

31971L0250

12.7.1971

URADNI LIST EVROPSKIH SKUPNOSTI

L 155/13

PRVA DIREKTIVA KOMISIJE
z dne 15. junija 1971
o določitvi analitskih metod Skupnosti za uradni nadzor krme

(71/250/EGS)

KOMISIJA EVROPSKIH SKUPNOSTI JE

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropske gospodarske skupnosti,

ob upoštevanju Direktive Sveta z dne 20. julija 1970 o uvedbi metod vzorčenja in analiz Skupnosti za uradni nadzor krme ⁽¹⁾, in zlasti člena 2 Direktive,

ker navedena direktiva zahteva, da se uradni nadzor krme izvaja z uporabo metod vzorčenja in analiz Skupnosti z namenom preverjanja skladnosti z zahtevami, ki izhajajo iz določb zakonov in drugih predpisov glede kakovosti in sestave krme;

ker je treba čim prej določiti vse potrebne metode analiz; ker je prvi korak v tem procesu določitev metod za določanje cianovodikove kisline, kalcija, karbonatov, surovega pepela, pepela, netopnega v HCl, klora iz kloridov, eteričnega gorčičnega olja, laktoze, kalija, natrija, sladkorjev, teobromina in sečnine ter za določanje alkaloidov v bobu in oceno aktivnosti sečnine v proizvodih iz soje;

ker so ukrepi, predvideni s to direktivo, v skladu z mnenjem Stalnega odbora za krmo,

SPREJELA NASLEDNJO DIREKTIVO:

Člen 1

Države članice zahtevajo, da se analize za uradni nadzor krme, ki zadevajo vsebnosti cianovodikove kisline, kalcija, karbonatov, surovega pepela, pepela, netopnega v HCl, klora iz kloridov, eteričnega gorčičnega olja, laktoze, kalija, natrija, sladkorjev, teobromina in sečnine ter določanje alkaloidov v bobu in oceno aktivnosti sečnine v proizvodih iz soje, izvajajo z metodami, opisanimi v Prilogi k tej direktivi.

Člen 2

Države članice sprejmejo zakone ali druge predpise, potrebne za uskladitev s to direktivo, najpozneje do 1. julija 1972. O tem takoj obvestijo Komisijo.

Člen 3

Ta direktiva je naslovljena na države članice.

V Bruslju, 15. junija 1971

Za Komisijo
Predsednik
Franco M. MALFATTI

⁽¹⁾ UL L 170, 3.8.1970, str. 2.

PRILOGA

ANALITSKE METODE ZA SESTAVINE KRME

1. UVOD

Analitske metode za sestavine krme so na splošno uporabne za vso posamično krmo in krmne mešanice. Vendar nekatere vrste krme zaradi neločljive sestave zahtevajo posebne analitske metode. Takšni primeri so navedeni pod naslovom „opombe“ pri opisih metod.

Kadar je za določanje sestavine krme mogoče uporabljati dve ali več metod, je izbira, razen če je drugače določeno, prepuščena laboratoriju, ki analizo izvaja; uporabljena metoda pa mora biti navedena v potrdilu o analizi.

Priprava vzorca za analizo

Za kemijsko analizo je *najpomembnejše*, da se izvaja na *homogenem vzorcu*. Seveda pa mora biti možno izvajanje nekaterih makroskopskih ali mikroskopskih določanj in tudi določanje vlage na vzorcu v stanju, v kakršnem je prišel v laboratorij. Da bi bili ti dve zahtevi izpolnjeni, je *treba vzorec razdeliti na dva dela*. En del se obdeluje *nespremenjen*; drugi del pa se za kemijsko analizo *pripravi, kakor je opisano pri metodi*.

Vzorec razdelimo z mehansko opremo ali ročno, potem ko smo ga dobro premešali na čisti, suhi površini. V primeru ročne delitve ga je priporočljivo razdeljevati tako, da izmenično jemljemo vzorce z dveh nasprotnih strani. Za analizo odvmemo približno 100 g vzorca in ga, če je treba, zdrobimo tako, da bo celoten vzorec prešel skozi sito z okroglimi odprtini, velikimi 1 mm. Vzorec takoj prenesemo v suho posodo z nepredušnim pokrovom in zapremo.

Če je vzorec zelo vlažen, ga moramo predhodno osušiti do vsebnosti vlage med 8 in 12 % tako, da ga na primerni temperaturi sušimo primerno dolgo.

Reagenti in oprema

Pri opisih analitskih metod so navedeni le posebni instrumenti ali oprema ter tisti, ki zahtevajo posebne standarde. Šteje se, da vseh instrumentov in opreme, ki so del vsakdanje opreme v preizkuševalnih laboratorijih, ni treba posebej navajati.

Voda, ki se uporablja za razredčevanje ali izpiranje, je vedno *destilirana voda*. Prav tako je *raztopina* reagenta brez dodatnih oznak, vedno *raztopina v destilirani vodi*.

Izražanje rezultatov

Rezultat, naveden v potrdilu o analizi, je povprečna vrednost, dobljena iz najmanj dveh preskusov. Če ni določeno drugače, ga izrazimo kot masni delež glede na vzorec, kot je bil dostavljen v laboratorij. Rezultat izrazimo s toliko decimalkami, kakor to dovoljuje natančnost analitske metode.

2. DOLOČANJE CIANOVODIKOVE KISLINE

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo določamo vsebnost cianovodikove kisline, proste in vezane v obliki glikozidov, v krmi in predvsem v proizvodih iz lanenih semen, maniokove moke in nekaterih vrst fižola.

2. Princip

Vzorec suspendiramo v vodi. Z delovanjem encimov se sprosti cianovodikova kislina, ki jo ločimo z destilacijo z vodno paro in lovimo v določen volumen nakisane raztopine srebrovega nitrata. Srebrov cianid ločimo s filtriranjem in presežek srebrovega nitrata titriramo z raztopino amonijevega tiocianata.

3. Reagenti

- 3.1 Suspenzija sladkih mandljev: dvajset olupljenih sladkih mandljev zdrobimo v 100 ml vode pri 37 do 40 °C. Z uporabo papirja iz natrijevega pikrata ali tako da izvedemo slepi preskus, kakor je opisano v zadnjem odstavku 5, preverimo, da v 10 ml suspenzije ni cianovodikove kisline.
- 3.2 10-odstotna (m/v) raztopina natrijevega acetata, nevtralnega proti fenoltaleinu.
- 3.3 Emulzija proti penjenju (npr. silikon).
- 3.4 Dušikova kislina, d: 1,40.
- 3.5 Raztopina srebrovega nitrata: 0,02 N.
- 3.6 Raztopina amonijevega tiocianata: 0,02 N.
- 3.7 Nasičena raztopina amonij-železovega sulfata.
- 3.8 Amoniak, d: 0,958.

4. Oprema

- 4.1 Sušilnik s termostatom, nastavljenim na 38 °C.
- 4.2 Aparatura za destilacijo z vodno paro, opremljena s povratnim hladilnikom z upognjenim nastavkom.
- 4.3 1 000-mililitrske bučke z ravnim dnom in brušenimi zamaški.
- 4.4 Oljna kopel.
- 4.5 Bireta, graduirana na 1/20 ml.

5. Postopek

Natehtamo 20 g vzorca s točnostjo 5 mg, prenesemo v litrsko bučko z ravnim dnom in dodamo 50 ml vode ter 10 ml suspenzije sladkih mandljev (3.1). Bučko zamašimo in jo za šestnajst ur postavimo v sušilnik pri 38 °C. Nato jo ohladimo na sobno temperaturo, dodamo 80 ml vode, 10 ml raztopine natrijevega acetata (3.2) in kapljico emulzije proti penjenju (3.3).

Bučko povežemo z aparaturo za destilacijo z vodno paro in jo postavimo v oljno kopel, ki smo jo predhodno segreti do temperature nekoliko nad 100 °C. 200 do 300 ml tekočine destiliramo tako, da spustimo močan tok pare skozi bučko in rahlo segrevamo oljno kopel. Destilat lovimo v erlenmajerico, zaščiteno pred svetlobo, kjer se nahaja natančno 50 ml raztopine srebrovega nitrata 0,02 N (3.5) in 1 ml dušikove kisline (3.4). Zagotovimo, da je nastavek kondenzatorja potopljen v raztopino srebrovega nitrata.

Vsebinsko erlenmajerico prenesemo v 500-mililitrsko merilno bučko, dopolnimo z vodo, premešamo in filtriramo. Odpipetiramo 250 ml filtrata, dodamo približno 1 ml raztopine amonij-železovega (III) sulfata (3.7) in retitriramo presežek srebrovega nitrata z raztopino amonijevega tiocianata 0,02 N (3.6), ki ga dodajamo iz birete z graduirano skalo 1/20 ml.

Po enakem postopku lahko po potrebi izvedemo slepi preskus z 10 ml suspenzije sladkih mandljev (3.1) brez analiziranega vzorca.

6. Izračun rezultata

Če je bila pri slepem preskusu porabljen raztopina srebrovega nitrata 0,02 N, to vrednost odštejemo od volumna, porabljenega za destilat vzorca. 1 ml AgNO_3 0,02 N ustreza 0,54 mg HCN. Rezultat izrazimo v odstotnih masnih deležih glede na vzorec.

7. Opomba

Če vzorec vsebuje večjo količino sulfidov (npr. fižol), nastane črna oborina srebrovega sulfida, ki jo filtriramo skupaj z oborino srebrovega cianida. Nastanek te oborine povzroči izgubo raztopine srebrovega nitrata 0,02 N, ki jo moramo odšteti od volumna, uporabljenega za izračun vsebnosti HCN. To izvedemo takole:

Oborino na filtru prelijemo s 50 ml amoniaka (3.8), da raztopimo srebrov cianid. Preostanek spiramo z razredčenim amoniakom in v njem določimo vsebnost srebra. Dobljeno vrednost pretvorimo v mililitre raztopine srebrovega nitrata 0,02 N.

Vsebnost HCN v vzorcu je mogoče določiti tudi s titriranjem z dušikovo kislino nakisanega amoniakovega filtrata.

3. DOLOČANJE KALCIJA

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo določamo skupno vsebnost kalcija v krmi.

2. Princip

Kalcij upepelimo, pepel obdelamo s klorovodikovo kislino in kalcij oborimo kot kalcijev oksalat. Oborino raztopimo v žveplovi (VI) kislini in nastalo oksalno kislino titriramo z raztopino kalijevega permanganata.

3. Reagenti

3.1 Klorovodikova kislina p. a., d: 1,14

3.2 Dušikova (V) kislina p. a., d: 1,40

3.3 Žveplova (VI) kislina p. a., d: 1,13

3.4 Amoniak p. a., d: 0,98

3.5 Hladna nasičena raztopina amonijevega oksalata p. a.

3.6 30-odstotna (m/v) raztopina citronske kisline p. a.

3.7 5-odstotna (m/v) raztopina amonijevega klorida p. a.

3.8 0,04-odstotna (m/v) raztopina bromokrezol zelenega

3.9 Raztopina kalijevega premanganata 0,1 N

4. Oprema

4.1 Električna žarilna peč s kroženjem zraka in termostatom.

4.2 Žarilni lončki iz platine, kremenca ali porcelana.

4.3 Stekljeni filtrirni lončki, poroznosti G4.

5. Postopek

Natehnamo približno 5 g vzorca (ali več, če je potrebno) s točnostjo 1 mg, upepelimo pri 550 °C in pepel prenesemo v 250-mililitrsko čašo.

Dodamo 40 ml klorovodikove kisline (3.1), 60 ml vode in nekaj kapljic dušikove kisline (3.2). Segrejemo do vrenja in pustimo vreti trideset minut. Ohladimo in raztopino prelijemo v 250-mililitrsko merilno bučko. Speremo z vodo, dopolnimo do oznake, premešamo in filtriramo.

V 250-mililitrsko čašo odpipetiramo alikvot, ki glede na pričakovano vsebnost kalcija vsebuje 10 do 40 mg kalcija. Dodamo 1 ml raztopine citronske kisline (3.6) in 5 ml raztopine amonijevega klorida (3.7).

Z vodo razredčimo do približno 100 ml. Segrejemo do vrenja, dodamo osem do deset kapljic raztopine bromokrezol zelenega (3.8) in 30 ml tople raztopine amonijevega oksalata (3.5). Če nastane oborina, jo raztopimo z dodatkom nekaj kapljic klorovodikove kisline (3.1).

Med neprestanim mešanjem počasi nevtraliziramo z amoniakom (3.4), dokler ne dosežemo pH 4,4 do 4,6 (tj. dokler indikator ne spremeni barve). Čašo za trideset minut postavimo v kopel z vrelo vodo, da se nastala oborina sesede. Čašo vzamemo iz kopeli. Pustimo stati eno uro, nato filtriramo skozi filtrirni lonček G4.

Čašo in lonček spiramo z vodo do popolne odstranitve prebitka amonijevega oksalata (če ni klorida v izpiralni vodi pomeni, da je oborina dovolj dobro sprana).

Oborino na filtru speremo s 50 ml tople žveplove (VI) kisline (3.3). Lonček speremo s toplo vodo in filtrat razredčimo z vodo do približno 100 ml. Segrejemo na 70–80 °C in po kapljicah titriramo z raztopino kalijevega permanganata (3.9), do rožnate barve, ki je obstojna eno minuto.

6. Izračun rezultata

1 ml kalijevega permanganata 0,1 N ustreza 2,004 mg kalcija. Dobljeni rezultat izrazimo v masnem deležu glede na vzorec.

7. Opombe

7.1 Pri zelo nizkih vsebnostih kalcija postopamo, kakor sledi: oborino kalcijevega oksalata filtriramo skozi filtrirni papir, ki ne vsebuje pepela. Po spiranju osušimo filter in ga upepelimo pri 550 °C v platinskem lončku. Ostanek raztopimo z nekaj kapljicami žveplove (VI) kisline (3.3), izparimo do suhega, ponovno upepelimo pri 550 °C in stehnamo. Če je W masa dobljenega kalcijevega sulfata, je vsebnost kalcija v alikvotu vzorca enaka $= W \times 0,2944$.

7.2 Če je vzorec sestavljen izključno iz mineralnih snovi, ga raztopimo v klorovodikovi kislini, ne da bi ga predhodno upepelili. V primeru proizvodov, kakor je kalcij-aluminijev fosfat, ki je težko topen v kislini, pred raztapljanjem talimo z alkalnim postopkom tako: vzorec, ki ga bomo analizirali, dobro premešamo v platinskem lončku s petkratno količino mešanice, sestavljene iz enakih delov kalijevega karbonata in natrijevega karbonata. Pazljivo segrevamo, dokler mešanica ni popolnoma raztaljena. Ohladimo in raztopimo v klorovodikovi kislini.

7.3 Če vzorec vsebuje veliko magnezija, kalcijev oksalat preoborimo.

4. DOLOČANJE KARBONATOV

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo je pri večini krme mogoče določiti množino karbonatov, ki jih dogovorno izrazimo kot kalcijev karbonat.

V nekaterih primerih (na primer v železovem karbonatu) moramo uporabiti posebno metodo.

2. Princip

Karbonate razkrojimo s klorovodikovo kislino; sproščeni ogljikov dioksid vodimo v bireto in nastalo prostornino primerjamo s prostornino, ki se pod istimi pogoji sprosti iz znane količine kalcijevega karbonata p. a.

3. Reagenti

3.1 Klorovodikova kislina, d: 1,10.

3.2 Kalcijev karbonat, p. a.

3.3 Žveplova (VI) kislina, približno 0,1 N, obarvana z metil rdečim.

4. Oprema

Scheibler-Dietrichova aparatura (glej sliko) ali ustrezna druga aparatura.

5. Postopek

Glede na vsebnost karbonata v vzorcu natehtamo del vzorca, kakor je navedeno spodaj:

0,5 g pri proizvodih, ki vsebujejo od 50 do 100 % karbonatov, izraženih kot kalcijev karbonat;

1 g pri proizvodih, ki vsebujejo od 40 do 50 % karbonatov, izraženih kot kalcijev karbonat;

2 do 3 g pri drugih proizvodih.

Natehtani del vzorca prenesemo v posebno bučko (4) aparature, kjer se nahaja majhna epruveta iz nezdroljivega materiala, ki vsebuje 10 ml klorovodikove kisline (3.1), in povežemo bučko z aparaturo. Obrnemo trojni petelinček (5) tako, da je bireta (1) odprta navzven. S pomično cevjo (2), napolnjeno z obarvano žveplovo (VI) kislino (3.3) in povezano z bireto (1), dovedemo nivo tekočine na oznako nič. Petelinček (5) obrnemo tako, da povežemo cev in bireto (1) in (3) ter preverimo, da je nivo na oznaki nič.

Z nagibanjem bučke (4) počasi spuščamo klorovodikovo kislino (3.1) prek vzorca. Tlaka izenačimo tako, da spuščamo cev (2). Bučko (4) stresamo, dokler popolnoma ne preneha izločanje ogljikovega dioksida.

Tlaka izenačimo tako, da izenačimo nivoja tekočin v cevi in bireti (1) in (2). Čez nekaj minut, ko se volumen plina ustali, odčitamo rezultat.

Pri enakih pogojih izvedemo kontrolni preskus z 0,5 g kalcijevega karbonata (3.2).

6. Izračun rezultata

Vsebnost karbonatov v gramih, izraženih kot kalcijev karbonat, izračunamo z naslednjo enačbo:

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

pri čemer je:

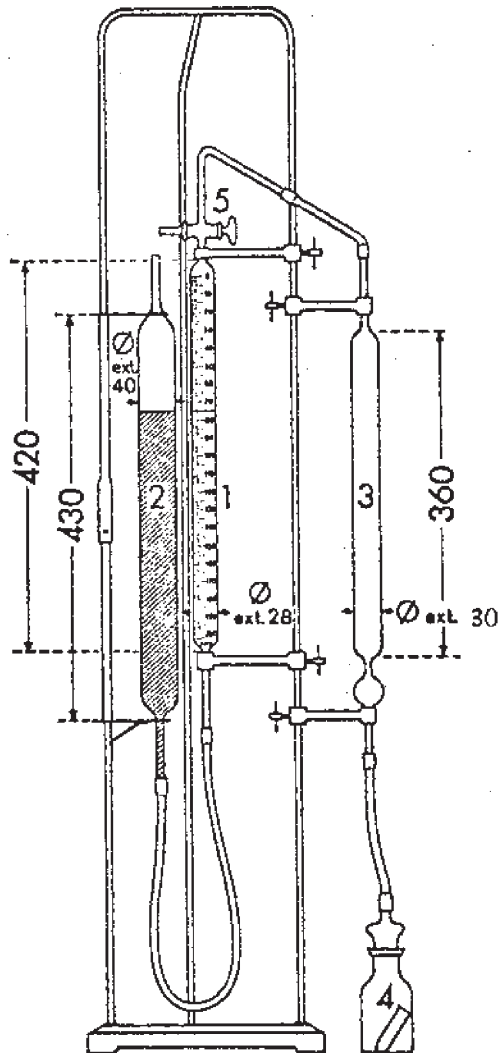
V = = ml CO₂ iz vzorca.

T = = ml CO₂ iz 0,5 g CaCO₃ p. a.

W = = masa vzorca v gramih.

7. Opombe

- 7.1 Če je masa vzorca večja od 2 g, najprej v bučko (4) nalijemo 15 ml destilirane vode in pred začetkom preskusa premešamo. Enako količino vode uporabimo za kontrolni preskus.
- 7.2 Če se volumen aparature, ki jo uporabljamo, razlikuje od volumna Scheibler-Dietrichove aparature, moramo ustrezno prilagoditi količine vzorca kontrolne snovi ter temu primerno prilagoditi izračun rezultata.

SCHEIBER-DIETRICHOVA APARATURA ZA DOLOČANJE CO₂ DODATI SKICO APARATURE

Razmerje 1: 8
(merjeno v mm)

5. DOLOČANJE SUROVEGA PEPELA

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo določamo vsebnost surovega pepela v krmi.

2. Princip

Vzorec upepelimo pri 550 °C; preostanek stehtamo.

3. Reagenti

20-odstotna (m/v) raztopina amonijevega nitrata.

4. Oprema

4.1 Grelna plošča.

4.2 Električna žarilna peč s termostatom.

4.3 Žarilni lončki za upepeljevanje iz platine ali iz zlitine platine in zlata (10 % Pt, 90 % Au), pravokotni (60 × 40 × 25 mm) ali okrogli (premer: od 60 do 75 mm, višina: od 20 do 25 mm).

5. Postopek

Natehtamo približno 5 g vzorca s točnostjo 1 mg (2,5 g pri proizvodih, ki nabreknejo) in ga prenesemo v žarilni lonček, ki smo ga predhodno prežarili in stehtali. Lonček postavimo na grelni ploščo in postopoma segrevamo, da snov zogleni. Potem ga postavimo v žarilno peč s temperaturo 550 °C ± 5 °C. Na tej temperaturi ga pustimo toliko časa, da dobimo bel, svetlosiv ali rdečkast pepel, ki ne vsebuje ogljikovih delcev. Lonček postavimo v eksikator, ohladimo in takoj stehtamo.

6. Izračun rezultata

Maso preostanka izračunamo tako, da odštejemo maso lončka.

Rezultat izrazimo kot odstotni masni delež glede na vzorec.

7. Opombe

7.1 *Snovi, ki jih je težko upepeliti*, moramo najprej najmanj tri ure upepeljevati, nato jih ohladimo in dodamo nekaj kapljic 20-odstotne raztopine amonijevega nitrata (pazljivo, da se pepel ne razprši ali da ne nastanejo grude). Po sušenju v sušilniku nadaljujemo z žarenjem. Postopek po potrebi ponovimo, dokler upepelitev ni popolna.

7.2 V primeru *snovi, odpornih proti obdelavi*, opisani v 7.1, postopamo, kakor sledi: upepeljujemo tri ure, nato pepel prenesemo v toplo vodo in filtriramo skozi majhen filter brez pepela. Filter in njegovo vsebino upepelimo v istem lončku. Filtrat prenesemo v ohlajen lonček, uparimo do suhega, upepelimo in stehtamo.

7.3 V primeru *olja in masti* točno natehtamo približno 25 g vzorca v lonček primerne velikosti. Upepelimo tako, da zažgemo snov s trakom iz filtrirnega papirja brez pepela. Po sežigu navlažimo s čim manj vode. Osušimo in upepelimo, kakor je opisano v 5.

6. DOLOČANJE PEPELA, NETOPNEGA V KLOOROVODIKOVI KISLINI

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo v krmi določamo vsebnost mineralnih snovi, netopnih v klorovodikovi kislini. Uporabljata se lahko dve metodi, glede na naravo krme.

1.1 *Metoda A*: uporablja se za naravno organsko krmo in za večino krmnih mešanic;

1.2 *Metoda B*: uporablja se za mineralne in za krmne mešanice, ki vsebujejo več kakor 1 % snovi, ki niso topne v klorovodikovi kislini, določenih po metodi A.

2. Princip

2.1 *Metoda A*: vzorec upepelimo, pepel raztopimo v vreli klorovodikovi kislini, netopni preostanek filtriramo in stehamo.

2.2 *Metoda B*: vzorec obdelamo s klorovodikovo kislino. Raztopino filtriramo, preostanek upepelimo in tako dobljeni pepel obdelamo v skladu z metodo A.

3. Reagenti

3.1 Klorovodikova kislina 3 N.

3.2 20-odstotna (m/v) raztopina trikloroocetne kisline.

3.3 1-odstotna (m/v) raztopina trikloroocetne kisline.

4. Oprema

4.1 Grelna plošča.

4.2 Električna žarilna peč s termostatom.

4.3 Žarilni lončki za upepeljevanje iz platine ali iz zlitine platine in zlata (10 % Pt, 90 % Au), pravokotni (60 × 40 × 25 mm) ali okrogli (premer: 60 do 75 mm, višina: od 20 do 25 mm).

5. Postopek

5.1 *Metoda A*:

Vzorec upepelimo po metodi za določanje surovega pepela. Lahko uporabimo tudi pepel, ki smo ga dobili pri tej analizi.

Pepel prenesemo v 250- do 400-mililitrsko čašo s 75 ml klorovodikove kisline 3 N (3.1). Počasi segrejemo do vrenja in pustimo rahlo vreti petnajst minut. Toplo raztopino filtriramo skozi filtrirni papir brez pepela in preostanek spiramo s toplo vodo do prenehanja kisle reakcije. Filter s preostankom in pepelom osušimo v tinaranem žarilnem lončku pri temperaturi, ki ni nižja od 550 °C in ne višja od 700 °C. Ohladimo v eksikatorju in stehamo.

5.2 *Metoda B*

Natehemo 5 g vzorca s točnostjo na najbližji mg in ga prenesemo v 250- do 400-mililitrsko čašo. Dodamo 25 ml vode in nato 25 ml klorovodikove kisline 3 N (3.1), premešamo in počakamo, da se reakcija umiri. Dodamo še 50 ml klorovodikove kisline 3 N (3.1). Počakamo, da preneha sproščanje plinov, nato postavimo čašo v kopol z vrelo vodo in pustimo trideset minut ali več, če je treba, da hidrolizira ves morebiti škrob.

Še toplo filtriramo skozi filter brez pepela in filter speremo s 50 ml tople vode (glej opombo 7). Filter, ki vsebuje preostanek, prenesemo v žarilni lonček, osušimo in upepelimo pri temperaturi, ki ni nižja od 550 °C in ne višja od 700 °C. Pepel prenesemo v 250- do 400-mililitrsko čašo z uporabo 75 ml klorovodikove kisline 3 N (3.1); nadaljujemo, kakor je opisano v drugem pododstavku 5.1.

6. Izračun rezultatov

Maso preostanka izračunamo tako, da odštejemo taro. Rezultat izrazimo v odstotnem masnem deležu glede na vzorec.

7. Opomba

Če pri filtriranju nastopijo težave, analizo ponovimo in pri tem 50 ml klorovodikove kisline 3 N (3.1) nadomestimo s 50 ml 20-odstotne trikloroocetne kisline (3.2), filter pa spiramo s toplo raztopino 1-odstotne trikloroocetne kisline (3.3).

7. DOLOČANJE KLORA IZ KLORIDOV

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo je mogoče določiti količino klora iz kloridov, topnih v vodi, ki jih dogovorno izrazimo kot natrijev klorid. Uporablja se za vso krmo.

2. Princip

Kloride raztopimo v vodi. Če proizvod vsebuje organske snovi, ga zbistrimo. Raztopino rahlo nakisamo z dušikovo kislino in kloride oborimo v obliki srebrovega klorida z raztopino srebrovega nitrata. Presežek srebrovega nitrata titriramo z raztopino amonijevega tiocianata po Volhardovi metodi.

3. Reagenti

- 3.1 Raztopina amonijevega tiocianata 0,1 N.
- 3.2 Raztopina srebrovega nitrata 0,1 N.
- 3.3 Nasičena raztopina amonij-železovega (III) sulfata.
- 3.4 Dušikova kislina, d: 1,38.
- 3.5 Dietileter p. a.
- 3.6 Aceton p. a.
- 3.7 Raztopina carrez I: 21,9 g cinkovega acetata $Zn(CH_3COO)_2 \times 2H_2O$ in 3 g ledoceta raztopimo v vodi in dopolnimo z vodo do 100 ml.
- 3.8 Raztopina carrez II: 10,6 g kalijevega ferocianida $K_4Fe(CN)_6 \times 3H_2O$ raztopimo v vodi in dopolnimo z vodo do 100 ml.
- 3.9 Aktivno oglje p. a., ki ne vsebuje kloridov in jih ne absorbira.

4. Oprema

Mešalnik: približno 35 do 40 obr./min.

5. Postopek

5.1 Priprava raztopine

Odvisno od narave vzorca pripravimo raztopino, kakor je navedeno v 5.1.1, 5.1.2 ali 5.1.3.

Hkrati opravimo slepi preskus brez vzorca, ki ga analiziramo.

5.1.1 Vzorci brez organskih snovi

S točnostjo 1 mg natehtamo ne več kakor 10 g vzorca, ki vsebuje največ 3 g klora v obliki kloridov. S 400 ml vode ga prenesemo v 500-mililitrsko merilno bučko pri približno 20 °C. Trideset minut mešamo v mešalniku, dopolnimo do oznake, premešamo in filtriramo.

5.1.2 Vzorci, ki vsebujejo organske snovi, razen proizvodov, navedenih v 5.1.3

Natehtamo približno 5 g vzorca s točnostjo 1 mg in ga skupaj z 1 g aktivnega oglja prenesemo v 500-mililitrsko merilno bučko. Dodamo 400 ml vode s temperaturo približno 20 °C in 5 ml raztopine carrez I (3.7), premešamo in dodamo 5 ml raztopine carrez II (3.8). Trideset minut mešamo v mešalniku, dopolnimo do oznake, premešamo in filtriramo.

5.1.3 Kuhana krma, lanove pogače in moka, proizvodi, ki vsebujejo veliko lanene moke, in drugi proizvodi, ki vsebujejo veliko lepila ali koloidnih snovi (na primer dekstriniran škrob)

Pripravimo raztopino, kakor je opisano v 5.1.2, vendar ne filtriramo. Dekantiramo (po potrebi centrifugiramo) in 100 ml bistre tekočine prenesemo v 200-mililitrsko merilno bučko. Dodamo aceton (3.6) in z njim dopolnimo do oznake, premešamo in filtriramo.

5.2 Titracija

S pipeto prenesemo v erlenmajerico od 25 ml do 100 ml filtrata (glede na pričakovano vsebnost klora), ki smo ga dobili, kakor je opisano v 5.1.1, 5.1.2 ali 5.1.3. Alikvot ne sme vsebovati več kakor 150 mg klora (Cl). Po potrebi z vodo razredčimo na najmanj 50 ml, dodamo 5 ml dušikove kisline (3.4), 20 ml nasičene raztopine amonij-železovega (III) sulfata (3.3) in dve kapljici raztopine amonijevega tiocianata (3.1), ki ga dodamo iz birete, napolnjene do oznake nič. Z bireto dodamo raztopino srebrovega nitrata (3.2), tako da dobimo 5 ml prebitka. Dodamo 5 ml dietiletra (3.5) in dobro pretresemo, da oborina koagulira.

Presežek srebrovega nitrata titriramo z raztopino amonijevega tiocianata (3.1), dokler ne dobimo rdečkastorjavega odtenka, ki je obstojen eno minuto.

6. Izračun rezultata

Količina klora (m), izražena kot natrijev klorid, ki je v titriranem volumnu, se izračuna z naslednjo formulo:

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

pri čemer je:

V_1 = = ml dodane raztopine srebrovega nitrata C = 0,1 N,

V_2 = = ml za titracijo uporabljene raztopine amonijevega tiocianata 0,1 N.

Če je bil pri slepem preskusu porabljen srebrov nitrat 0,1 N, to vrednost odštejemo od volumna ($V_1 - V_2$).

7. Opombe

7.1 Titracijo lahko izvedemo tudi potenciometrično;

7.2 proizvode, ki vsebujejo veliko olj in masti, najprej razmastimo z dietiletrom ali s petroletrom;

7.3 ribjo hrano je mogoče titrirati po Mohrovi metodi.

8. DOLOČANJE GORČIČNEGA OLJA

1. Namen in področje uporabe

S to metodo je mogoče določati količino gorčičnega olja, ki ga vsebujejo pogače iz vrst *Brassica* in *Sinapis* ter krmne mešanice, ki vsebujejo pogače iz teh vrst in jih je, izražene kot alilizotiocianat, mogoče izločiti s paro.

2. Princip

Vzorec zmešamo z vodo. Gorčično olje se izloči z delovanjem encimov, odvedemo ga z destilacijo z etanolom in zberemo v razredčenem amoniaku. Raztopino še toplo obdelamo z določeno količino raztopine srebrovega nitrata, ohladimo in filtriramo. Višek srebrovega nitrata titriramo z raztopino amonijevega tiocianata.

3. Reagenti

- 3.1 Bela gorčica (*Sinapis alba*).
- 3.2 95- do 96-odstotni etanol (v/v).
- 3.3 Emulzija proti penjenju (npr. silikon).
- 3.4 Amoniak, d: 0,958.
- 3.5 Raztopina srebrovega nitrata 0,1 N.
- 3.6 Raztopina amonijevega tiocianata 0,1 N.
- 3.7 Dušikova kislina, d: 1,40.
- 3.8 Nasičena raztopina amonij-železovega sulfata.

4. Oprema

- 4.1 1 500-mililitrske bučke z ravnim dnom in brušenimi zamaški.
- 4.2 Naprava za destilacijo s kondenzatorjem in opremo za preprečevanje odvajanja kapljic.

5. Postopek

Odtehtamo 10 g vzorca na 1 mg natančno, postavimo v 500-mililitrsko bučko z ravnim dnom in dodamo 2 g fino mlete bele gorčice (3.1) (kot vir encimov) in 200 ml vode, ki ima temperaturo 20 °C. Bučko zamašimo in za približno 2 uri postavimo v peč na 20 °C ter pogosto premešamo. Dodamo 40 ml etanola (3.2) in kapljico emulzije proti penjenju (3.3). Destiliramo približno 150 ml in destilat zberemo v 250-mililitrski merilni bučki, ki vsebuje 20 ml amoniaka (3.4). Pri tem pazimo, da je konec kondenzatorja potopljen v tekočino. Raztopini amoniaka dodamo 50 ml raztopine srebrovega nitrata 0,1 N (3.5) (po potrebi več), postavimo na merilno bučko majhen lijak in mešanico eno uro segrevamo nad vrelo vodo. Ohladimo, dolijemo vodo, da napolnimo bučko, premešamo in filtriramo. Odlijemo 100 ml čistega filtrata, dodamo 5 ml dušikove kisline (3.7) in približno 5 ml raztopine amonij-železovega sulfata (3.8). Višek srebrovega nitrata titriramo z raztopino amonijevega tiocianata 0,1 N (3.6).

Po isti metodi opravimo še *slepi preskus* za 2 g drobno zmlete bele gorčice, izpustimo pa vzorec za analizo.

6. Izračun rezultata

Odštejemo prostornino raztopine srebrovega nitrata 0,1 N, porabljene med slepim preskusom, od prostornine, ki jo je porabil vzorec v raztopini. Dobljena vrednost predstavlja število ml raztopine srebrovega nitrata 0,1 N, ki jih je porabilo gorčično olje v vzorcu. 1 ml AgNO_3 0,1 N ustreza 4,956 mg alilizotiocianata. Rezultat izrazimo v odstotkih vzorca.

9. DOLOČANJE LAKTOZE

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo določamo vsebnost laktoze v krmi, ki vsebuje več kakor 0,5 % laktoze.

2. Princip

Sladkorje raztopimo v vodi. Raztopino fermentiramo s kvasovko vrste *Saccharomyces cerevisiae*, ki ne vpliva na laktozo. Po zbitritvi in filtriranju vsebnost laktoze v filtratu določimo po Luff-Schoorlovi metodi.

3. Reagenti

3.1 Suspenzija *Saccharomyces cerevisiae*: suspendiramo 25 g svežih kvasovk v 100 ml vode. Suspenzijo lahko hranimo v hladilniku največ en teden.

3.2 Raztopina carrez I: 21,9 g cinkovega acetata $Zn(CH_3COO)_2 \times 2H_2O$ in 3 g ledoceta raztopimo v vodi in dopolnimo z vodo do 100 ml.

3.3 Raztopina carrez II: v vodi raztopimo 10,6 g kalijevega ferocianida $K_4Fe(CN)_6 \times 3H_2O$ in dopolnimo z vodo do 100 ml.

3.4 Luff-Schoorlov reagent:

Med previdnim mešanjem v raztopino natrijevega karbonata (3.4.2) vlivamo raztopino citronske kisline (3.4.2). Dodamo raztopino bakrovega sulfata (3.4.1) in dopolnimo z vodo do 1 litra. Pustimo stati čez noč in nato filtriramo. Preverimo normalnost tako pripravljenega reagenta (Cu 0,1 N; Na_2CO_3 2N). pH raztopine mora biti približno 9,4.

3.4.1 Raztopina bakrovega sulfata: v 100 ml vode raztopimo 25 g bakrovega sulfata p. a. $CuSO_4 \times 5H_2O$, ki ne vsebuje železa.

3.4.2 Raztopina citronske kisline: v 50 ml vode raztopimo 50 g citronske kisline p. a. $C_6H_8O_7 \times H_2O$.

3.4.3 Raztopina natrijevega karbonata: v približno 300 ml tople vode raztopimo 143,8 g brezvodnega natrijevega karbonata p. a. Pustimo, da se ohladi.

3.5 Zdrobljen plovec, prekuhan v klorovodikovi kislini, spran z vodo in osušen.

3.6 30-odstotna (m/v) raztopina natrijevega jodida.

3.7 Žveplova (VI) kislina 6 N.

3.8 Raztopina natrijevega tiosulfata 0,1 N.

3.9 Raztopina škroba: suspenzijo 5 g topnega škroba v 30 ml vode vlijemo v liter vrele vode. Pustimo vreti tri minute, ohladimo in po potrebi dodamo 10 mg živosrebrnega jodida kot konzervans.

4. Oprema

Vodna kopel s termostatom, nastavljenim na 38–40 °C.

5. Postopek

Natehemo 1 g vzorca s točnostjo 1 mg in ga prenesemo v 100-mililitrsko merilno bučko. Dodamo 25 do 30 ml vode. Bučko za trideset minut postavimo v vrelo vodno kopel, nato ohladimo na približno 35 °C. Dodamo 5 ml suspenzije kvasovk (3.1) in premešamo. Bučko pustimo dve uri v vodni kopeli, pri temperaturi 38–40 °C. Ohladimo na približno 20 °C.

Dodamo 2,5 ml raztopine carrez I (3.2) in mešamo trideset sekund, nato dodamo 2,5 ml raztopine carrez II (3.3) in ponovno mešamo trideset sekund. Dopolnimo z vodo do 100 ml, premešamo in filtriramo. Odpipetiramo del filtrata, ki ne presega 25 ml, in če je le mogoče, vsebuje od 40 do 80 mg laktoze, ter ga prenesemo v 300-mililitrsko erlenmajerico. Če je potrebno dopolnimo z vodo do 25 ml.

Pri enakih pogojih izvedemo slepi preskus s 5 ml suspenzije kvasovk (3.1).

Vsebnost laktoze določimo po metodi Luff-Schoorl, kakor sledi: dodamo točno 25 ml Luff-Schoorlovega reagenta (3.4) in dve zrni plovca (3.5). Med ročnim mešanjem segrevamo nad prostim plamenom srednje višine tako, da tekočina zavre v približno dveh minutah. Erlenmajerico takoj postavimo na žično mrežico, prevlečeno z azbestom, ki ima odprtino premera 6 cm, pod katero je prižgan plamen. Plamen naravnamo tako, da segrevamo le dno erlenmajerice. Na erlenmajerico namestimo povratni hladilnik. Pustimo vreti natanko deset minut. Takoj ohladimo v mrzli vodi in po približno petih minutah titriramo, kakor sledi:

Dodamo 10 ml raztopine kalijevega jodida (3.6) in takoj zatem (previdno, ker se lahko močno peni) 25 ml žveplove (VI) kisline 6 N (3.7). Titriramo z raztopino natrijevega tiosulfata 0,1 N (3.8) do svetlorumene barve, dodamo indikator škrob (3.9) in končamo titracijo.

Enako titracijo izvedemo brez vrenja s točno izmerjeno mešanico 25 ml Luff-Schoorlovega reagenta (3.4) in 25 ml vode, potem ko smo ji dodali 10 ml raztopine kalijevega jodida (3.6) in 25 ml žveplove (VI) kisline 6 N (3.7).

6. Izračun rezultata

Iz priloženih tabel določimo količino laktoze v mg, ki ustreza razliki med rezultatoma dveh titracij, izraženi v ml natrijevega tiosulfata 0,1 N.

Rezultat izrazimo kot odstotni masni delež brezvodne laktoze v vzorcu.

7. Opomba

Pri proizvodih, ki vsebujejo nad 40 % fermentirnega sladkorja, uporabimo več kakor 5 ml suspenzije kvasovk (3.1).

Tabela vrednosti za 25 ml Luff-Schoorlovega reagenta

ml Na₂ S₂ O₃ 0,1 N, dve minuti gretja, deset minut vrenja

Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N	Glukoza, fruktoza, invertni sladkorji		Laktoza		Maltoza		Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N
	ml	mg	razlika	mg	razlika	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. DOLOČANJE KALIJA

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo določamo vsebnost kalija v krmi.

2. Princip

Vzorec upepelimo in pepel raztopimo v klorovodikovi kislini. Vsebnost kalija v raztopini določimo s plamensko fotometrijo v prisotnosti cezijevega klorida in aluminijevega nitrata. Dodatek teh snovi v veliki meri odstrani interference motečih elementov.

3. Reagenti

3.1 Klorovodikova kislina p. a., d: 1.12.

3.2 Cezijev klorid p. a.

3.3 Aluminijev nitrat $Al(NO_3)_3 \cdot 9 H_2O$, navaden.

3.4 Kalijev klorid p. a., brezvoden.

3.5 Nosilec: v vodi raztopimo 50 g cezijevega klorida (3.2) in 250 g aluminijevega nitrata (3.3), dopolnimo z vodo do enega litra in premešamo. Hranimo v plastenkah.

3.6 Standardna raztopina kalija: v vodi raztopimo 1,907 g kalijevega klorida (3.4), dodamo 5 ml klorovodikove kisline (3.1), dopolnimo z vodo do enega litra in premešamo. Hranimo v plastenkah. 1 ml te raztopine vsebuje 1,00 mg kalija.

4. Oprema

4.1 Žarilni lončki iz platine, kremenca ali porcelana, po potrebi s pokrovi.

4.2 Električna žarilna peč s termostatom.

4.3 Plamenski fotometer.

5. Postopek

5.1 Analiza vzorca

Praviloma natehemo 10 g vzorca s točnostjo 10 mg v žarilni lonček in tri ure upepeljemo pri 450 °C. Po ohlادitvi pepel kvantitativno prenesemo v 500-mililitrsko merilno bučko z 250 do 300 ml vode in nato dodamo 50 ml klorovodikove kisline (3.1). Ko preneha izhajati ogljikov dioksid, raztopino segrejemo in pustimo dve uri na temperaturi 90 °C. Medtem jo občasno premešamo. Ohladimo na sobno temperaturo, dopolnimo z vodo do oznake, pretresemo in filtriramo. V 100-mililitrsko merilno bučko prenesemo alikvotni del filtrata, ki vsebuje največ 1,0 mg kalija, dodamo 10,0 ml nosilca (3.5), dopolnimo z vodo do oznake in premešamo. V primeru večjih količin kalija raztopino, ki jo analiziramo, pred dodatkom nosilca primerno razredčimo.

Spodnja tabela je navedena kakor vodilo za približno 10 g vzorca.

Pričakovana vsebnost kalija v vzorcu (% K)	Faktor razredčitve	Alikvot v ml raztopine
do 0,1	—	50
0,1 do 0,5	—	10
0,5 do 1,0	—	5
1,0 do 5,0	1: 10	10
5,0 do 10,0	1: 10	5
10,0 do 20,0	1: 20	5

S plamensko fotometrijo merimo pri valovni dolžini 768 nm. Rezultat izračunamo iz umeritvene krivulje.

5.2 Umeritvena krivulja

10 ml standardne raztopine (3.6) prenesemo v 250-mililitrsko merilno bučko, dopolnimo z vodo do oznake in premešamo. V 100-mililitrsko merilno bučko odpipetiramo 5, 10, 15, 20 in 25 ml te raztopine, kar ustreza 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 in 1,0 mg kalija. Vsaki seriji dodamo bučko za slepi preskus brez standardne raztopine. V vsako bučko dodamo 10 ml nosilca (3.5), dopolnimo z vodo do oznake in premešamo. Izmerimo, kakor je navedeno v 5.1. Umeritvena krivulja je do koncentracije kalija 1 mg na 100 ml raztopine navadno linearna.

6. Izračun rezultata

Rezultat izrazimo v odstotnih masnih deležih glede na vzorec.

7. Opombe

Za odstranitev interferenc motečih elementov ni treba vedno dodati nosilca (3.5).

11. DOLOČANJE NATRIJA

1. Namen in področje uporabe

Ta metoda omogoča določanje vsebnosti natrija v krmi.

2. Princip

Vzorec upepelimo in raztopimo pepel v klorovodikovi kislini. Vsebnost natrija v raztopini določimo s plamensko fotometrijo v prisotnosti cezijevega klorida in aluminijevega nitrata. Dodatek teh snovi v veliki meri odstrani interference motečih elementov.

3. Reagenti

3.1 Klorovodikova kislina p. a., d: 1.12.

3.2 Cezijev klorid p. a.

3.3 Aluminijev nitrat Al (NO₃)₃ × 9 H₂O, navaden.

3.4 Natrijev klorid p. a., brezvoden.

3.5 Nosilec: v vodi raztopimo 50 g cezijevega klorida (3.2) in 250 g aluminijevega nitrata (3.3), z vodo dopolnimo do enega litra in premešamo. Hranimo v plastenkah.

3.6 Standardna raztopina natrija: v vodi raztopimo 2,542 g natrijevega klorida (3.4), dodamo 5 ml klorovodikove kisline (3.1), dopolnimo z vodo do enega litra in premešamo. Hranimo v plastenkah. 1 ml te raztopine vsebuje 1,00 mg natrija.

4. Oprema

4.1 Žarilni lončki iz platine, kremenca ali porcelana, po potrebi s pokrovi.

4.2 Električna žarilna peč s termostatom.

4.3 Plamenski fotometer.

5. Postopek

5.1 Analiza vzorca

Praviloma natehemo 10 g vzorca s točnostjo 10 mg, prenesemo v žarilni lonček (4.2) in tri ure upepeljemo pri 450 °C. Pazimo, da se ne pregreje (vžig). Po ohladitvi pepel kvantitativno prenesemo v 500-mililitrsko merilno bučko z 250 do 300 ml vode in nato dodamo 50 ml klorovodikove kisline (3.1). Ko preneha izhajanje ogljikovega dioksida, raztopino segrejemo in pustimo dve uri na temperaturi 90 °C. Medtem jo občasno premešamo. Ohladimo na sobno temperaturo, dopolnimo z vodo do oznake, pretresemo in filtriramo. V 100-mililitrsko merilno bučko prenesemo alikvot filtrata, ki vsebuje največ 1,0 mg natrija, dodamo 10,0 ml nosilca (3.5), dopolnimo z vodo do oznake in premešamo. V primeru večjih količin natrija raztopino, ki jo analiziramo, pred dodatkom nosilca primerno razredčimo.

Spodnja tabela je navedena kakor vodilo za približno 10 g vzorca.

Pričakovana vsebnost natrija v vzorcu (% Na)	Faktor razredčitve	Alikvot v ml raztopine
do 0,1	—	50
0,1 do 0,5	—	10
0,5 do 1,0	—	5
1,0 do 5,0	1: 10	10
5,0 do 10,0	1: 10	5
10,0 do 20,0	1: 20	5

S plamensko fotometrijo merimo pri valovni dolžini 589 nm. Rezultat izračunamo iz umeritvene krivulje.

5.2 Umeritvena krivulja

10 ml standardne raztopine (3.6) prenesemo v 250-mililitrsko merilno bučko, dopolnimo z vodo do oznake in premešamo. V 100-mililitrsko merilno bučko odpipetiramo 5, 10, 15, 20 in 25 ml te raztopine, kar ustreza 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 in 1,0 mg natrija. Vsaki seriji dodamo bučko s slepim preskusom brez standardne raztopine. V vsako bučko dodamo 10 ml nosilca (3.5), dopolnimo z vodo do oznake in premešamo. Izmerimo, kakor je navedeno v 5.1. Umeritvena krivulja je do koncentracije natrija do 1 mg na 100 ml raztopine navadno linearna.

6. Izračun rezultata

Rezultat izrazimo v odstotnih masnih deležih glede na vzorec.

7. Opombe

7.1 Pri proizvodih, ki vsebujejo več kakor 4 % natrija, je priporočljiveje, da snov upepeljujemo dve uri v lončku s pokrovom. Po ohlادitvi dodamo vodo, suspendiramo pepel s platinasto žico, osušimo in ponovno dve uri upepeljujemo v pokritem lončku.

7.2 Če vzorec vsebuje samo mineralne snovi, raztapljamo brez predhodne upepelitve.

12. DOLOČANJE SLADKORJA

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo določamo količine reducirajočih sladkorjev in celotnih sladkorjev po inverziji, izraženih kot glukoza, ali kjer je to primerno, kot saharoza s faktorjem preračunavanja 0,95. Uporabna je za krmne mešanice. Za drugo krmo se uporabljajo posebne metode. Če je potrebno, laktozo izmerimo ločeno in jo upoštevamo pri izračunu rezultata.

2. Princip

Sladkorje ekstrahiramo z razredčenim etanolom in raztopino zbistriamo z raztopinama carrez I in II. Po odstranitvi etanola določimo količine pred inverzijo in po njej po Luff-Schoorlovi metodi.

3. Reagenti

- 3.1 40 % (v/v) etanol, d: 0,948 pri 20 °C, nevtraliziran proti fenolftaleinu.
- 3.2 Raztopina carrez I: v vodi raztopimo 21,9 g cinkovega acetata $Zn(CH_3COO)_2 \times 2H_2O$ in 3 g ledoceta ter dopolnimo z vodo do 100 ml.
- 3.3 Raztopina carrez II: v vodi raztopimo 10,6 g kalijevega ferocianida $K_4Fe(CN)_6 \times 3H_2O$ in dopolnimo z vodo do 100 ml.
- 3.4 0,1-odstotna (m/v) raztopina metiloranža.
- 3.5 Klorovodikova kislina 4 N.
- 3.6 Klorovodikova kislina 0,1 N.
- 3.7 Raztopina natrijevega hidroksida 0,1 N.
- 3.8 Luff-Schoorlov reagent:

V raztopimo natrijevega karbonata (3.8.3) vlijemo raztopino citronske kisline (3.8.2) in medtem previdno mešamo. Dodamo raztopino bakrovega sulfata (3.8.1) in z vodo dopolnimo do 1 litra. Pustimo čez noč in nato filtriramo. Preverimo normalnost tako dobljenega reagenta (Cu 0,1 N; Na_2CO_3 2N). pH raztopine mora biti približno 9,4.

- 3.8.1 Raztopina bakrovega sulfata: v 100 ml vode raztopimo 25 g bakrovega sulfata p. a. $CuSO_4 \times 5H_2O$, ki ne vsebuje železa.
- 3.8.2 Raztopina citronske kisline: v 50 ml vode raztopimo 50 g citronske kisline p. a. $C_6H_8O_7 \times H_2O$.
- 3.8.3 Raztopina natrijevega karbonata: v približno 300 ml tople vode raztopimo 143,8 g brezvodnega natrijevega karbonata p. a. Pustimo, da se ohladi.
- 3.9 Raztopina natrijevega tiosulfata 0,1 N.
- 3.10 Raztopina škroba: V liter vrele vode vlijemo suspenzijo 5 g topnega škroba v 30 ml vode. Vremo tri minute, ohladimo in po potrebi dodamo 10 mg živosrebrnega jodida kot konzervans.
- 3.11 Žveplova (VI) kislina 6 N.
- 3.12 30-odstotna (m/v) raztopina kalijevega jodida.
- 3.13 Zdrobljen plovec, prevret v klorovodikovi kislini, opran z vodo in osušen.
- 3.14 3-metilbutan-1-ol.

4. Oprema

Mešalnik: približno 35 do 40 obr./min.

5. Postopek

5.1 Ekstrakcija vzorca

Natehtamo 2,5 g vzorca s točnostjo 1 mg in ga prenesemo v 250-mililitrsko merilno bučko. Dodamo 200 ml etanola (3.1) in v mešalniku mešamo eno uro. Nato dodamo 5 ml raztopine carrez I (3.2) in mešamo eno minuto. Dodamo še 5 ml raztopine carrez II (3.3) in ponovno mešamo eno minuto. Z etanolom (3.1) dopolnimo do oznake, premešamo in filtriramo. 200 ml filtrata uparimo približno do polovice, da odstranimo skoraj ves etanol. Ostanek po izparevanju s toplo vodo kvantitativno prenesemo v 200-mililitrsko merilno bučko, ohladimo, dopolnimo z vodo do oznake, premešamo in po potrebi filtriramo. To raztopino bomo uporabili za določanje količine reducirajočih sladkorjev, po inverziji pa celotnih sladkorjev.

5.2 Določanje reducirajočih sladkorjev

Odpipetiramo največ 25 ml raztopine, ki vsebuje manj kakor 60 mg reducirajočih sladkorjev, izraženih kot glukoza. Po potrebi dopolnimo z destilirano vodo do 25 ml raztopine in določimo vsebnost reducirajočih sladkorjev po Luff-Schoorlovi metodi. Rezultat izrazimo kot odstotni masni delež glukoze v vzorcu.

5.3 Določanje celotnih sladkorjev po inverziji

S pipeto prenesemo 50 ml raztopine v 100-mililitrsko merilno bučko. Dodamo nekaj kapljic raztopine metiloranža (3.4) in nato, previdno in ob neprestanem mešanju, dodajamo klorovodikovo kislino 4 N (3.5), dokler tekočina ne postane močno rdeča. Dodamo 15 ml klorovodikove kisline 0,1 N (3.6), potopimo bučko v skoraj vrelo vodno kopel in jo v njej pustimo trideset minut. Hitro ohladimo na približno 20 °C in dodamo 15 ml raztopine natrijevega hidroksida 0,1 N (3.7). Dopolnimo z vodo do 100 ml in premešamo. Odpipetiramo največ 25 ml raztopine, ki vsebuje manj kakor 60 mg reducirajočih sladkorjev, izraženih kot glukoza. Po potrebi dopolnimo z destilirano vodo do 25 ml in določimo količino reducirajočih sladkorjev po Luff-Schoorlovi metodi. Rezultat izrazimo kot odstotni masni delež glukoze, ali če je to primerno, saharoze tako, da pomnožimo s faktorjem 0,95.

5.4 Titracija po Luff-Schoorlovi metodi

S pipeto prenesemo 25 ml Luff-Schoorlovega reagenta (3.8) v 300-mililitrsko erlenmajerico; dodamo točno 25 ml zbistrene raztopine sladkorja. Dodamo 2 zrni plovca (3.13) in med ročnim mešanjem segrevamo nad prostim plamenom srednje višine tako, da raztopina zavre v približno dveh minutah. Erlenmajerico takoj postavimo na žično mrežico, prevlečeno z azbestom, ki ima odprtino s premerom 6 cm, pod katero je prižgan plamen. Plamen naravnamo tako, da segrevamo le dno erlenmajerice. Na erlenmajerico namestimo povratni hladilnik in pustimo vreti točno deset minut. Takoj ohladimo v mrzli vodi in čez približno pet minut titriramo, kakor sledi:

Dodamo 10 ml raztopine kalijevega jodida (3.12) in takoj nato (previdno, ker se lahko močno peni) dodamo 25 ml žveplave kisline 6 N (3.11). Titriramo z raztopino natrijevega tiosulfata 0,1 N (3.9) do svetlorumene barve, dodamo indikator škrob (3.10) in končamo titracijo.

Enako titracijo izvedemo na točno izmerjeni mešanici 25 ml Luff-Schoorlovega reagenta (3.8) in 25 ml vode, potem ko smo dodali 10 ml raztopine kalijevega jodida (3.12) in 25 ml žveplave (VI) kisline 6 N (3.11), brez vrenja.

6. Izračun rezultata

Z uporabo tabele določimo količino glukoze v mg, ki ustreza razliki med vrednostma obeh titracij, izraženi v mg natrijevega tiosulfata 0,1 N.

Izrazimo rezultat v masnih deležih glede na vzorec.

7. Posebni postopki

7.1 Pri krmi, ki vsebuje veliko melase, in drugi krmi, ki ni zelo homogena, natehtamo 20 g vzorca in ga s 500 ml vode prenesemo v litrsko merilno bučko. Eno uro mešamo v mešalniku. Zbistrimo z uporabo reagentov carrez I (3.2) in II (3.3), kakor je opisano v 5.1, vendar uporabimo štirikratno količino vsakega reagenta. Bučko dopolnimo z 80-odstotnim etanolom (v/v).

Premešamo in filtriramo. Etanol odstranimo, kakor je opisano v 5.1. Če ni dekstriniranega škroba, z destilirano vodo dopolnimo do oznake.

7.2 V primeru melas in posamične krme, ki vsebuje veliko sladkorja in je skoraj brez škroba (rožiči, posušene rezine pese itd.), natehtamo 5 g, prenesemo v 250-mililitrsko merilno bučko, dodamo 200 ml destilirane vode in eno uro mešamo v mešalniku, po potrebi tudi več. Zbistrimo z uporabo reagentov carrez I (3.2) in II (3.3), kakor je opisano v 5.1. S hladno vodo dopolnimo do oznake, premešamo in filtriramo. Da bi določili količino celotnih sladkorjev, nadaljujemo, kakor je opisano v 5.3.

8. Opombe

- 8.1 Za preprečevanje penjenja je priporočljivo, da pred vrenjem z Luff-Schoorlovim reagentom dodamo (ne glede na volumen) približno 1 ml 3-metilbutan-1-ol (3.14).
- 8.2 Razlika v vsebnosti celotnih sladkorjev po inverziji, izraženih kot glukoza, in vsebnosti reducirajočih sladkorjev, izraženih kot glukoza, pomnožena z 0,95, da vsebnost saharoze v odstotnih masnih deležih.
- 8.3 Za določanje vsebnosti reducirajočih sladkorjev, razen laktoze, lahko uporabimo dve metodi:
- 8.3.1 Za približen izračun vsebnost laktoze, določene z drugo analizno metodo, pomnožimo z 0,675 in dobljeni rezultat odštejemo od vsebnosti reducirajočih sladkorjev.
- 8.3.2 Za točen izračun reducirajočih sladkorjev, razen laktoze, moramo za zadnji dve končni določitvi uporabiti isti vzorec. Eno od analiz izvedemo na delu raztopine, ki jo dobimo, kakor je opisano v 5.1, drugo pa na delu raztopine, ki jo dobimo pri določanju laktoze z metodo, določeno za ta namen (po fermentiranju drugih vrst sladkorja in zbitritvi).

V obeh primerih se količina sladkorja določi z Luff-Schoorlovo metodo in izračuna v mg glukoze. Eno od vrednosti odštejemo od druge in razliko izrazimo v odstotnih masnih deležih glede na vzorec.

Primer

Za vsako od določanj oba uporabljena volumna ustrezata 250 mg vzorca.

V prvem primeru porabimo 17 ml raztopine natrijevega tiosulfata 0,1 N, kar ustreza 44,2 mg glukoze; v drugem pa 11 ml, kar ustreza 27,6 mg glukoze.

Razlika je 16,6 mg glukoze.

Količina reducirajočih sladkorjev (razen laktoze), izračunana kot glukoza, je torej:

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

Tabela vrednosti za 25 ml Luff-Schoorlovega reagenta

ml Na₂ S₂ O₃ 0,1 N, dve minuti gretja, deset minut vrenja

Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N	Glukoza, fruktoza, invertni sladkorji		Laktoza		Maltoza		Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N
	ml	mg	razlika	mg	razlika	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. DOLOČANJE TEOBROMINA

1. Namen in področje uporabe

Ta metoda omogoča določanje vsebnosti teobromina v stranskih proizvodih pri predelavi kakavovih zrn.

2. Princip

Teobromin ekstrahiramo s kloroformom. Ekstrakt izparevamo, dokler se ne posuši, nato ga raztopimo v vodi in obdelamo z določeno količino raztopine srebrovega nitrata. Dušikovo kislino, ki se sprostila, titriramo z raztopino natrijevega hidroksida.

3. Reagenti

- 3.1 Kloroform p. a.
- 3.2 Amoniak, d: 0,958.
- 3.3 Natrijev sulfat p. a., brezvoden.
- 3.4 Raztopina natrijevega hidroksida 0,1 N.
- 3.5 Raztopina srebrovega nitrata 0,1 N.
- 3.6 1-odstotna (w/v) etanolna raztopina fenol rdeče.
- 3.7 Lahki petrolej, B. P. 40–60 °C.

4. Oprema

500-mililitrske bučke z ravnim dnom in brušenimi zamaški.

5. Postopek

Na 1 mg natančno natehtamo 10 g vzorca, ki vsebuje največ 80 mg teobromina, ga položimo v 500-mililitrsko bučko z ravnim dnom in brušenim zamaškom ter dodamo 270 ml kloroforma (3.1) in 10 ml amoniaka (3.2). Bučko zamašimo in pet minut dobro pretresamo. Dodamo 12 g anhidridnega natrijevega sulfata (3.3), še enkrat pretresemo in pustimo, da se do naslednjega dne poleže. Filtriramo v 500-mililitrsko erlenmajerico in preostanek speremo s 100 ml kloroforma (3.1). Topilo destiliramo in popolnoma odstranimo nad kopeljo z vrelo vodo. Ekstrakt ponovno stopimo v 50 ml vode in zavremo.

Ohladimo, natančno nevtraliziramo z raztopino natrijevega hidroksida (3.4), za kar uporabimo 0,5 ml fenol rdeče raztopine (3.6). Dodamo 20 ml raztopine srebrovega nitrata (3.5). Z raztopino natrijevega hidroksida (3.4) titriramo izločeno dušikovo kislino, da indikator spremeni barvo (pH 7,4).

6. Izračun rezultata

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

Izrazimo rezultat v odstotkih vzorca.

7. Opombe

Proizvode, ki vsebujejo nad 8 % surovih mastnih snovi, moramo najprej razmastiti tako, da jih šest ur ekstrahiramo z lahkim petrolejem (B-P. 40–60 °C).

14. DOLOČANJE SEČNINE

1. Namen in področje uporabe

Z opisano metodo določamo vsebnost sečnine v krmi.

2. Princip

Vzorec suspendiramo v vodi s snovjo za zbistritev. Suspenzijo filtriramo. Dodamo 4-dimetilaminobenzaldehid (4-DMAB) in nato določimo vsebnost sečnine v filtratu z merjenjem optične gostote pri valovni dolžini 420 nm.

3. Reagenti

- 3.1 Raztopina 4-dimetilaminobenzaldehida: v 100 ml 96-odstotnega etanola raztopimo 1,6 g 4-DMAB p. a. in dodamo 10 ml klorovodikove kisline p. a. (d: 1,19). Reagent lahko hranimo največ dva tedna.
- 3.2 Raztopina carrez I: v vodi raztopimo 21,9 g cinkovega acetata $Zn(CH_2COO) \times 2H_2O$ in 3 g ledoceta ter dopolnimo z vodo do 100 ml.
- 3.3 Raztopina carrez II: v vodi raztopimo 10,6 g kalijevega ferocianida $K_4Fe(CN)_6 \times 3H_2O$ in dopolnimo z vodo do 100 ml.
- 3.4 Aktivno oglje p. a., ki ne absorbira sečnine (treba je preveriti).
- 3.5 0,1-odstotna (m/v) raztopina sečnine p. a.

4. Oprema

- 4.1 Mešalnik: približno 35 do 40 obr./min.
- 4.2 Epruvete: 160 × 16 mm z brušenimi zamaški.
- 4.3 Spektrofotometer.

5. Postopek

5.1 Analiza vzorca

Natehtamo 2 g vzorca s točnostjo 1 mg in ga skupaj z 1 g aktivnega oglja (3.4) prenesemo v 500-mililitrsko merilno bučko. Dodamo 400 ml vode in 5 ml raztopin carrez I (3.2) in II (3.3). Mešamo trideset minut v mešalniku. Z vodo dopolnimo do oznake, pretresemo in filtriramo.

5 ml prozornega brezbarvnega filtrata prenesemo v epruvete z brušenimi zamaški, dodamo 5 ml raztopine 4-DMAB (3.1) in premešamo. Epruvete postavimo v kopal z vodo pri 20 °C. Po petnajstih minutah izmerimo optično gostoto raztopine vzorca s spektrofotometrom pri 420 nm. Primerjamo z raztopino reagentov iz slepega preskusa.

5.2 Umeritvena krivulja

1, 2, 4, 5 in 10 ml raztopine sečnine (3.5) prenesemo v 100-mililitrske merilne bučke ter jih dopolnimo z vodo do oznake. Od vsake teh raztopin odpipetiramo 5 ml, vsaki dodamo 5 ml raztopine 4-DMAB (3.1), premešamo in izmerimo optično gostoto, kakor je opisano zgoraj s primerjavo s kontrolno raztopino, ki vsebuje 5 ml 4-DMAB in 5 ml vode brez sečnine. Narišemo umeritveno krivuljo.

6. Izračun rezultata

Količino sečnine v vzorcu določimo iz umeritvene krivulje.

Rezultat izrazimo v odstotnih masnih deležih glede na vzorec.

7. Opombe

- 7.1 Če vsebnost sečnine presega 3 %, zmanjšamo vzorec na 1 g ali razredčimo prvotno raztopino, tako da v 500 ml ni več kakor 50 mg sečnine.
- 7.2 Če je vsebnost sečnine nizka, povečamo vzorec, dokler je filtrat še prozoren in brezbarven.
- 7.3 Če vzorec vsebuje preproste dušikove spojine, kot so aminokisliline, moramo optično gostoto meriti pri 435 nm.

15. DOLOČANJE ALKALOIDOV V BOBU**1. Namen in področje uporabe**

Ta postopek omogoča določanje vsebnosti alkaloidov v semenih boba.

2. Princip

Alkaloide raztopimo v mešanici dietiletra in kloroforma ter ekstrahiramo s klorovodikovo kislino. Alkaloide oborimo v silikovolframovi kislini, oborino upepelimo in preostanek stehtamo.

3. Reagenti

- 3.1 Dietileter.
- 3.2 Kloroform.
- 3.3 Raztopina natrijevega hidroksida 4 N.
- 3.4 Klorovodikova kislina 0,3 N.
- 3.5 Natrijev klorid p. a.
- 3.6 10-odstotna raztopina (w/v) silikovolframove kisline $S \times O_2 \times 12WO_3 \times 26H_2O$.

4. Oprema

- 4.1 Mehanski mešalnik.
- 4.2 Žarilni lončki iz platine, kremenca ali porcelana.
- 4.3 Električna talilna peč.

5. Postopek

Natehtamo 15 g vzorca na 5 mg natančno in ga položimo v približno 200-mililitrsko posodo z brušenim zamaškom (npr. ločilni lijak). Dodamo natančno 100 ml dietiletra (3.1) in 50 ml kloroforma (3.2), nato pa z merilno pipeto dodamo 10 ml raztopine natrijevega hidroksida (3.3). Dobro pretresemo, da preprečimo nastanek kep. Ponovno večkrat pretresemo in pustimo čez noč. Če tekočina nad usedlino ni popolnoma bistra, dodamo nekaj kapljic vode. Filtriramo eterkloroformno plast. V merilno bučko vzamemo 50 ml filtrata in ga kvantitativno prenesemo v 150-mililitrski ločilni lijak s 50 ml dietiletra (3.1). Trikrat zaporedoma ekstrahiramo z 20 ml klorovodikove kisline (3.4), pustimo, da se odcedi, in zberemo kislilni ekstrakt po vsaki ekstrakciji. Kisle ekstrakte zberemo v 250-mililitrski čaši ter popolnoma izločimo eter in kloroform z rahlim gretjem. Dodamo približno 1 g natrijevega klorida (3.5), ohladimo in oborimo alkaloidne v raztopini silikovolframove kisline (3.6). Z mehanskim mešalnikom mešamo trideset minut. Pustimo čez noč, da se poleže, filtriramo s filtrom brez pepela in oborino dvakrat zaporedoma speremo s po 10 ml in dvakrat s po 5 ml klorovodikove kisline (3.4). Filter z oborino postavimo v žarilni lonček in upepelimo pri 900 °C. Pustimo, da se ohladi in stehtamo.

6. Izračun rezultata

Količino alkaloidov v vzorcu dobimo z množenjem teže pepela s faktorjem 0,2.

Izrazimo rezultat v odstotkih vzorca.

16. OCENA AKTIVNOSTI UREAZE V IZDELKIH IZ SOJE

1. Namen in področje uporabe

Z opisanim preskusom ocenimo aktivnost ureaze v izdelkih iz soje in pokažemo, ali so bili takšni proizvodi dovolj dolgo kuhani.

2. Princip

Aktivnost ureaze ocenjujemo s količino amoniakovega dušika, ki se sprosti iz 1 g izdelka na minuto pri 30 °C iz raztopine sečnine.

3. Reagenti

3.1 Klorovodikova kislina 0,1 N.

3.2 Raztopina natrijevega hidroksida 0,1 N.

3.3 Adsorbirno sredstvo iz fosfata 0,05 M, ki v 1000 ml vsebuje 4,45 g dinatrijevega fosfata ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) in 3,40 g monokalijevega fosfata (KH_2PO_4).

3.4 Sveže pripravljeno adsorbirno sredstvo iz sečnine, ki vsebuje 30,0 g sečnine na 1000 ml adsorbirnega sredstva (3.3); pH 6,9-7,0.

4. Oprema

4.1 Aparat za potenciometrično titracijo ali zelo občutljiv pH-meter (0,02 pH) z magnetnim mešalnikom.

4.2 Vodna kopel s termostatom, nastavljenim na točno 30 °C.

4.3 Epruvete z brušenimi zamaški, 150 × 18 mm.

5. Postopek

Približno 10 g vzorca zdrobimo (npr. v kavnem mlinčku) tako, da delci preidejo skozi sito z odprtini 0,2 mm. Natehtamo 0,2 g zdrobljenega vzorca s točnostjo 1 mg, prenesemo v epruveto z brušenim zamaškom in dodamo 10 ml adsorbirnega sredstva iz sečnine (3.4). Takoj zamašimo in dobro pretresemo. Epruvete postavimo v vodno kopel pri točno 30 °C in jih v njej pustimo točno trideset minut. Hitro dodamo 10 ml 0,1 N klorovodikove kisline (3.1), hitro ohladimo na 20 °C in kvantitativno prenesemo vsebino epruvete v posodo za titracijo z dvakratnim spiranjem s po 5 ml vode. S stekleno elektrodo (4.1) nemudoma in hitro elektrometrično titriramo do pH 4,7 z raztopino natrijevega hidroksida 0,1 N (3.2).

Opravimo slepi preskus, kakor sledi:

V epruveto z brušenim zamaškom hitro prenesemo 0,2 g vzorca, natehtanega s točnostjo 1 mg, dodamo 10 ml klorovodikove kisline 0,1 N (3.1) in nato 10 ml adsorbirnega sredstva iz sečnine (3.4). Nemudoma ohladimo epruveto v ledeno mrzli vodi in pustimo trideset minut. Pod zgoraj navedenimi pogoji prenesemo vsebino epruvete v posodo za titracijo z uporabo raztopine natrijevega hidroksida 0,1 N (3.2) do pH 4,7.

6. Izračun

Aktivnost ureaze izračunamo z naslednjo formulo:

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

pri čemer je:

- a = ml raztopine natrijevega hidroksida 0,1 N, ki ga je porabil vzorec,
- b = ml raztopine natrijevega hidroksida 0,1 N, ki ga je porabil slepi preskus,
- E = masa vzorca v gramih.

7. Opomba

- 7.1 Ta metoda je primerna za aktivnost ureaze do 1 mg N/g/min pri 30 °C. Za aktivnejše proizvode lahko velikost vzorca zmanjšamo na 50 mg.
 - 7.2 Proizvode, ki vsebujejo več kakor 10 % surovih maščobnih snovi, moramo najprej hladno razmastiti.
-