeid;

käesolevas direktiivis ettenähtud meetmed on kooskõlas alalise söödakomitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

Artikkel 1

Liikmesriigid nõuavad, et analüüsid sööda niiskuse, lenduvate lämmastikaluste, üldfosfori ning toorõlide ja -rasvade sisalduse ametlikuks kontrollimiseks tehakse vastavalt käesoleva direktiivi lisas kirjeldatud meetoditele.

Käesoleva direktiivi lisas kirjeldatud meetodite suhtes kohaldatakse komisjoni 15. juuni 1971. aasta direktiivi 71/250/EMÜ lisa I osa (Sissejuhatus) üldsätteid.

Artikkel 2

Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi järgimiseks vajalikud õigusnormid hiljemalt 1. jaanuaril 1973. Liikmesriigid teatavad sellest viivitamata komisjonile.

Artikkel 3

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 18. november 1971

Komisjoni nimel

president

Franco M. MALFATTI

[1] EÜT L 170, 3.8.1970, lk 2.
[2] EÜT L 155, 12.7.1971, lk 13.

LISA

I. **NIISKUSE MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Käesoleva meetodiga on võimalik määrata sööda niiskusesisaldust. See ei hõlma õli- ja rasvaturu ühise korralduse kehtestamist käsitlevas nõukogu 22. septembri 1966. aasta määruses nr 136/66/EMÜ ([1]) määratletud lihtsöödana kasutatavate piimatoodete, mineraalainete ja peamiselt mineraalainetest koosnevate segude, õliseemnete ega -viljade analüüsimist.

Õliseemnete ja -viljade niiskusesisalduse määramine on kirjeldatud proovide võtmist ja vähendamist ning õliseemnete õli-, lisaainete- ja niiskusesisalduse määramist käsitleva komisjoni 23. septembri 1968. aasta määruse (EMÜ) nr 1470/68 ([2]) III lisas.

2. **Põhimõte**

Proov kuivatatakse määratletud tingimustel, mis varieeruvad sõltuvalt sööda laadist. Massi kadu määratakse kaalumise abil. Kõrge niiskusesisaldusega tahket sööta tuleb eelnevalt kuivatada.

3. **Seadmed**

3.1. Niiskust mitteneelavast materjalist purusti, mis vastab punktides 4.1.1 ja 4.1.2 sätestatud nõuetele, mida on lihtne puhastada ning millega on võimalik kiiresti ja ühtlaselt purustada nii, et ei tekiks märgatavat kuumenemist ja et proov puutuks võimalikult vähe kokku väliskeskkonnaga (nt vasarpurustaja või vesijahutusega mikropurustaja, kokkupandav koonusveski, aeglustatud liikumisega purustaja või hammasratastega purustaja).

3.2. Analüütilised kaalud täpsusega 0,5 mg.

3.3. Õhukindlalt suletavad roostevabast metallist või klaasist kuivad anumad, põhjaga, millele saab analüüsitavat proovi laotada tihedusega 0,3 g/cm^2.

3.4. Reguleeritava temperatuuriga (± 1 °C) elektriline kuivatuskapp, mis on nõuetekohaselt ventileeritav ja võimaldab kiiret temperatuuri reguleerimist. ([3])

3.5. Reguleeritava temperatuuriga elektriline vaakumkuivatuskapp, mis on varustatud õlipumbaga ning kuhu saab juhtida kuuma ja kuiva õhku või kuhu pannakse kuivatusaine (nt kaltsiumoksiid).

3.6. Eksikaator, millel on paks avadega metall- või portselanalus ning mis sisaldab tõhusat kuivatusainet.

4. **Töö käik**

NB: Käesolevas punktis kirjeldatud toimingud tuleb teha kohe pärast proovi sisaldavate pakendite avamist. Tuleb teha vähemalt kaks analüüsi.

4.1. *Ettevalmistus*

4.1.1. *Muu sööt kui punktides 4.1.2 ja 4.1.3 nimetatud sööt*

Võetakse vähemalt 50 g proovi. Vajaduse korral proov purustatakse või tehakse tükkideks, et vältida niiskusesisalduse kõikumist (vt punkt 6).

4.1.2. *Teravili ja tangud*

Võetakse vähemalt 50 g proovi. Proov jahvatatakse osakesteks, millest vähemalt 50 % pudeneb läbi sõela, mille avade suurus on 0,5 mm, ja sõelale, mille ümmarguste avade suurus on 1 mm, ei jää rohkem kui 10 %.

([1]) EÜT 127, 30.9.1966, lk 3025/66.
([2]) EÜT L 239, 28.9.1968, lk 2.
([3]) Teravilja, jahu, tangude ja manna kuivatamisel peab kuivatuskapi soojusmahutavus olema selline, et seatuna temperatuurile 131 °C saavutab kuivatuskapp pärast maksimaalse arvu uuritavate proovide kuivatuskappi samal ajal kuivama panemist selle temperatuuri uuesti vähem kui 45 minuti jooksul. Ventilatsioon peab olema selline, et tulemused, mis saadakse siis, kui kuivatuskapis on kuivatatud kahe tunni jooksul nii suurel arvul pehme nisu proove, kui kapp neid mahutab, erinevad neljatunnise kuivatamise tulemustest vähem kui 0,15 %.

4.1.3. *Vedel või pastataoline sööt, peamiselt õlidest ja rasvadest koosnev sööt*

Võetakse umbes 25 g proovi, kaalutakse see 10 mg täpsusega, lisatakse vajalik kogus 10 mg täpsusega kaalutud veevaba liiva ja segatakse kuni ühtlase toote saamiseni.

4.2. *Kuivatamine*

4.2.1. *Muu sööt kui punktides 4.2.2 ja 4.2.3 nimetatud sööt*

Kaanega anum (3.3) kaalutakse 0,5 mg täpsusega. Teadaoleva massiga anumasse pannakse 1 mg täpsusega kaalutud umbes 5 g proovi kaalutis ja laotatakse see ühtlaselt laiali. Kaaneta anum pannakse eelnevalt temperatuurini 103 °C kuumutatud kuivatuskappi. Anum asetatakse kuivatuskappi võimalikult kiiresti, et vältida kuivatuskapi jahtumist. Lastakse kuivada neli tundi, mida arvestatakse alates hetkest, mil kuivatuskapi temperatuur on jälle 103 °C. Kaas asetatakse tagasi anumale, anum võetakse kuivatuskapist välja, lastakse 30–45 minutit eksikaatoris (3.6) jahtuda ja kaalutakse 1 mg täpsusega.

Peamiselt õlidest ja rasvadest koosneva sööda puhul kuivatatakse proovi kuivatuskapis temperatuuril 130 °C täiendavalt 30 minutit. Kahe kaalumistulemuse erinevus ei tohi olla suurem kui 0,1 % niiskuse massist.

4.2.2. *Teravili, jahu, tangud ja manna*

Kaanega anum (3.3) kaalutakse 0,5 mg täpsusega. Teadaoleva massiga anumasse pannakse 1 mg täpsusega kaalutud umbes 5 g proovi kaalutis ja laotatakse see ühtlaselt laiali. Kaaneta anum pannakse eelnevalt temperatuurini 130 °C kuumutatud kuivatuskappi. Anum asetatakse kuivatuskappi võimalikult kiiresti, et vältida kuivatuskapi jahtumist. Lastakse kuivada kaks tundi, mida arvestatakse alates hetkest, mil kuivatuskapi temperatuur on jälle 130 °C. Kaas asetatakse tagasi anumale, anum võetakse kuivatuskapist välja, lastakse 30–45 minutit eksikaatoris (3.6) jahtuda ja kaalutakse 1 mg täpsusega.

4.2.3. *Segasööt, mis sisaldab üle 4 % sahharoosi või laktoosi: lihtsööt, nt jaanikaunad, hüdrolüüsitud teraviljasaadused, linnaseseemned, kuivatatud peediliistakud, kalast ja suhkrust valmistatud lahustuvsööt; segasööt, mis sisaldab rohkem kui 25 % mineraalsooli, sh kristallisatsioonivesi.*

Kaanega anum (3.3) kaalutakse 0,5 mg täpsusega. Teadaoleva massiga anumasse pannakse 1 mg täpsusega kaalutud umbes 5 g proovi kaalutis ja laotatakse see ühtlaselt laiali. Kaaneta anum pannakse eelnevalt temperatuurini 80–85 °C kuumutatud vaakumkuivatuskappi (3.5). Anum asetatakse kuivatuskappi võimalikult kiiresti, et vältida kuivatuskapi jahtumist.

Rõhk tõstetakse 100 torrini ja proovil lastakse sellise rõhu all kas kuuma ja kuiva õhu voolus või kuivatusaine juuresolekul (umbes 300 g 20 proovi kohta) umbes neli tundi kuivada. Kui kasutatakse kuivatusainet, ühendatakse vaakumpump lahti pärast ettenähtud rõhu saavutamist. Kuivamisaega arvestatakse alates hetkest, mil kuivatuskapi temperatuur on jälle 80–85 °C. Ettevaatlikult taastatakse kuivatuskapis atmosfäärirõhk. Kuivatuskapp avatakse, kaas asetatakse kohe anumale, anum võetakse kapist välja, lastakse jahtuda eksikaatoris (3.6) 30–45 minutit ja kaalutakse 1 mg täpsusega. Kuivatatakse veel 30 minutit vaakumkuivatuskapis temperatuuril 80–85 °C ning kaalutakse uuesti. Kahe kaalumistulemuse erinevus ei tohi olla suurem kui 0,1 % niiskuse massist.

4.3. *Eelkuivatamine*

4.3.1. *Muu sööt kui punktis 4.3.2 nimetatud sööt*

Tahket sööta, mille kõrge niiskusesisaldus raskendab purustamist, tuleb järgmisel viisil eelnevalt kuivatada:

10 mg täpsusega kaalutud 50 g purustamata proovi kaalutis (pressitud või aglomeeritud sööta võib vajaduse korral tükkideks teha) pannakse sobivasse anumasse (nt 20 cm × 12 cm alumiiniumplaat, mille serv on 0,5 cm). Lastakse kuivatuskapis temperatuuril 60–70 °C kuivada, kuni niiskusesisaldus on 8–12 %. Anum võetakse kuivatuskapist välja, lastakse laboratooriumis üks tund ilma kaaneta jahtuda ja kaalutakse 10 mg täpsusega. Purustatakse viivitamata punkti 4.1.1 kohaselt ja kuivatatakse punkti 4.2.1 või 4.2.3 kohaselt vastavalt sööda iseloomule.

4.3.2. *Teravili*

Terasid, mille niiskusesisaldus on üle 17 %, tuleb järgmisel viisil eelnevalt kuivatada:

10 mg täpsusega kaalutud 50 g jahvatamata teri pannakse sobivasse anumasse (nt 20 cm × 12 cm alumiiniumplaat, mille serv on 0,5 cm). Lastakse 5–7 minutit kuivatuskapis temperatuuril 130 °C kuivada. Võetakse kuivatuskapist välja, lastakse laboratooriumis kaks tundi ilma kaaneta jahtuda ja kaalutakse 10 mg täpsusega. Jahvatatakse viivitamata punkti 4.1.2 kohaselt ja kuivatatakse punkti 4.2.2 kohaselt.

5. **Tulemuste arvutamine**

Niiskusesisaldus arvutatakse protsendimäärana proovist järgmiste valemite abil:

5.1. *Kuivatamine ilma eelkuivatamiseta*

$$(E - m) \times \frac{100}{E}$$

milles:

E = uuritava proovi esialgne mass grammides,

m = uuritava proovi mass grammides pärast kuivatamist.

5.2. *Kuivatamine koos eelkuivatamisega*

$$\left[\frac{(M' - m)M}{M'} + E - M\right] \times \frac{100}{E} = 100\left(1 - \frac{Mm}{EM'}\right)$$

milles:

E = uuritava proovi esialgne mass grammides,

M = uuritava proovi mass grammides pärast eelkuivatamist,

M′ = uuritava proovi mass grammides pärast purustamist või jahvatamist,

m = uuritava proovi mass grammides pärast kuivatamist.

5.3. *Korratavus*

Sama prooviga tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste erinevus ei tohi olla suurem kui 0,2 % niiskuse massist.

6. **Tähelepanek**

Kui purustamine osutub vajalikuks ja kui sellega muutub toote niiskusesisaldus, tuleb sööda koostisosade analüüside tulemusi parandada esialgsel kujul proovi niiskusesisalduse põhjal.

II. **LENDUVATE LÄMMASTIKALUSTE MÄÄRAMINE**

A. MIKRODIFUSIOON

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Käesoleva meetodiga on võimalik määrata ammoniaagina väljendatud lenduvate lämmastikaluste sisaldust söödas.

2. **Põhimõte**

Proov ekstraheeritakse veega ning lahus selitatakse ja filtreeritakse. Lenduvad lämmastikalused vabastatakse kaaliumkarbonaadi lahust kasutades mikrodifusiooni abil, kogutakse boorhappe lahusesse ja tiitritakse väävelhappega.

3. **Reaktiivid**

3.1. 20 % (w/v) trikloroäädikhappe lahus.

3.2. Indikaator: 33 mg bromokresoolrohelist ja 65 mg metüülpunast lahustatakse 100 ml 95–96 % (v/v) etanoolis.

3.3. Boorhappe lahus: liitrises mõõtekolvis lahustatakse 200 ml 95–96 % (v/v) etanoolis ja 700 ml vees 10 g boorhapet AR. Lisatakse 10 ml indikaatorit (3.2). Segatakse ja vajaduse korral muudetakse lahuse värv helepunaseks, lisades naatriumhüdroksiidi lahust. 1 ml lahust seob kuni 300 µg NH_3.

3.4. Kaaliumkarbonaadi küllastunud lahus: 100 ml keevas vees lahustatakse 100 g kaaliumkarbonaati AR. Lastakse jahtuda, filtreeritakse.

3.5. 0,02 N väävelhape.

4. **Seadmed**

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

4.2. Klaasist või plastist Conway anumad (vt joonis).

4.3. 1/100 ml gradeeritud mikrobürett.

5. **Töö käik**

10 g proovi kaalutakse 1 mg täpsusega ja pannakse koos 100 ml veega 200 ml mõõtekolbi. Segatakse trumlis 30 minutit. Lisatakse 50 ml trikloroäädikhappe lahust (3.1), täiendatakse kuni märgini veega, loksutatakse tugevalt ja filtreeritakse läbi kurdfiltri.

Pipetti kasutades viiakse 1 ml boorhappe lahust (3.3) Conway anuma keskmisse ossa ja 1 ml filtraati anuma välimisse ossa. Kaetakse osaliselt rasvatatud kaanega. Välimisse osasse tilgutatakse kiiresti 1 ml kaaliumkarbonaadi küllastunud lahust (3.4) ja kaas suletakse õhukindlalt. Anumat pööratakse hoolikalt horisontaaltasandis nii, et kaks reaktiivi segunevad. Lastakse haududa kas neli tundi toatemperatuuril või üks tund temperatuuril 40 °C.

Mikrobüretti (4.3) kasutades tiitritakse lenduvad lämmastikalused boorhappe lahuses väävelhappe 0,02 N (3.5) abil.

Sama menetluse abil tehakse pimekatse, kuid ilma analüüsitava proovita.

6. **Tulemuste arvutamine**

1 ml H_2SO_4 0,02 N vastab 0,34 mg ammoniaagile.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

Korratavus

Sama prooviga tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste erinevus ei tohi olla suurem kui:

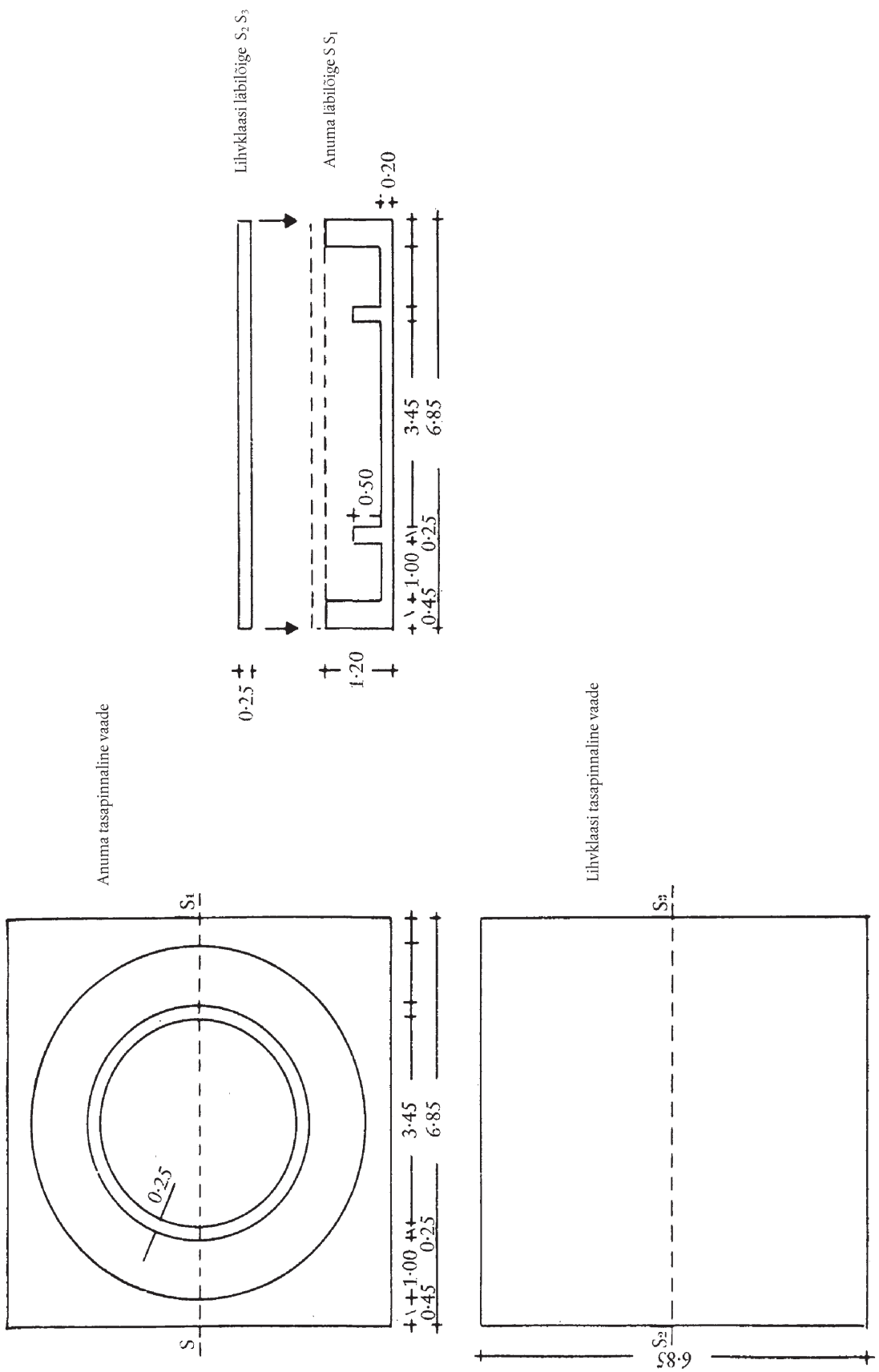
suhtelise väärtusena väljendatult 10 % ammoniaagisisalduse puhul, mis on madalam kui 1,0 %;

absoluutväärtusena väljendatult 0,1 % ammoniaagisisalduse puhul, mis on vähemalt 1,0 %.

7. **Tähelepanek**

Kui proovi ammoniaagisisaldus on suurem kui 0,6 %, lahjendatakse esialgset lahust.

CONWAY ANUM
Mõõtkava 1 : 1



B. DESTILLEERIMINE

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Käesoleva meetodiga on võimalik määrata ammoniaagina väljendatud lenduvate lämmastikaluste sisaldust peaaegu karbamiidivabas kalajahus. Käesolevat meetodit kohaldatakse üksnes juhul, kui ammoniaagisisaldus on madalam kui 0,25 %.

2. **Põhimõte**

Proov ekstraheeritakse veega ning lahus selitatakse ja filtreeritakse. Lenduvad lämmastikalused vabastatakse keemistemperatuuril magneesiumoksiidi lisamise teel ja kogutakse teatava koguse väävelhappega, mille ülejääk tiitritakse naatriumhüdroksiidi lahuse abil tagasi.

3. **Reaktiivid**

3.1. 20 % (w/v) trikloroäädikhappe lahus.

3.2. Magneesiumoksiid AR.

3.3. Vahutamisvastane emulsioon (nt silikoon).

3.4. 0,1 N väävelhape.

3.5. 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahus.

3.6. 0,3 % (w/v) metüülpunase lahus 95–96 % (v/v) etanoolis.

4. **Seadmed**

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

4.2. Kjeldahli destilleerimisaparaat.

5. **Töö käik**

10 g proovi kaalutakse 1 mg täpsusega ja pannakse koos 100 ml veega 200 ml mõõtekolbi. Segatakse trumlis 30 minutit. Lisatakse 50 ml trikloroäädikhappe lahust (3.1), täiendatakse kuni märgini veega, loksutatakse tugevalt ja filtreeritakse läbi kurdfiltri.

Vastavalt lenduvate lämmastikaluste eeldatavale sisaldusele võetakse vajalik kogus selget filtraati (tavaliselt 100 ml). Lahjendatakse 200 milliliitrini ning lisatakse 2 g magneesiumoksiidi (3.2) ja paar tilka vahutamisvastast emulsiooni (3.3). Lahus peaks olema lakmuspaberi abil määratuna aluseline, vastasel korral lisatakse veidi magneesiumoksiidi (3.2). Umbes 150 ml lahust destilleeritakse Kjeldahli aparaadis ja destillaat kogutakse Erlenmeyeri kolbi, mis sisaldab täpselt mõõdetud koguse (25–50 ml) 0,1 N väävelhapet (3.4). Destilleerimisel välditakse anuma külgede ülekuumenemist. Väävelhappe lahust keedetakse kaks minutit, jahutatakse ja väävelhappe ülejääk tiitritakse 0,1 N naatriumhüdroksiidi lahusega (3.5) metüülpunase (3.6) juuresolekul tagasi.

Sama menetluse abil tehakse pimekatse, kuid ilma analüüsitava proovita.

6. **Tulemuste arvutamine**

1 ml H_2SO_4 0,1 N vastab 1,7 mg ammoniaagile.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

Korratavus

Sama prooviga tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste erinevus ei tohi olla suurem kui 10 % ammoniaagi massist.

III. **ÜLDFOSFORI MÄÄRAMINE**

FOTOMEETRILINE MEETOD

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Käesoleva meetodiga on võimalik määrata üldfosfori sisaldust söödas. See sobib eriti hästi madala fosforisisaldusega toodete analüüsimiseks. Teatavatel juhtudel (kõrge fosforisisaldusega toodete puhul) võib kasutada gravimeetrilist meetodi.

2. **Põhimõte**

Proov mineraliseeritakse kas kuivtuhastamise (orgaanilise sööda puhul) või märgtuhastamise (mineraalsööda ja vedelsööda puhul) teel ja pannakse happelahusesse. Lahust töödeldakse molübdovandaatreaktiiviga. Sel viisil saadud kollase lahuse optilist tihedust mõõdetakse spektrofotomeetriga lainepikkusel 430 nm.

3. **Reaktiivid**

3.1. Kaltsiumkarbonaat AR.

3.2. Soolhape AR, tihedus: 1,1 (umbes 6 N).

3.3. Lämmastikhape AR, tihedus: 1,045.

3.4. Lämmastikhape AR, tihedus: 1,38–1,42.

3.5. Väävelhape AR, tihedus: 1,84.

3.6. Molübdovandaatreaktiiv: liitrises mõõtekolvis segatakse 200 ml ammooniumheptamolübdaadi lahust (3.6.1), 200 ml ammooniummonovandaadi lahust (3.6.2) ja 134 ml lämmastikhapet (3.4). Kolb täiendatakse kuni märgini veega.

3.6.1. Ammooniumheptamolübdaadi lahus: 100 g ammooniumheptamolübdaati AR $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.^4H_2O$ lahustatakse soojas vees. Lisatakse 10 ml ammoniaaki (tihedus: 0,91) ja täiendatakse veega kuni 1 liitrini.

3.6.2. Ammooniummonovandaadi lahus: 2,35 g ammooniummonovandaati AR NH_4VO_3 lahustatakse 400 ml soojas vees. Pidevalt segades lisatakse aeglaselt 20 ml lahjendatud lämmastikhapet (7 ml HNO_3 (3.4) + 13 ml H_2O) ja täiendatakse veega kuni 1 liitrini.

3.7. Fosfori standardlahus, 1 mg/ml: 4,387 g kaaliumdivesinikfosfaati AR KG_2PO_4 lahustatakse vees. Täiendatakse veega 1 liitrini.

4. **Seadmed**

4.1. Kvarts- või portselantiiglid tuhastamiseks.

4.2. Temperatuurile 550 °C seatud termostaadiga elektriline muhvelahi.

4.3. 250 ml Kjeldahli kolb.

4.4. Mõõtelkolvid ja gradueeritud pipetid.

4.5. Spektrofotomeeter.

4.6. 16 mm diameetriga katseklaasid, millel on 14,5 mm diameetriga korgid ja mille mahutavus on 25–30 ml.

5. **Töö käik**

5.1. *Lahuse valmistamine*

Sõltuvalt proovi laadist valmistatakse lahus punkti 5.1.1 või 5.1.2 kohaselt.

5.1.1. *Tavaline menetlus*

Vähemalt 1 g proovi kaalutakse 1 mg täpsusega. Uuritav proov pannakse Kjeldahli kolbi, lisatakse 20 ml väävelhapet (3.5), raputatakse, et aine seguneks täielikult happega ja et see ei sadestuks kolvi seinte külge, kuumutatakse ja hoitakse 10 minutit keemistemperatuuril. Lastakse veidi jahtuda, lisatakse 2 ml lämmastikhapet (3.4), kuumutatakse õrnalt, lastakse veidi jahtuda, lisatakse veel veidi lämmastikhapet (3.4) ja viiakse tagasi keemistemperatuurile. Menetlust korratakse värvusetu lahuse saamiseni. Jahutatakse, lisatakse veidi vett, vedelik dekanteeritakse 500 ml mõõtekolbi, loputades Kjeldahli kolbi sooja veega. Lastakse jahtuda, täiendatakse kuni märgini veega, homogeenitakse ja filtreeritakse.

5.1.2. *Proovid, mis sisaldavad orgaanilisi aineid ja milles ei leidu kaltsium- ja magneesiumdivesinikfosfaate*

Tuhastustiiglisse pannakse 1 mg täpsusega kaalutud umbes 2,5 g proovi kaalutis. Uuritavat proovi segatakse, kuni see on täielikult segunenud 1 g kaltsiumkarbonaadiga (3.1). Tuhastatakse temperatuurile 550 °C ± 5 °C seatud kuivatuskapis kuni valge või halli tuha saamiseni (võib sisaldada veidi puusütt). Tuhk pannakse 250 ml keeduklaasi. Lisatakse 20 ml vett ja soolhapet (3.2) kuni kihisemise lakkamiseni. Lisatakse veel 10 ml soolhapet (3.2). Keeduklaas pannakse liivavannile ja aurustatakse kuiva ränidioksiidi sadestumiseni. Jääk lahustatakse uuesti 10 ml lämmastikhappes (3.3) ja keedetakse liivavannil 5 minutit, ilma et see kuivaks aurustuks. Vedelik dekanteeritakse 500 ml mõõtekolbi, loputades keeduklaasi mitu korda sooja veega. Lastakse jahtuda, täiendatakse kuni märgini veega, homogeenitakse ja filtreeritakse.

5.2. *Värvuse arendamine ja optilise tiheduse mõõtmine*

Punkti 5.1.1 või 5.1.2 kohaselt saadud filtraadi alikvoot lahjendatakse nii, et fosfori kontsentratsioon on kuni 40 µg/ml. 10 ml sellest lahusest pannakse katseklaasi (4.6) ja lisatakse 10 ml molübdovandaatreaktiivi (3.6). Homogeenitakse ja lastakse seista temperatuuril 20 °C vähemalt 10 minutit. Saadud lahuse optilist tihedust mõõdetakse spektrofotomeetriga lainepikkusel 430 nm, lisades 10 ml molübdovandaatreaktiivi (3.6) 10 ml veele.

5.3. *Kalibreerimiskõver*

Standardlahusest (3.7) valmistatakse lahused, mis sisaldavad ml kohta 5, 10, 20, 30 ja 40 µg fosforit. Igast lahusest võetakse 10 ml ja lisatakse sellele 10 ml molübdovandaatreaktiivi (3.6). Homogeenitakse ja lastakse seista temperatuuril 20 °C vähemalt 10 minutit. Optiline tihedus mõõdetakse punkti 5.2 kohaselt.

Kalibreerimiskõver joonestatakse optiliste tiheduste ja vastavate fosforikoguste põhjal. Kontsentratsioonide puhul, mis jäävad vahemikku 0–40 µg/ml, on kõver lineaarne.

6. **Tulemuste arvutamine**

Uuritavas proovis sisalduv fosforikogus määratakse kalibreerimiskõvera abil.

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

Korratavus

Sama prooviga tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste erinevus ei tohi olla suurem kui:

suhtelise väärtusena väljendatult 3 % fosforisisalduse puhul, mis on madalam kui 5 %;

absoluutväärtusena väljendatult 0,15 % fosforisisalduse puhul, mis on vähemalt 5 %.

IV. **TOORÕLIDE JA -RASVADE MÄÄRAMINE**

1. **Eesmärk ja rakendusala**

Käesoleva meetodiga on võimalik määrata toorõlide ja -rasvade sisaldust söödas. See ei hõlma nõukogu 22. septembri 1966. aasta määruses 136/66/EMÜ määratletud õliseemnete ja õliviljade analüüsi. Kõnealuste toodete õlisisalduse määramine on kirjeldatud komisjoni 23. septembri 1968. aasta määruse (EMÜ) nr 1470/68 V lisas.

Olenevalt sööda laadist võib kasutada üht kahest järgnevast meetodist.

1.1. *Meetod A* (ekstraheerimine eetri abil): kohaldatakse kõikide muude söötade kui punktis 1.2 nimetatud söötade suhtes.

1.2. *Meetod B*: kohaldatakse sööda suhtes, millest ei ole ilma eelneva hüdrolüüsimiseta võimalik õlisid ja rasvu dietüüleetri abil täielikult ekstraheerida, loomse päritoluga sööda suhtes, gluteeni, kuivatatud kartulipulbi, kuivatatud kääritamis- ja destilleerimisjääkide, kuivatatud pärmi, küpsiste, leiva ja keedetud toiduainete jääkide, piimatoodete ja sööda suhtes, mis sisaldavad nimetatud aineid suures koguses (vähemalt 40 %), ja segasööda suhtes, millele on lisatud rasvu.

2. **Põhimõte**

2.1. *Meetod A*: õlid ja rasvad ekstraheeritakse dietüüleetri abil. Lahusti destilleeritakse välja ning jääk kuivatatakse ja kaalutakse.

2.2. *Meetod B*: proov hüdrolüüsitakse kuumalt soolhappe abil. Lahus jahutatakse ja filtreeritakse. Jääk pestakse, kuivatatakse ja ekstraheeritakse dietüüleetri abil vastavalt meetodile A.

3. **Reaktiivid**

3.1. Veevaba dietüüleeter, tihedus: 0,720, keemispunkt: 34,5 °C, peaaegu peroksiidivaba.

3.2. Veevaba naatriumsulfaat AR.

3.3. 3N soolhape.

3.4. Filteraine, nt Kieselgur, Hyflo-supercel.

3.5. Tetrakloorsüsinik AR.

4. **Seadmed**

4.1. Soxhleti ekstraheerimisaparaat või sarnane aparaat.

4.2. Reguleeritava temperatuuriga plahvatuskindel kütteseade.

4.3. Vaakumkuivatuskapp (alla 100 torri).

5. **Töö käik**

5.1. *Meetod A (vt 7.1)*

5 g proovi kaalutakse 1 mg täpsusega ja segatakse 2–3 g (vajaduse korral suurema koguse) veevaba naatriumsulfaadiga (3.2). Segu pannakse õli- ja rasvavabasse ekstraktsioonihülssi ja kaetakse rasvavaba vatiga. (Segada võib hülsis.)

Hülss asetatakse ekstraktorisse (4.1) ja ekstraheeritakse dietüüleetriga (3.1) kuus tundi. Soxhleti ekstraheerimisaparaadi kasutamisel reguleeritakse temperatuuri nii, et ühes tunnis oleks vähemalt 15 tsüklit. Eetriekstrakt kogutakse kuiva kaalutud kolbi, milles on pimsskivi tükid. ([1])

Eeter destilleeritakse välja ja aurustusjääki kuivatatakse vaakumkuivatuskapis (4.3) temperatuuril 75 °C poolteist tundi. Jahutatakse eksikaatoris ja kaalutakse. Kuivatatakse veel 30 minutit, veendumaks et õli ja rasva mass jääb samaks (massikadu peab olema väiksem kui 1 mg).

5.2. *Meetod B*

2,5 g proovi kaalutakse 1 mg täpsusega (vt 7.2) ja pannakse 400 ml keeduklaasi või 300 ml Erlenmeyeri kolbi. Lisatakse 100 ml 3N soolhapet (3.3) ja pimsskivi tükke. Keeduklaas kaetakse kellaklaasiga (Erlenmeyeri kolbi külge pannakse püstjahuti). Segu kuumutatakse madala leegi või kuumutusplaadi kohal keemiseni ja keedetakse vaikselt tund aega. Tuleb vältida toote sadestumist anuma seinte külge.

([1]) Kui hiljem tuleb kontrollida õli või rasva kvaliteeti, asendatakse pimsskivi tükid klaashelmestega.

Jahutatakse ja lisatakse selline kogus filterainet (3.4), mis on piisav, et vältida filtreerimisel õli- ja rasvakadu. Filtreeritakse läbi niisutatud rasvavaba kahekordse filterpaberi. Jääki pestakse külmas vees kuni happe reaktsiooni lakkamiseni. Kontrollitakse, et filtraat ei sisaldaks õli ega rasva. Nende olemasolu filtris näitab, et proovi tuleb enne hüdrolüüsimist punktis 5.1 esitatud meetodi abil dietüüleetriga ekstraheerida.

Kahekordne filterpaber koos jäägiga asetatakse kellaklaasile ja kuivatatakse kuivatuskapis temperatuuril 95–98 °C poolteist tundi.

Kahekordne filterpaber koos jäägiga asetatakse ekstraktsioonihülssi, ekstraheeritakse dietüüleetri abil ja jätkatakse vastavalt punkti 5.1 teisele lõigule.

6. **Tulemuste arvutamine**

Tulemus väljendatakse protsendimäärana proovist.

Korratavus

Sama prooviga tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste erinevus ei tohi olla suurem kui 0,3 % õli või rasva massist.

7. **Tähelepanekud**

7.1. Kõrge õli- ja rasvasisaldusega toodete puhul, mida on keeruline peenestada või millest ei saa võtta homogeenset vähendatud proovi, toimitakse järgmiselt: 20 g proovi kaalutakse 1 mg täpsusega ja segatakse vähemalt 10 g veevaba naatriumsulfaadiga (3.2). Ekstraheeritakse punkti 5.1 kohaselt dietüüleetri (3.1) abil. Saadud ekstrakti täiendatakse tetrakloorsüsinikuga (3.5) 500 ml-ni ja homogeenitakse. 50 ml lahust pannakse väiksesse kuiva mõõdetud kolbi, milles on pimsskivi tükid. [1] Lahusti destilleeritakse välja, segu kuivatatakse ja jätkatakse vastavalt punkti 5.1 viimasele lõigule. Lahusti eemaldatakse hülssi jäänud ekstraheerimisjäägist ja jääk peenestatakse 1 mm suurusteks osakesteks. Toode pannakse tagasi ekstraheerimishülssi (ilma naatriumsulfaati lisamata), ekstraheeritakse dietüüleetri abil ning jätkatakse vastavalt punkti 5.1 teisele ja kolmandale lõigule.

Tulemus arvutatakse protsendimäärana proovist, võttes järgmise valemi abil arvesse esimesel ekstraheerimisel kasutatud alikvooti:

$$(10\,a + b) \times 5$$

milles:

a = alikvoodi eetriekstrakt grammides pärast esimest ekstraheerimist;

b = eetriekstrakt grammides pärast teist ekstraheerimist.

7.2. Madala õli- ja rasvasisaldusega toodete puhul võib uuritava proovi massi suurendada 5 grammini.

[1] Kui hiljem tuleb kontrollida õli või rasva kvaliteeti, asendatakse pimsskivi tükid klaashelmestega.