

31971L0250

L 155/13

ОФИЦИАЛЕН ВЕСТНИК НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ

12.7.1971

ПЪРВА ДИРЕКТИВА НА КОМИСИЯТА
от 15 юни 1971 година
относно установяване на общностни методи за анализ за целите на официалния контрол на храните за животни

(71/250/ЕИО)

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване Европейската икономическа общност,

като взе предвид Директивата на Съвета от 20 юли 1970 г. относно въвеждането на общностни методи за вземане на проби и анализ за целите на официалния контрол на храните за животни ⁽¹⁾, и по-специално член 2 от нея,

като има предвид, че въпросната директива изисква официалният контрол на храните за животни да се осъществява чрез използване на общностни методи за вземане на проби и анализ с цел проверка на съответствието с изискванията на законовите, подзаконовите и административните разпоредби относно качеството и състава на храните за животни;

като има предвид, че необходимите методи за анализ трябва да бъдат въведени колкото е възможно по-скоро; като има предвид, че въвеждането на методи за определяне на циановодородна киселина, калций, карбонати, сурова пепел, пепел, неразтворима в солна киселина, хлор от хлориди, синапено масло, лактоза, калий, натрий, захари, теобромин и карбамид и за определяне на алкалоиди в лупини и изчисляването на уреазната активност на продукти, производни на соята, са първият етап в този процес,

като има предвид, че мерките, предвидени в настоящата директива, съответстват на становището на Постоянния комитет по храните за животни,

ПРИЕ НАСТОЯЩАТА ДИРЕКТИВА:

Член 1

Държавите-членки изискват анализът за целите на официалния контрол на храните за животни относно съдържанието на циановодородна киселина, калций, карбонати, сурова пепел, пепел, неразтворима в солна киселина, хлор от хлориди, синапено масло, лактоза, калий, натрий, захари, теобромин и карбамид и определянето на алкалоиди в лупини и изчисляването на уреазната активност на продукти, производни на соята, да се извършва по методите, посочени в приложението към настоящата директива.

Член 2

Държавите-членки въвеждат в сила законовите, подзаконовите и административните разпоредби, необходими, за да се съобразят с настоящата директива, най-късно до 1 юли 1972 г. Те незабавно информират Комисията за това.

Член 3

Адресати на настоящата директива са държавите-членки.

Съставено в Брюксел на 15 юни 1971 година.

За Комисията
Председател
Franco M. Malfatti

⁽¹⁾ ОВ L 170, 3.8.1970 г., стр. 2.

ПРИЛОЖЕНИЕ

МЕТОДИ ЗА АНАЛИЗ НА СЪСТАВКИТЕ НА ХРАНИТЕ ЗА ЖИВОТНИ

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Методите за анализ на съставките на храните за животни са общоприложими за всички храни за животни без примеси и комбинирани храни за животни. Някои храни за животни обаче, поради особеностите на състава им, изискват индивидуални методи за анализ. Тези случаи са предвидени в описанието на методите в частта, озаглавена „Забележки“.

Когато за определянето на една съставка в храната за животни могат да се използват два или повече метода, изборът на метод се извършва от съответната лаборатория, освен когато е посочено друго; използваният метод обаче трябва да бъде означен в сертификата от анализа.

Подготовка на пробата за анализ

От съществено значение е химическият анализ да се извършва върху хомогенна проба. Все пак е възможно определянето на някои макроскопски или микроскопски характеристики, както и определянето на съдържанието на влага в пробата, да се извършват върху пробата в състоянието, в което тя е получена в лабораторията. За да се удовлетворят тези две изисквания, пробата се разделя на две части — едната се оставя в същото състояние, а другата се подготвя за химически анализ, както следва.

Пробата се разделя с механичен апарат или ръчно, след като внимателно се размесва върху чиста суха повърхност. В последния случай се препоръчва да се приложи методът на разделяне на квадратчета, който се състои във взимане на проби поред от двете срещуположни страни по диагонал. Накрая се изважда част с тегло около 100 g и, ако се налага, се разтрошава така, че цялата проба да преминава през сито меш 1 mm. Тази проба се прехвърля веднага в сух съд с херметична запушалка и се затваря плътно.

Ако пробата е много влажна, тя трябва предварително да се изсуши, така че съдържанието на влага да спадне до ниво от 8 до 12 %. За целта пробата се изсушава при подходяща температура за достатъчно дълго време.

Реактиви и апаратура

В описанието на метода за анализ се посочват изрично само специални уреди или апарати или такива, които трябва да отговарят на специални стандарти. Не се счита за необходимо изброяването на всички уреди или апарати, които представляват част от обичайното оборудване на лабораториите за анализ.

Освен това, когато става дума за вода за разреждане или промиване, винаги се разбира дестилирана вода. Също така, когато се споменава разтвор на реактив без други индикации, това означава разтвор в дестилирана вода.

Формулиране на резултатите

Резултатите, представени в сертификата от анализа, представят средната стойност, получена на база от най-малко две проби. При липса на специални разпоредби стойността се изразява като процент от първоначалната проба, такава каквато е получена в лабораторията. Резултатът не трябва да се дава с по-голяма точност, отколкото методът на анализ позволява.

2. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЦИАНОВОДОРОДНАТА КИСЕЛИНА

1. Цел и обхват

Този метод дава възможност да се определи съдържанието на циановодородна киселина, свободна и свързана под формата на гликозиди, в храните за животни, и по-специално — в продукти, производни на леноно семе, брашно от маниока и някои видове бобови култури.

2. Принцип

Пробата се суспендира във вода. Циановодородната киселина се освобождава под действието на ензими, увелича се чрез парна дестилация и се събира в определен обем подкислен разтвор на сребърен нитрат. Сребърният цианид се отделя чрез филтриране и излишният сребърен нитрат се титрува с разтвор на амониев тиоцианат.

3. Реактиви

- 3.1. Суспензия от сладки бадеми: счукват се двадесет сладки бланширани бадема в 100 ml вода с температура 37 до 40 °C. Проверява се, че в 10 ml от суспензията няма циановодородна киселина, като се използва хартия от натриев пикрот или се извършва празна проба като описаната в последния параграф на точка 5.
- 3.2. 10 % разтвор (т/о) на натриев ацетат, неутрален към фенолфталеин.
- 3.3. Антипенителна емулсия (например силикон).
- 3.4. Азотна киселина, d: 1,40
- 3.5. Разтвор на сребърен нитрат: 0,02 N
- 3.6. Разтвор на амониев тиоцианат: 0,02 N
- 3.7. Наситен разтвор на амониев ферисулфат.
- 3.8. Амониев хидроокис, D: 0,985.

4. Апаратура

- 4.1. Пещ с термостат, настроен на 38 °C.
- 4.2. Апарат за дестилация чрез улавяне в пара, снабден с хладник с извит удължител.
- 4.3. 1000-милилитрови колби с плоско дъно с шлифована стъклена запушалка.
- 4.4. Маслена баня.
- 4.5. Бюрета, градуирана на 1/20 ml.

5. Процедура

Претеглят се 20 g от пробата с точност до 5 mg, поставят се в еднолитрова плоскодънна колба и се добавят 50 ml вода и 10 ml суспензия от сладки бадеми (3.1). Запушва се колбата и се поставя в пещ при 38 °C за шестнадесет часа. След това се охлажда до стайна температура и се добавят 80 ml вода, 10 ml разтвор на натриев ацетат (3.2) и една капка антипенителна емулсия (3.3).

Колбата се свързва към апарат за парна дестилация и се поставя в маслена баня, предварително загрята до температура малко над 100 °C. Дестилира се 200—300 ml течност, като се пуска мощен поток пара през колбата и се загрива внимателно маслената баня. Дестилатът се събира в ерленмайерова колба, защитена от светлината и съдържаща точно 50 ml 0,02N разтвор на сребърен нитрат (3.5) и 1 ml азотна киселина (3.4). Трябва да се внимава краят на удължителя на хладника да е потопен в разтвора сребърен нитрат.

Съдържанието на ерленмайеровата колба се прехвърля в 500-милилитрова мерителна колба, допълва се с вода, разбърква се и се филтрира. Взима се 250 ml от филтратата, добавят се около 1 ml разтвор на амониев ферисулфат (3.7) и се титрува обратно излишният сребърен нитрат с 0,02N (3.6) разтвор на амониев тиоцианат от градуираната на 1/20 ml бюрета.

Ако е необходимо, може да се направи празна проба чрез същата процедура, приложена към 10 ml суспензия на сладки бадеми (3.1), като пробата не се анализира.

6. Изчисляване на резултатите

Ако празната проба покаже, че е бил изразходван 0,02 N разтвор на сребърен нитрат, се изважда стойността на този обем от обема, изразходван от дестилата на пробата. 1 ml 0,02 N разтвор на сребърен нитрат отговаря на 0,54 mg HCN. Резултатът се изразява като процент от пробата.

7. Забележки

Ако пробата съдържа голямо количество сулфиди (например бобови култури), се образува черна утайка от сребърен сулфид, който се филтрира заедно с утайката от сребърен цианид. Образоването на тази утайка води до загуба на 0,02 N разтвор на сребърен нитрат, чийто обем трябва да се извади от обема, използван за изчисляване на съдържанието на HCN. За тази цел се извършва следното.

Утайката се обработва върху филтъра с 50 ml амоняк (3.8), за да се разтвори сребърния цианид. Остатъкът се промива с разреден амоняк и след това се определя сребърното му съдържание. Получената стойност се преобразува в ml 0,02N разтвор на сребърен нитрат.

Съдържанието на HCN в пробата може да се определи и чрез титруване на подкисления амонячен филтрат с азотна киселина.

3. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КАЛЦИЯ**1. Цел и обхват**

Методът дава възможност да се определи общото съдържание на калций във храните за животни.

2. Принцип

Калцият се опепелява, пепелта се обработва със солна киселина и калцият се утаява във формата на калциев оксалат. Утайката се разтваря в сярна киселина и се титрува оксаловата киселина, която се получава с разтвор на калиев перманганат.

3. Реактиви

- 3.1. Солна киселина ч.з.а., d: 1,14.
- 3.2. Азотна киселина ч.з.а., d: 1,40.
- 3.3. Сярна киселина ч.з.а., d:1,13.
- 3.4. Амониев хидроокис ч.з.а., d: 0,98.
- 3.5. Студен наситен разтвор на амониев оксалат ч.з.а.
- 3.6. 30 % разтвор (т/о) лимонена киселина р.а.
- 3.7. 5 % разтвор (т/о) амониев хлорид ч.з.а.
- 3.8. 0,04 % разтвор (т/о) бром-кресолово зелено.
- 3.9. 0,1 N разтвор на калиев перманганат.

4. Апаратура

- 4.1. Електрическа муфелна пещ с въздушна циркулация и термостат.
- 4.2. Платинови, кварцови или порцеланови тигли за опепеляване
- 4.3. Стъклени филтърни тигли с пористост G₄.

5. Процедура

Претеглят се около 5 g от пробата (или повече, ако е необходимо) с точност до ml, калцинира се при 550 °C и се прехвърля пепелта в 250-милилитрова бехерова чаша.

Добавят се 40 ml солна киселина (3.1), 60 ml вода и няколко капки азотна киселина (3.2). Довежда се до кипене и се задържа при температурата на кипене в продължение на тридесет минути. Охлажда и се прехвърля разтвора в 250-милилитрова мерителна колба. Промива се, допълва се с вода до марката, хомогенизира се и се филтрира.

С помощта на пипета в 250-милилитровата бехерова чаша се прехвърля аликвотна част, съдържаща 10—40 mg калций според предполагаемото калиево съдържание. Добавя се 1 ml разтвор на лимонена киселина (3.6) и 5 ml разтвор на амониев хлорид (3.7).

5. Допълва се с вода приблизително до 100 ml. Довежда се до кипене, добавят се 8—10 капки разтвор на бром-крезолово зелено (3.8) и 30 ml горещ разтвор на амониев оксалат (3.5). Ако се получи утайка, разтвора се, като се добавят няколко капки солна киселина (3.1).

Неутрализира се много бавно с амоняк (3.4), като се бърка непрекъснато, докато стойността на рН достигне 4.4 до 4.6 (т.е. когато индикаторът промени цвета си). Постава се бехеровата чаша в кипяща водна баня и се изчаква тридесет минути, така че образуваната утайка да падне на дъното. Извежда се бехеровата чаша от водната баня. Остава се да престои един час и се филтрира през филтърен тигел G₄.

Промива се бехеровата чаша и тигела с вода до пълно отстраняване на излишния амониев оксалат (липсата на хлорид в промивните води показва, че промиването е достатъчно).

Разтвора се утайката върху филтъра в 50 ml гореща сярна киселина (3.3). Промива се тигелът с гореща вода и се допълва филтрат до около 100 ml. Нагрява се до 70—80 °C и се титруват на капки с разтвор на калиев перманганат (3.9), докато се появи розово оцветяване, което се задържа една минута.

6. Изчисляване на резултатите

1 ml калиев перманганат 0,1 N отговаря на 2,004 mg калций. Полученият резултат се изразява като процент от пробата.

7. Забележки

7.1. При много ниско съдържание на калций да се процедира, както следва: утайката калиев оксалат се филтрира през филтърна хартия без пепели. След промиване се изсушава филтърът и се калцинира при 550 °C в платинов тигел. Разтвора се отново остатъкът в няколко капки сярна киселина (3.3), изпарява се до сухо, калцинира се отново при 550 °C и се претегля. Ако W е теглото на получения калциев сулфат, калциевото съдържание на аликвотната част, взета като проба = $W \times 0,2944$.

7.2. Ако пробата съдържа само минерални субстанции, се разтвора в солна киселина без първоначално да се калцинира. В случай на продукти като например калциево-алуминиев фосфат, които трудно се разтварят в киселина, преди да се разтвори, се стопява както следва чрез алкален процес: смесва се добре пробата за анализ в платинов тигел със смес с тегло, равно на пет пъти теглото на пробата, която смес се състои от равни количества калиев карбонат и натриев карбонат. Нагрява се внимателно, докато сместа се стопи напълно. Охлажда се и се разтвора в солна киселина.

7.3. Ако магнезиевото съдържание на пробата е високо, калциевият оксалат се утаява втори път.

4. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КАРБОНАТИТЕ

1. Цел и обхват

Методът позволява определянето на количеството карбонати, които обикновено се изразяват като калциев карбонат, в повечето храни за животни.

В някои случаи обаче (например при железен карбонат) трябва да се използва специален метод.

2. Принцип

Карбонатите се разлагат в солна киселина; освободеният въглероден двуокис се събира в градуирана тръба и обемът му се сравнява с този, освободен при същите условия от известно ни количество калциев карбонат ч.з.а.

3. Реактиви

3.1. Солна киселина, d: 1,10.

3.2. Калциев карбонат ч.з.а.

3.3. Сярна киселина, приблизително 0,1 N, оцветена с метилово червено.

4. Апаратура

Апарат на Шайблер—Дитрих (виж схемата) или равностоеен на него.

5. Процедура

В зависимост от съдържанието на карбонати в пробата се претегля част от пробата, както е посочено по-долу:

0,5 g за продукти, съдържащи от 50 до 100 % карбонати, изразени като калциев карбонат;

1 g за продукти, съдържащи от 40 до 50 % карбонати, изразени като калциев карбонат;

2—3 g за други продукти.

Частта от пробата се поставя в специалната колба (4) на апарата, снабдена с малка тръбичка от нечуплив материал, съдържаща 10 ml солна киселина (3.1), и се свързва колбата с апарата. Трипътният кран (5) се завърта така, че тръба (1) да е свързана с външната среда. Като се използва подвижната тръба (2), напълнена с оцветена сярна киселина (3.3) и свързана към градуираната тръба (1), се допълва течността до нивото на нулевата марка. Завърта се кранът (5) така, че да се свързва тръби (1) и (3) и се проверява нивото да е на нула.

Солната киселина (3.1) се прелива бавно върху частта от пробата, като колбата (4) се накланя. Изравнява се налягането, като сваляте напълу тръбата (2). Разклаща се колбата (4), дотогава докато спре напълно отделянето на въглероден двуокис.

Налягането се възстановява, като се изравнява наново течността до едно и също ниво в тръби (1) и (2). След няколко минути, когато обемът газ стане постоянен, се прави отчитането.

Прави се контролна проба при същите условия с 0,5 g калциев карбонат (3.2).

6. Изчисляване на резултатите

Съдържанието в грамове на карбонати, изразено като % калциев карбонат в пробата, се изчислява по формулата:

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

където:

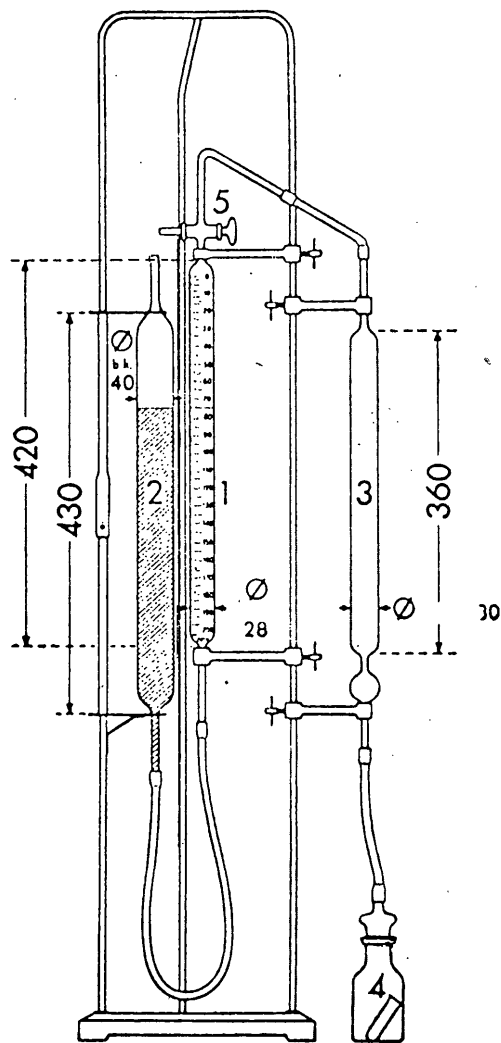
V = обем CO₂, в мл, отделен от частта от пробата.

T = обем CO₂, в мл, отделен от 0,5 g CaCO₃ ч.з.а.

P = тегло на частта от пробата, в грамове.

7. Забележки

- 7.1. Когато частта от пробата тежи повече от 2 g, първо се добавят 15 ml дестилирана вода в колбата (4) и се размесва преди началото на анализа. Използва се същия обем вода за контролната проба.
- 7.2. Ако използваният апарат има обем, различен от този на апарата Шайблер—Дитрих, частта, взета от пробата и от контролната субстанция, както и изчисляването на резултатите трябва да се пригодят съответно.

АПАРАТ НА ШАЙБЛЕР—ДИТРИХ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА CO₂

Скала: 1/8

(размери в mm)

5. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СУРОВАТА ПЕПЕЛ

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на суровата пепел в храните за животни.

2. Принцип

Пробата се опепелява при 550 °C; остатъкът се претегля.

3. Реактиви

20 % разтвор (т/о) на амониев нитрат.

4. Апаратура

4.1. Гореща плоча.

4.2. Електрическа муфелна пещ с термостат.

4.3. Тигли за опепеляване, изработени от платина или сплав на платина и злато (10 % Pt, 90 % Au), правоъгълни (60 × 40 × 25 mm) или кръгли (диаметър 60—75 mm, височина 20—25 mm).

5. Процедура

Претеглят се с точност до mg около 5 g от пробата (2,5 g при продукти, които имат свойството да набъбват) и се поставя в тигел за опепеляване, който е бил предварително накален и тариран. Тигелът се поставя върху горещата плоча и се нагрява постепенно, докато субстанцията карбонизира. Тигелът се поставя в муфелна пещ, настроена на 550 °C ± 5 °C. Запързва се при тази температура, дотогава докато се получи бяла, светлосива или червеникава пепел, която видимо не съдържа карбонатни частици. Поставя се тигелът в ексикатор, оставя се да се охлади и се претегля незабавно.

6. Изчисляване на резултатите

Изчислява се теглото на остатъка, като се изважда тарираното тегло.

Изразява се резултатът като процент от пробата.

7. Забележки

7.1. Пепелта на субстанции, които се опепеляват трудно, трябва да бъде подложена на първоначално опепеляване в продължение на най-малко три часа, да се охлади и след това да се добавят няколко капки 20 % разтвор на амониев нитрат (внимателно, за да се избегне разпрашаването на пепелта или образуването на бучици). Продължава се калцинирането след изсушаване в пещта. Повтаря се операцията колкото пъти се налага, за да стане пълно опепеляване.

7.2. При субстанции, устойчиви към обработката, описана в 7.1, да се процедира, както следва: след опепеляване за три часа, пепелта се поставя в гореща вода и се филтрува през малък, несъдържащ пепели филтър. Филтърът и съдържанието му се опепеляват в първоначалния тигел. Филтратът се поставя в охладен тигел, изпарява се до сухо, опепелява се и се претегля.

7.3. В случай на масла и мазнини се претегля точно една проба от около 25 g в подходящ по размери тигел. Субстанцията се карбонизира, като към нея се поднася пламък с парче несъдържаща пепели филтърна хартия. След овъгляването се навлажнява с колкото е възможно по-малко вода, изсушава се и се опепелява, както е описано в точка 5.

6. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ПЕПЕЛТА, НЕРАЗТВОРИМА В СОЛНА КИСЕЛИНА

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на количеството минерални субстанции, неразтворими в солна киселина, в храните за животни. В зависимост от естеството на пробата могат да се приложат два метода.

- 1.1. *Метод А:* приложим към органични храни за животни без примеси и към повечето съставни храни за животни
- 1.2. *Метод Б:* приложим към минерални вещества и смеси и към съставни храни за животни, чието съдържание субстанции, неразтворими в солна киселина, определено съгласно метод А, е по-голямо от 1 %.

2. Принцип

- 2.1. *Метод А:* пробата се опепелява, пепелта се кипва в солна киселина и неразтворимият остатък се филтрува и претегля.
- 2.2. *Метод Б:* пробата се обработва със солна киселина. Разтворът се филтрува, остатъкът се опепелява и така получената пепел се обработва по метод А.

3. Реактиви

- 3.1. Солна киселина 3N.
- 3.2. 20 % разтвор (т/о) трихлороцетна киселина.
- 3.3. 1 % разтвор(т/о) на трихлороцетна киселина.

4. Апаратура

- 4.1. Гореща плоча.
- 4.2. Електрическа муфелна пещ с термостат.
- 4.3. Тигли за опепеляване, изработени от платина или сплав на платина и злато (10 % Pt, 90 % Au), правоъгълни (60 × 40 × 25 mm) или кръгли (диаметър 60—75 mm, височина 20—25 mm).

5. Процедура

5.1. *Метод А:*

Пробата се опепелява по метода, описан за определянето на сурова пепел. Може да се използва и пепелта, получена от този анализ.

Пепелта се поставя в 250—400-милилитрова бехерова чаша, като се използват 75 ml солна киселина 3N (3.1). Довежда се бавно до кипене и се оставя да кипи умерено в продължение на петнадесет минути. Горещият разтвор се филтрира през филтърна хартия, несъдържаща пепели и се промива остатъкът с гореща вода до липса на видима киселинна реакция. Филтърът се изсушава с остатъка и се опепелява в тариран тигел при температура, не по-ниска от 550 °C и не по-висока от 700 °C. Охлажда се в ексикатор и се претегля.

5.2. *Метод Б:*

5 g от пробата се претеглят с точност до mg и се поставя в 250—400-милилитрова бехерова чаша. Добавят се последователно 25 ml вода и 25 ml солна киселина 3N (3.1), смесват се и се изчаква да спре кипенето. Добавя се още 50 ml солна киселина 3N (3.1). Изчаква се да спре отделянето на газ и след това се поставя бехеровата чаша в кипяща водна баня и се оставя там в продължение на тридесет минути или по-дълго, ако се налага, за да се хидролизира напълно и нишестето, което може да се съдържа.

Филтрира се, докато е горещо, през филтър, несъдържащ пепел, и филтърът се промива с 50 ml гореща вода (виж 7. Забележки). Филтърът се поставя с остатъка в тигел за опепеляване, изсушава се и се опепелява при температура, не по-ниска от 550 °C и не по-висока от 700 °C. Пепелта се поставя в 250—400-милилитрова бехерова чаша, като се използват 75 ml солна киселина 3N (3.1); продължава се, както е описано във втората алинея на точка 5.1.

6. Изчисляване на резултатите

Теглото на остатъка се изчислява, като се изважда тарираното тегло. Резултатът се изразява в проценти от пробата.

7. Забележки

Ако филтрирането се окаже трудно, анализът се повтаря, като се заместват 50-те ml солна киселина 3N (3.1) с 50 ml 20 % трихлороцетна киселина (3.2) и се промива филтърът с горещ 1 % разтвор на трихлороцетна киселина (3.3).

7. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХЛОР ОТ ХЛОРИДИ

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на съдържанието на хлор в разтворими във вода хлориди, обикновено изразявани като натриев хлорид. Той е приложим за всички храни за животни.

2. Принцип

Хлоридите се разтварят във вода. Ако продуктът съдържа органични вещества, той се подлага на избистряне. Разтворът се подкислява леко с азотна киселина и хлоридите се утаяват под формата на сребърен хлорид с помощта на разтвор от сребърен нитрат. Излишният сребърен нитрат се титрува с разтвор на амониев тиоцианат по метода на Фолхард.

3. Реактиви

- 3.1. Разтвор на амониев тиоцианат 0.1 N.
- 3.2. Разтвор на сребърен нитрат 0.1 N.
- 3.3. Наситен разтвор на амониев ферисулфат.
- 3.4. Азотна киселина d: 1.38.
- 3.5. Диетилов етер ч.з.а.
- 3.6. Ацетон ч.з.а.
- 3.7. Разтвор на Карез I: разтваря се във вода 24 g цинков ацетат, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ и 3 g ледена оцетна киселина. Допълва се до 100 ml с вода.
- 3.8. Разтвор на Карез II: разтваря се 10,6 g калиев фероцианид, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Допълва се до 100 ml с вода.
- 3.9. Активен въглен ч.з.а., несъдържащ хлориди и неабсорбиращ хлориди.

4. Апаратура

Смесител (барабанен): приблизително 35—40 об/мин.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на разтвора

Според естеството на пробата се приготвя разтвор, както е посочено в 5.1.1, 5.1.2 или 5.1.3.

Същевременно се прави празна проба без подлежащото на анализ вещество.

5.1.1. Проби, свободни от органични вещества

Претегля се с точност до mg една проба от не повече от 10 g, съдържаща не повече от 3 g хлор под формата на хлориди. Поставят се 400 ml вода в 500-милилитрова мерителна колба при приблизително 20 °C. Размесват се тридесет минути в барабана и се допълва до марката, хомогенизира се и се филтрува.

5.1.2. Проби, съдържащи органични вещества, без продуктите, описани в 5.1.3.

Претеглят се около 5 g от пробата с точност до mg и се поставят с 1 g активен въглен в 500-милилитрова мерителна колба. Добавят се 400 ml вода с температура около 20 °C и 5 ml разтвор на Карез I (3.7), разбърква се и после се добавят 5 ml разтвор на Карез II (3.8). Размесват се тридесет минути в барабан и се допълва до марката, хомогенизира се и се филтрува.

5.1.3. Топлинно обработени храни за животни, ленено кюспе и ленено брашно, продукти, богати на ленено брашно, и други продукти, богати на растителен клей, или в колоидални субстанции (например декстринирано нишесте)

Приготвя се разтворът, както е описано в 5.1.2, но не се филтрува. Декантират се (ако се налага — центрофугират се), отливат се 100 ml от избистрената течност и се прехвърлят в 200-милилитрова мерителна колба. Смесва се с ацетон (3.6) и се допълва до марката с този разтворител, хомогенизира се и се филтрира.

5.2. Титруване

С помощта на пипета в ерленмайерова колба се прехвърля от 25 ml до 100 ml от филтратата (в зависимост от предполагаемото хлорно съдържание), получен, както е описано в 5.1.1, 5.1.2 или 5.1.3. Аликвотната част не трябва да съдържа повече от 150 mg хлор (Cl). Разрежда се, ако се налага, до не по-малко от 50 ml с вода, добавят се 5 ml азотна киселина (3.4), 20 ml наситен разтвор на амониев ферисулфат (3.3) и две капки разтвор на амониев тиоцианат (3.1). Прехвърля се от бюрета, запълнена до нулевата марка. С помощта на бюрета се прехвърля разтворът на сребърния нитрат (3.2) по такъв начин, че да се получи излишък от 5 ml. Добавят се 5 ml диетилов етер (3.5) и се разбърква силно (шейкър), за да коагулира утайката.

Излишният сребърен нитрат се титрува с разтвора на амониевия тиоцианат (3.1), дотогава докато червено-кафеникавото оцветяване се задържи една минута.

6. Изчисляване на резултатите

Количеството хлор (p), изразено като натриев хлорид, налично в обема на филтратата, взет за титруване, се изчислява по следната формула:

$$p = 5845 (V_1 - V_2) \text{ mg}$$

където:

V_1 = обем (ml) на добавения 0,1 N разтвор на сребърен нитрат

V_2 = обем (ml) 0,1 N на разтвора на амониев тиоцианат, използван за титруване

В случай че празната проба покаже изразходване на 0,1 N разтвор на сребърен нитрат, тази стойност се изважда от обема ($V_1 - V_2$).

Резултатът се изразява като процент от пробата.

7. Забележки

7.1. Титруването може да се извърши и потенциометрично.

7.2. При продукти, които са много богати на масла и мазнини, първо се обезмаслява с диетилов етер или петролеев етер;

7.3. При храните за риби титруването може да стане по метода на Мор.

8. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СИНАПЕНОТО МАСЛО

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на съдържанието на синапено масло в къспе от видовете *Brassica* и *Sinapis* и в комбинирани храни за животни, съдържащи къспе от тези видове. Това съдържание се изразява като алил изороданид, който може да бъде уловен с пара.

2. Принцип

Пробата се суспендира във вода. Синапеното масло се освобождава под действието на ензими, улавя се чрез дестилация с етанол и се събира в разреден амоняк. Разтворът се обработва на горешо с определен обем разтвор на сребърен нитрат, след което се охлажда и филтрува. Излишният сребърен нитрат се титрува с разтвор на амониев тиоцианат.

3. Реактиви

- 3.1. Бял синап (*Sinapis alba*).
- 3.2. 95 до 96 % етанол (o/o).
- 3.3. Антипенителна емулсия (например силикон).
- 3.4. Амоняк, d: 0,958.
- 3.5. Разтвор на сребърен нитрат 0,1N.
- 3.6. Разтвор на амониев тиоцианат 0,1N.
- 3.7. Азотна киселина d: 1,40.
- 3.8. Наситен разтвор на амониев ферисулфат.

4. Апаратура

- 4.1. Плоскодънни 500-милилитрови колби с шлифовани стъклени запушалки.
- 4.2. Дестилационен апарат с хладник и съоръжение, предотвратяващо улавянето на капки.

5. Процедура

10 g от пробата се претеглят с точност до mg, поставят се в 500-милилитрова плоскодънна колба и към тях се добавят 2 g фино смлян бял синап (3.1) (източник на ензим) и 200 ml вода с температура 20 °C. Колбата се запушва и се държи при температура 20 °C около 2 часа, като често се разклаща. Добавят се 40 ml етанол (3.2) и една капка антипенителна емулсия (3.3). Дестилират се около 150 ml и дестилатът се събира в 250-милилитрова мерителна колба, съдържаща 20 ml амоняк (3.4), като се внимава краят на хладника да е потопен в течността. Към амонячния разтвор се прибавят 50 ml 0,1N разтвор на сребърен нитрат (3.5) (или повече, ако се налага). Поставя се малка фунийка върху мерителната колба и сместа се нагрява на кипяща водна баня един час. Остава се да се охладят, допълва се с вода до марката, разбърква се и се филтрира. Извеждат се 100 ml от бистрия филтрат, добавят се 5 ml азотна киселина (3.7) и около 5 ml амониев ферисулфат (3.8). Титрува се излишния сребърен нитрат с 0,1N разтвор на амониев тиоцианат (3.6).

По същата процедура се прави празна проба с 2 g фино смлян бял синап, без пробата за анализ.

6. Изчисляване на резултатите

Обемът 0,1 N сребърен нитрат, изразходван от празната проба, се изважда от обема, изразходван от пробата. Получената стойност дава броя милиграми сребърен нитрат 0,1N, изразходван от синапеното масло в пробата. 1 ml AgNO_3 0,1N отговаря на 4,956 mg алил изороданид. Резултатът се изразява като проценти от пробата.

9. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЛАКТОЗАТА

1. Цел и обхват

Този метод позволява определяне на съдържанието на лактоза в храни за животни, съдържащи повече от 0,5 % лактоза.

2. Принцип

Захарите се разтварят във вода. Разтворът се подлага на ферментация под действие на *Saccharomyces cerevisiae*, чиито дрожди не засягат лактозата. След избистряне и филтриране съдържанието на лактоза във филтратата се определя по метода Луф—Шорл.

3. Реактиви

3.1. Суспензия на *Saccharomyces cerevisiae*: суспендират се 25 g пресни дрожди в 100 ml вода. Суспензията може да бъде съхранявана максимум една седмица в хладилник.

3.2. Разтвор на Карез I: разтварят се във вода 24 g цинков ацетат $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ и 3 g ледена оцетна киселина. Допълва се до 100 ml с вода.

3.3. Разтвор на Карез II: разтварят се във вода 10,6 g калиев фероцианид $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Допълва се до 100 ml с вода.

3.4. Реагент на Луф—Шорл:

Като се разбърква внимателно, разтворът на лимонена киселина (3.4.2) се изсипва в разтвора на натриев карбонат (3.4.1). Добавя се разтворът на меден сулфат (3.4.1) и се допълва до 1 литър с вода. Остава се да престои една нощ и се филтрира. Проверява се нормалността на така получения реактив (Cu 0,1N; Na_2CO_3 2N). Стойността на рН на разтвора трябва да е приблизително 9,4.

3.4.1. Разтвор на меден сулфат: разтварят се 25 g меден сулфат ч.з.а. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, несъдържащ желязо, в 100 ml вода.

3.4.2. Разтвор на лимонена киселина: разтварят се 50 g лимонена киселина ч.з.а. $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ в 50 ml вода.

3.4.3. Разтвор на натриев карбонат: разтварят се 143,8 g безводен натриев карбонат ч.з.а. в около 300 ml гореща вода. Остава се да се охлади.

3.5. Гранулирана пемза, кипната в солна киселина, промита с вода и изсушена.

3.6. 30 % разтвор (т/о) натриев йодид.

3.7. 6 N сярна киселина.

3.8. 0,1 N разтвор на натриев тиосулфат.

3.9. Нишестен разтвор: прибавя се смес от 5 g разтворимо нишесте в 30 ml вода към 1 литър кипяща вода. Остава се да кипи 3 минути, оставя се да се охлади и, ако е необходимо, се добавят 10 mg живачен йодид като консервант.

4. Апаратура

Водна баня с термостат, настроен на 38—40°C

5. Процедура

Претегля се 1 g от пробата с точност до mg и се поставя тази част от пробата в 100-милилитрова мерителна колба. Добавят се 25—30 ml вода. Поставя се колбата в кипяща водна баня за тридесет минути и след това се охлажда до приблизително 35 °C. Добавят се 5 ml от дрождената суспензия (3.1) и се хомогенизира. Остава се колбата да престои два часа на водна баня при температура 38—40 °C. Охлажда се до около 20 °C.

Добавят се 2,5 ml разтвор на Карез I (3.2), бърка се тридесет секунди, след това се добавят 2,5 ml разтвор на Карез II (3.3) и отново се бърка тридесет секунди. Допълва се до 100 ml с вода, разбърква се и се филтрира. С помощта на пилета се взема част от филтратата — не повече от 25 ml по възможност със съдържание на лактоза от 40 до 80 mg — и се прехвърля в 300-милилитрова ерленмайерова колба. Ако е необходимо, се допълва до 25 ml с вода.

Прави се празна проба по същия начин с 5 ml дрождена суспензия (3.1).

Съдържанието на лактозата се определя по метода на Луф—Шорл, както следва: прибавят се точно 25 ml реагент на Луф—Шорл (3.4) и две гранули пемза (3.5). Бърка се на ръка, докато на открит пламък се нагрива със средна височина, и течността се доведе до кипене за около две минути. Поставя се ерленмайеровата колба веднага върху телена мрежа, покрита с азбест, с отвор с диаметър около 6 cm, под която е запален пламък. Пламъкът трябва да се регулира по такъв начин, че да се нагрива само основата на ерленмайеровата колба. Към ерленмайеровата колба се поставя обратен хладник. Остава се да кипи точно десет минути. Охлажда се веднага в студена вода и след около пет минути се титрува както следва.

Добавят се 10 ml разтвор на калиев йодид (3.6) и веднага след това (внимателно, защото има опасност от обилно образуване на пяна) се добавят 25 ml сярна киселина 6 N (3.7). Титрува се с разтвор на натриев тиосулфат 0,1 N (3.8) до появяване на матовожълт цвят, добавя се нишестеният индикатор (3.9) и се завършва титруването.

Същото титруване се извършва с точно измерена смес от 25 ml реагент на Луф—Шорл (3.4) и 25 ml вода след добавяне на 10 ml разтвор на калиев йодид (3.6) и 25 ml сярна киселина 6 N (3.7) без кипене.

6. Изчисляване на резултатите

Като се използва приложената таблица, се установява количеството лактоза в mg, което отговаря на разликата между резултатите от двете титрувания, изразено в ml натриев тиосулфат 0,1 N.

Резултатът се изразява като части безводна лактоза като процент от пробата.

7. Забележки

За продукти, съдържащи повече от 40 % ферментируема захар, се използва повече от 5 ml дрождена суспензия (3.1).

Таблица на стойностите за 25 ml реагент на Луф—Шорл

обем 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (ml), подгриване — 2 min, кипене — 10 min.

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Глюкоза, фруктоза, инвертирани захари $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		Лактоза $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		Малтоза $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N
	ml	mg	разлика	mg	разлика	mg	
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. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КАЛИЯ

1. Цел и обхват

Този метод позволява да бъде определено нивото калий в храните за животни.

2. Принцип

Пробата се опепелява и пепелта се разтваря в солна киселина. Натриевото съдържание на разтвора се определя чрез пламъчна фотометрия в присъствието на цезиев хлорид и алуминиев нитрат. С добавянето на тези субстанции до голяма степен се предотвратява влиянието на предизвикващи смущения елементи.

3. Реактиви

- 3.1. Солна киселина ч.з.а. d: 1,12.
- 3.2. Цезиев хлорид ч.з.а.
- 3.3. Алуминиев нитрат $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, реагент за общо приложение.
- 3.4. Калиев хлорид, безводен ч.з.а.
- 3.5. Пълнител: разтварят се във вода 50 g цезиев хлорид (3.2) и 250 g алуминиев нитрат (3.3), допълва се до 1 литър с вода и се хомогенизира. Съхранява се в пластмасови шишета.
- 3.6. Стандартен калиев разтвор: разтварят се във вода 1,907 g калиев хлорид (3.4), добавят се 5 ml солна киселина (3.1), допълва се до 1 литър с вода и се хомогенизира. Съхранява се в пластмасови шишета. 1 ml от този разтвор съдържа 1,00 mg калий.

4. Апаратура

- 4.1. Платинови, кварцови или порцеланови тигли за опепеляване, при необходимост снабдени с капаци.
- 4.2. Електрическа муфелна пещ с термостат.
- 4.3. Пламъчен фотометър.

5. Процедура

5.1. Анализ на пробата

По правило се претеглят 10 g от пробата с точност до 10 mg, поставят се в тигел и се опепеляват при 450 °C в продължение на три часа. След като се охладят, се прехвърля пепелта количествено в 500-милилитрова мерителна колба, като се използват 250—300 ml вода и след това 50 ml солна киселина (3.1). Когато отделянето на въглероден двуокис спре, разтворът се нагрява и се държи при температура около 90 °C в продължение на два часа, като от време на време се разбърква. След охлаждане до стайна температура се допълва до марката с вода, разклаща се и се филтрира. Прехвърля се в 100-милилитрова мерителна колба една аликвотна част от филтрата, съдържаща максимум 1,0 mg калий, добавя се 10,0 ml пълнител (3.5), допълва се до марката с вода и се хомогенизира. В случай на по-високо съдържание на калий, преди да се прибави пълнителя, разтворът, подлежащ на анализ, се разрежда в подходящо съотношение.

Таблицата по-долу е дадена като насока за проба от около 10 g.

Предполагаемо съдържание на калия в проба (% K)	Фактор на разреждане	Аликвотна част от разтвора в ml
до 0,1	—	50
0,1—0,5	—	10
0,5—1,0	—	5
1,0—5,0	1:10	10
5,0—10,0	1:10	5
10,0—20,0	1:20	5

Измерването се извършва по метода на пламъчната фотометрия при дължина на вълната 768 nm. Резултатът се изчислява с калибровъчна крива.

5.2. Калибровъчна крива

Поставят се точно 10 ml от стандартния разтвор (3.6) в 250-милилитрова мерителна колба, напълва се до марката с вода и се хомогенизира. Поставя се в 100-милилитрови мерителни колби точно 5, 10, 15, 20 и 25 ml от този разтвор, отговарящи съответно на количества калий 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 и 1,0 mg. Завършва се серията с празна проба, несъдържаща стандартен разтвор. Добавят се към всяка колба по 10 ml пълнител (3.5), допълва се с вода до марката и се хомогенизира. Измерванията се правят така, както е посочено в 5.1. Калибровъчната крива по правило е линейна до концентрации на калий от 1 mg в 100 ml разтвор.

6. Изчисляване на резултатите

Изразява се резултатът като процент от пробата.

7. Забележки

Невинаги се налага да се прибавя пълнител (3.5), за да се предотврати влиянието на предизвикващи смущения елементи.

11. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА НАТРИЯ

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на съдържанието на натрий в храните за животни.

2. Принцип

Пробата се опепелява и пепелта се разтваря в солна киселина. Натриевото съдържание на разтвора се определя чрез пламъчна фотометрия в присъствието на цезиев хлорид и алуминиев нитрат. Добавянето на тези субстанции в голяма степен предотвратява влиянието на предизвикващи смущения елементи.

3. Реактиви

- 3.1. Солна киселина ч.з.а. d: 1,12.
- 3.2. Цезиев хлорид ч.з.а.
- 3.3. Алуминиев нитрат $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, реагент за общо приложение.
- 3.4. Натриев хлорид, безводен ч.з.а.
- 3.5. Пълнител: разтварят се във вода 50 g цезиев хлорид (3.2), добавят се 250 g алуминиев нитрат (3.3), разрежда се с 1 литър с вода и се хомогенизира. Съхранява се в пластмасови шишета.
- 3.6. Стандартен натриев разтвор: разтварят се във вода 2,542 g натриев хлорид (3.4), добавят се 5 ml солна киселина (3.1), допълва се до 1 литър с вода и се хомогенизира. Съхранява се в пластмасови шишета. 1 ml от този разтвор съдържа 1,00 mg натрий.

4. Апаратура

- 4.1. Платинови, кварцови или порцеланови тигли за опепеляване, снабдени при необходимост с капаци.
- 4.2. Електрическа муфелна пещ с термостат.
- 4.3. Пламъчен фотометър.

5. Процедура

5.1. Анализ на пробата

По правило се претеглят 10 g от пробата с точност до 10 mg, поставят се в тигел (4.2) и се опепеляват при 450 °C за три часа. Избягва се прегряване (възпламеняване). След охлаждане пепелта се прехвърля количествено в 500-милилитрова мерителна колба, като се използват 250—300 ml вода и след това 50 ml солна киселина (3.1). Когато отделянето на въглероден двуокис спре, разтворът се нагрява и се оставя

при температура около 90 °C в продължение на два часа, като от време на време се разбърква. След охлаждане до стайна температура се допълва до марката с вода, разклаща се и се филтрира. Прехвърля се в 100-милилитрова мерителна колба една аликвотна част от филтрат, съдържаща максимум 1,0 mg натрий, добавят се 10,0 ml пълнител (3.5), допълва се с вода до марката и се хомогенизира. В случай на по-високо съдържание на натрий разтворът, подлежащ на анализ, се разрежда в подходящо съотношение, преди да се прибави пълнителя.

Таблицата по-долу е дадена като насока за проба от около 10 g.

Предполагаемо съдържание на натрия в проба (% Na)	Фактор на разреждане	Аликвотна част от разтвора в ml
до 0,1	—	50
0,1—0,5	—	10
0,5—1,0	—	5
1,0—5,0	1:10	10
5,0—10,0	1:10	5
10,0—20,0	1:20	5

Измерването се извършва по метода на пламъчната фотометрия при дължина на вълната 589 nm. Резултатът се изчислява с калибровъчна крива.

5.2. Калибровъчна крива

Точно 10 ml от стандартния разтвор (3.6) се поставят в 250 ml мерителна колба, напълва се с вода до марката и се хомогенизира. Поставя се в 100 ml мерителни колби точно 5, 10, 15, 20 и 25 ml от този разтвор, отговарящи съответно на количества натрий 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 и 1,0 mg. Серията се завършва с празна проба, несъдържаща стандартен разтвор. Към всяка колба се добавя по 10 ml пълнител (3.5), допълва се с вода до марката и се хомогенизира. Измерванията се правят така, както е посочено в 5.1. Калибровъчната крива по правило е линейна до концентрации на натрий от 1 mg в 100 ml разтвор.

6. Изчисляване на резултатите

Резултатът се изразява като процент от пробата.

7. Забележки

- 7.1. За продукти, съдържащи повече от 4 % натрий, е за предпочитане субстанцията да се опепели за два часа в тигел с капак. След като се охлади, се добавят вода, пепелта се преобразува в суспензия с помощта на платинено телче, изсушава се и се опепелява отново за два часа в тигела с капак.
- 7.2. Ако пробата се състои само от минерални субстанции, се разтваря без предварително опепеляване.

12. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЗАХАРТА

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на съдържанието на редукторни захари и общи захари след инверсия, изразени като глюкоза или евентуално като захароза, преобразувано с коефициент 0,95. Той е приложен към комбинирани храни за животни. За другите храни за животни са предвидени специални методи. Когато е необходимо, лактозата се измерва отделно и да се отчете при изчисляването на резултатите.

2. Принцип

Захарите се екстрахират в разреден етанол; разтворът се избистря с разтвори на Карез I и II. След отстраняване на етанола количествата преди и след инверсията се определят по метода на Луф—Шорл.

3. Реактиви

- 3.1. 40 % етанол (o/o) d: 0,948 при 20 °C, неутрализиран спрямо фенолфталеин.
- 3.2. Карез Разтвор на Карез I: разтварят се във вода 24 g цинков ацетат $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ и 3 g ледена оцетна киселина. Допълва се до 100 ml с вода.
- 3.3. Разтвор на Карез II: разтварят се във вода 10,6 g калиев фероцианид $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Допълва се до 100 ml с вода.
- 3.4. 0,1 % разтвор (г/о) на метилово оранжево.
- 3.5. 4 N солна киселина.
- 3.6. 0,1 N солна киселина.
- 3.7. 0,1 N разтвор на натриев хлорид.
- 3.8. Реагент на Луф—Шор:
Като се разбърква внимателно, разтворът лимонена киселина се добавя (3.8.2) в разтвора на натриев карбонат (3.8.3). Добавя се разтворът на меден сулфат (3.8.1) и се допълва до 1 литър с вода. Остава се да престои една нощ и се филтрира. Проверява се нормалността на така получения реактив (Cu 0,1N; Na_2CO_3 2N). Равнището на pH на разтвора е приблизително 9,4
 - 3.8.1. Разтвор на меден сулфат: разтварят се 25 g меден сулфат ч.з.а. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, несъдържащо желязо, в 100 ml вода.
 - 3.8.2. Разтвор на лимонена киселина: разтварят се 50 g лимонена киселина ч.з.а., $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ в 50 ml вода.
 - 3.8.3. Разтвор на натриев карбонат: разтварят се 143,8 g безводен натриев карбонат ч.з.а. в около 300 ml гореща вода. Остава се да се охлади.
- 3.9. 0,1 N разтвор на натриев тиосулфат.
- 3.10. Нишестен разтвор: прибавя се смес от 5 g разтворимо нишесте в 30 ml вода към 1 литър кипяща вода. Остава се да кипи 3 минути, остава се да се охлади и ако е необходимо, се добавят 10 mg живачен йодид като консервант.
- 3.11. 6 N сярна киселина
- 3.12. 30 % разтвор (г/о) калиев йодид
- 3.13. Гранулирана пемза, кипната в солна киселина, промита с вода и изсушена.
- 3.14. Изопентанол.

4. Апаратура

Смесител (барабанен): приблизително 35—40 об/мин.

5. Процедура

5.1. Екстрахиране на пробата

2,5 g от пробата се претеглят с точност до mg и се изсипват в 250-милилитрова мерителна колба. Добавят се 200 ml етанол (3.1) и се размесва в барабана един час. Добавят се 5 ml разтвор на Карез I (3.2) и се бърка една минута. Добавят се 5 ml разтвор на Карез II (3.3) и отново се бърка една минута. Допълва се до марката с етанол (3.1), хомогенизира се и се филтрира. 200 ml от филтратата се отделят и се изпарява до почти половината обем, за да се отстрани по-голямата част от етанола. Остатъкът след изпаряването се прибавя количествено в 200-милилитрова мерителна колба с помощта на гореща вода, охлажда се, допълва се с вода до марката, хомогенизира се и, ако е необходимо, се филтрира. Този разтвор ще се използва за определянето на количеството редукторни захари и, след инверсия, на общите захари.

5.2. Определяне на редукторни захари

С помощта на пипета се взимат не повече от 25 ml от разтвора, съдържащ не повече от 60 mg редукторни захари, изразени като глюкоза. Ако е необходимо, се допълва до 25 ml с дестилирана вода и съдържанието на редукторни захари се определя по метода на Луф—Шорл. Резултатът се изразява като процентно съдържание на глюкоза в пробата.

5.3. Определяне на общи захари след инверсия

С помощта на пипета се взимат 50 ml от разтвора и се прехвърлят в 100-милилитрова мерителна колба. Добавят се няколко капки разтвор на метилово оранжево (3.4), след това внимателно и при непрекъснато бъркане се добавят 4 N солна киселина (3.5), докато течността придобие определено червен цвят. Добавят се 15 ml 0,1 N солна киселина (3.6), потопява се колбата в силно кипяща водна баня и се оставя тридесет минути. Охлажда се бързо до около 20 °C и се добавят 15 ml 0,1 N разтвор на натриев хидроокис (3.7). Допълва се до 100 ml с вода и се хомогенизира. Взимат се не повече от 25 ml, съдържащи по-малко от 60 mg редукторни захари, изразени като глюкоза. Ако се налага, се допълват до 25 ml с дестилирана вода и се определя съдържанието на редукторни захари по метода на Луф—Шорл. Резултатът се изразява като проценти глюкоза или евентуално захароза, чрез умножаване по коефициент 0,95.

5.4. Титруване по метода на Луф—Шорл

С помощта на пипета се вземат 25 ml от реагента на Луф—Шорл (3.8) и се прехвърлят в 300-милилитрова ерленмайерова колба; добавят се точно 25 ml от избистрения захарен разтвор. Добавят се 2 гранули пемза (3.13), нагряват се с бъркане на ръка на открит пламък със средна височина и течността се довежда до кипене за около две минути. Ерленмайеровата колба се поставя веднага върху покрита с азбест телена мрежа с отвор с диаметър около 6 cm, под която е запален пламък. Пламъкът се регулира по такъв начин, че да се нагрява само основата на ерленмайеровата колба. Поставя се обратен хладник към ерленмайеровата колба. Остава се да кипи точно десет минути. Охлажда се веднага в студена вода и след около пет минути се титрува, както следва

Добавят се 10 ml разтвор на калиев йодид (3.12) и веднага след това (внимателно, тъй като има опасност от обилно образуване на пяна) се добавят 25 ml 6 N сярна киселина (3.11). Титрува се с 0,1 N разтвор на натриев тиосулфат (3.9), докато се появи мътно жълто оцветяване; добавя се нишестеният индикатор (3.10) и титруването се завършва.

Същото титруване се извършва с точно премерена смес от 25 ml реагент на Луф—Шорл (3.8) и 25 ml вода след добавяне на 10 ml разтвор на калиев йодид (3.12) и 25 ml 6 N сярна киселина (3.11) без кипене.

6. Изчисляване на резултатите

С помощта на таблицата се определя количеството глюкоза в mg, което съответства на разликата между стойностите на двете титрувания, изразена в mg натриев тиосулфат 0,1 N.

Резултатът се изразява като процент от пробата.

7. Специални процедури

7.1. В случай на храни за животни, богати на меласа и на други слабо хомогенни храни за животни, се претеглят 20 g и се поставя в 500 ml вода в 1-литрова мерителна колба. Размесват се един час в барабан. Избистря се с разтвори на Карез I и II (3.2 и 3.3), както е описано в точка 5.1, като обаче се използват четирикратни количества от всеки реагент. Допълва се до марката с 80 % етанол (v/v).

Хомогенизира се и се филтрира. Отстранява се етанолът, както е описано в точка 5.1. Ако няма декстринизирано нишесте, се допълва до марката с дестилирана вода.

7.2. В случай на меласа и храни за животни без примеси, които са богати на захар и почти не съдържат нишесте (рождкови, сушено цвекло и др.), се претеглят 5 g, поставя се в 250-милилитрова мерителна колба, добавят се 200 ml дестилирана вода и се размесва в барабан един час или повече, ако е необходимо. Избистря се с помощта на разтвор на Карез I (3.2) и разтвор на Карез II (3.3), както е описано в точка 5.1. Допълва се до марката със студена вода, хомогенизира се и се филтрира. За да определите количеството общи захари, да се продължи, както е описано в точка 5.3.

8. Забележки

- 8.1. За да избегнете образуването на пяна, се препоръчва да добавите (независимо от обема) приблизително 1 ml изопентанол (3.14) преди кипенето с реагент на Луф—Шорл.
- 8.2. Разликата между съдържанието на общи захари след инверсия, изразени като глюкоза, и съдържанието на редукторни захари, изразени като глюкоза, умножена по 0,95, дава процентното съдържание на захароза.
- 8.3. За да определите съдържанието на редукторни захари, без лактозата, могат да се използват два метода:
- 8.3.1. За приблизително изчисляване се умножава по 0,675 съдържанието на лактоза, установено по друг аналитичен метод, и се изважда полученият резултат от съдържанието на редукторните захари.
- 8.3.2. За точно изчисление на редукторните захари, без лактоза, за двете крайни определения трябва да се използва една и съща проба: единият анализ се прави с част от разтвора, получен съгласно точка 5.1, а другият — с част от разтвора, получен при определянето на лактозата по метода, посочен за тази цел (след ферментирание на другите видове захар и избистряне).

И в двата случая количеството налична захар се определя по метода на Луф—Шорл и се изчислява в mg глюкоза. Едната от стойностите се изважда от другата и разликата се изразява в проценти от пробата.

Пример

Двата обема, взети за всяко определение, отговарят на проба от 250 mg.

В първия случай се изразходват 17 ml натриев тиосульфатен разтвор 0,1 N, съответстващи на 44,2 mg глюкоза; във втория — 11 ml, съответстващи на 27,6 mg глюкоза.

Разликата е 16,6 mg глюкоза.

Съдържанието на редукторни захари (без лактоза), изчислено като глюкоза е съответно:

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

Таблица на стойностите за 25 ml реагент на Луф—Шорл

обем 0,1 N Na₂S₂O₃ (ml), подгряване — 2 min, кипене — 10 min.

Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N	Глюкоза, фруктоза, инвертирани захари C ₆ H ₁₂ O ₆		Лактоза C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		Малтоза C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N
	ml	mg	разлика	mg	разлика	mg	
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. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ТЕОБРОМИНА

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на количеството теобромин в страничните продукти от преработката на какао на зърна.

2. Принцип

Теоброминът се екстрахира с хлороформ. Екстрактът се изпарява до сухо, разтваря се във вода и се обработва с определено количество разтвор на сребърен нитрат. Освободената азотна киселина се титрува с разтвор на натриев хидроокис.

3. Реактиви

- 3.1. Хлороформ ч.з.а.
- 3.2. Амониев хидроокис d: 0,958.
- 3.3. Натриев сулфат, безводен ч.з.а.
- 3.4. Разтвор на натриев хидроокис 0,1 N.
- 3.5. Разтвор на сребърен нитрат 0,1 N.
- 3.6. 1 % етанолов разтвор (т/о) на фенолово червено.
- 3.7. Петролеев етер, т.к. 40—60 °С.

4. Апаратура

Плоскодъдни 500-милилитрови колби с шлифовани стъклени запушалки

5. Процедура

Претеглят се с точност до mg проба не повече от 10 g, съдържащи не повече от 80 mg теобромин, поставят се в 500-милилитрова плоскодънна колба с шлифована стъклена запушалка и се добавят 270 ml хлороформ (3.1) и 10 ml амоняк (3.2). Колбата се запушва и се разклаща енергично пет минути. Добавят се 12 g безводен натриев сулфат (3.3), разклаща се отново и се оставя да се утаява до следващия ден. Филтрира се в 500-милилитрова ерленмайерова колба и остатъкът се промива със 100 ml хлороформ (3.1). Дестилира се разтворителят и последните следи на кипяща водна баня се отстраняват. Разтваря се отново екстрактът в 50 ml вода и се довежда до кипене.

Охлажда се, неутрализира се точно с разтвора натриев хидроокис (3.4), като се използват 0,5 ml разтвор на фенолово червено (3.6). Добавят се 20 ml разтвор на сребърен нитрат (3.5). Титрува се азотната киселина, освободена с разтвора натриев хидроокис (3.4), докато индикаторът промени цвета (pH 7,4).

6. Изчисляване на резултатите

1 ml 0,1N NaOH = 18 mg теобромин

Резултатът се изразява в проценти от пробата.

7. Забележки

Продукти, съдържащи повече от 8 % сурови мастни вещества, трябва първо да бъдат обезмаслени чрез шестчасово екстрахиране с петролеев етер (т.к. 40—60 °С).

14. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КАРБАМИДА

1. Цел и обхват

Този метод позволява определянето на съдържанието на карбамид в храните за животни.

2. Принцип

Пробата се суспендира във вода с избистрящ агент. Суспензията се филтрира. Съдържанието на карбамид във филтратата се определя след добавяне на 4-диметиламинобензалдеhid (4-DMAВ) чрез измерване на оптичната плътност при дължина на вълната 420 nm.

3. Реактиви

- 3.1. Разтвор на 4-диметиламинобензалдеhid: се разтваря 1,6 g 4-DMAВ ч.з.а. в 100 ml 96 % етанол и се добавят 10 ml солна киселина ч.з.а. (d: 1,19). Този реактив се съхранява максимално две седмици.
- 3.2. Разтвор на Карез I: се разтваря във вода 24 g цинков ацетат $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ и 3 g ледена оцетна киселина. Допълва се до 100 ml с вода.
- 3.3. Разтвор на Карез II: се разтваря във вода 10,6 g калиев фероцианид $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Допълва се до 100 ml с вода.
- 3.4. Активен въглен ч.з.а., който не абсорбира карбамид (да се провери)
- 3.5. 0,1 % разтвор (т/о) карбамид ч.з.а.

4. Апаратура

- 4.1. Смесител (барабанен): приблизително 35 до 40 об/мин.
- 4.2. Епруветки: 160 × 16 мм с шлифовани стъклени запушалки
- 4.3. Спектрофотометър

5. Процедура

5.1. Анализ на пробата

2 g проба се претеглят с точност до mg и се поставя с 1 g активен въглен (3.4) в 500-милилитрова мерителна колба. Добавя се 400 ml вода и по 5 ml разтвор на Карез I (3.2) и разтвор на Карез II (3.3). Размесват се тридесет минути в барабан. Допълва се до марката с вода, разклаща се и се филтрира.

Взимат се 5 ml от прозрачните, безцветни филтрата, поставят се в епруветки с шлифовани стъклени запушалки, добавят се 5 ml 4-DMAВ разтвор (3.1) и се смесва. Поставят се епруветките в гореща водна баня при 20 °C. След петнадесет минути оптичната плътност на пробния разтвор се измерва със спектрофотометър при 420 nm. Сравнява се с празната проба от реактиви.

5.2. Калибровъчна крива

Взимат се обеми от 1, 2, 4, 5 и 10 ml от карбамидния разтвор (3.5), поставят се в 100-милилитрови мерителни колби и се допълват до марката с вода. Взимат се по 5 ml от всеки разтвор, добавят се 5 ml 4-DMAВ (3.1) разтвор към всеки от тях, хомогенизират се и се измерва оптичната плътност, както е показано по-горе в сравнение с контролен разтвор, съдържащ 5 ml 4-DMAВ и 5 ml вода, несъдържаща карбамид. Построява се калибровъчната крива.

6. Изчисляване на резултатите

Определя се количеството карбамид в пробата, като се използва калибровъчната крива.

Резултатът се изразява като процент от пробата.

7. Забележки

- 7.1. В случай на съдържание карбамид над 3 %, пробата се намалява до 1 g или първоначалният разтвор се разрежда така че да няма повече от 50 mg карбамид в 500 ml.
- 7.2. В случай на ниско съдържание на карбамид, пробата се увеличава, дотогава докато се получи прозрачен и безцветен филтрат.
- 7.3. Ако пробата съдържа просто азотно съединение, като например аминокиселини, оптичната плътност трябва да се измерва при 435 nm.

15. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЛУПИНОВИТЕ АЛКАЛОИДИ**1. Цел и обхват**

Този метод позволява определянето на съдържанието на алкалоиди в семената на лупината.

2. Принцип

Алкалоидите се разтварят в смес от диетилов етер и хлороформ и се екстрахират със солна киселина. Алкалоидите се утаяват в силиковолфрамова киселина, утайката се опепелява и остатъкът се претегля.

3. Реактиви

- 3.1. Диетилов етер.
- 3.2. Хлороформ.
- 3.3. 4 N разтвор натриев хидроокис.
- 3.4. 0,3 N солна киселина.
- 3.5. Натриев хлорид ч.з.а.
- 3.6. 10 % (г/о) разтвор на силиковолфрамова киселина $S \cdot O_2 \cdot 12WO_3 \cdot 26H_2O$

4. Апаратура

- 4.1. Механична бъркалка.
- 4.2. Платинови, кварцови ил порцеланови тигли за опепеляване.
- 4.3. Електрическа муфелна пещ.

5. Процедура

Претеглят се 15 g от пробата с точност до 5 mg и се поставя в съд с обем от приблизително 200 ml с шлифована стъклена запушалка (например разделителна фуния). Добавят се точно 100 ml диетилов етер (3.1.) и 50 ml хлороформ (3.2), след това се добавят с помощта на бюрета 10 ml разтвор на натриев хидроокис (3.3.). Разклаща се енергично, за да се избегне образуването на бучки от субстанцията. Разклаща се няколко пъти и се оставя да престои една нощ. Ако избистрената течност не е напълно прозрачна, се добавят няколко капки вода. Филтрира се слой диетилов етер. Отделят се 50 ml от филтрата в мерителна колба с обем 50 ml и се прехвърля количествено с 50 ml диетилов етер (3.1) в разделителна фуния с обем 150 ml. Екстрахират се трикратно с по 20 ml солна киселина (3.4), декантира се и се събира слой киселина след всяка екстракция. Екстрактите се събират в бехерова чаша с обем 250 ml и чрез леко нагриване последните следи от диетилов етер и хлороформ в разтвора се отстраняват. Добавя се около 1 g натриев хлорид (3.5), оставя се да се охлади, алкалоидите се утаяват със силиковолфрамова киселина (3.6) и се разбъркват механично около 30 min. Оставят се да престои една нощ, след

това се филтрира с филтър, несъдържащ пепели, и се измива утайката последователно два пъти с по 10 ml и два пъти с по 5 ml солна киселина (3.4).

Филтърът с утайката се поставя в тигел и се опепелява при 900 °С. Остава се да се охлади и се претеглят.

6. Изчисляване на резултатите

Съдържанието на алкалоидите в пробата се получава чрез умножаване на теглото на пепелта с коефициент 0,2.

Резултатът се изразява в проценти от пробата.

16. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА УРЕАЗНАТА АКТИВНОСТ НА ПРОДУКТИ, ПРОИЗВОДНИ НА СОЯТА

1. Цел и обхват

Анализът позволява да се изчисли уреазната активност на продукти, производни на соята, и да се провери дали тези продукти са били обработени достатъчно добре.

2. Принцип

Уреазната активност се изчислява чрез количеството амонячен азот, освободено от 1 g продукт в минута при 30 °С от разтвор на карбамид.

3. Реактиви

3.1. 0,1 N солна киселина

3.2. 0,1 N натриев хидроксид

3.3. Пълнител — фосфат 0,05M, съдържащ 4,45 g динатриев фосфат ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и 3,40 g монокалий фосфат (KH_2PO_4) на 1000 ml.

3.4. Прямо приготвен карбамиден пълнител, съдържащ 30,0 g карбамид на 1000 ml пълнител (3.3); рН 6,9—7,0.

4. Апаратура

4.1. Апарат за потенциометрично титруване или високочувствителен рН-метър (0,02 рН) с магнитна бъркалка.

4.2. Водна баня с термостат, настроен точно на 30 °С.

4.3. Епруветки с шлифовани стъклени запушалки, 150 × 18 mm.

5. Процедура

Раздробяват се около 10 g от пробата (например в мелничка за кафе), така че да преминава през сито меш 0,2 mm. Претеглят се 0,2 g от раздробената проба с точност до mg, поставят се в епруетка с шлифована стъклена запушалка и се добавят 10 ml карбамиден пълнител (3.4). Запушва се веднага и се разклаща енергично. Епруетката се поставя на водна баня, настроена точно на 30 °С и се разклаща енергично. Епруетката се поставя на водна баня, настроена точно на 30 °С и се задръжа там точно тридесет минути. Веднага се добавят 10 ml от 0,1 N солна киселина (3.1), охлаждат се бързо до 20 °С и съдържанието на епруетката се прехвърля количествено в съд за титруване, като

се промие два пъти с по 5 ml вода. С помощта на стъклен електрод (4.1) се титруват веднага и бързо до рН 4,7 с 0,1N разтвор натриев хидроокис (3.2) чрез електрометрия.

Прави се празна проба, както следва.

Бързо се поставя проба 0,2 g, претеглена с точност до mg в епруветка с шлифована стъклена запушалка, добавят се 10 ml 0,1N солна киселина (3.1) и след това 10 ml карбамиден пълнител (3.4). Епруветката се охлажда веднага в ледена вода и се оставя в нея тридесет минути. При горепосочените условия се прехвърля съдържанието на епруветката в съда за титруване, като се използват 0,1 N разтвор натриев хидроокис (3.2) до рН 4,7.

6. Изчисление

Уреазната активност се изчислява по формулата:

$$\frac{\text{mg N}}{\text{г мин.}} \text{ при } 30 \text{ }^{\circ}\text{C} = \frac{1,4(b-a)}{30 \cdot E}$$

където:

a = обем в ml 0,1 N на разтвор на натриев хидроокис, изразходван от пробата;

b = обем в ml 0,1 N на разтвор на натриев хидроокис, изразходван от празната проба;

E = тегло на пробата в грамове.

7. Забележки

7.1. Този метод е подходящ за уреазна активност до 1 mg N/g min при 30 °C. За продукти с по-голяма активност размерът на пробата може да се намали на 50 mg.

7.2. Продуктите, съдържащи повече от 10 % сурови мастни вещества, трябва първо да бъдат обезмаслени на студено.
