

371L0250

12.7.71

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS OFFICIELLA TIDNING

Nr L 155/13

KOMMISSIONENS FÖRSTA DIREKTIV

av den 15 juni 1971

om gemenskapsmetoder för analys vid den officiella foderkontrollen

(71/250/EEG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR ANTAGIT DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska ekonomiska gemenskapen, med beaktande av rådets direktiv av den 20 juli 1970 om införande av gemenskapsmetoder för provtagning och analys vid den officiella foderkontrollen⁽¹⁾, särskilt artikel 2 i detta, och med beaktande av följande:

I det ovan nämnda direktivet krävs att officiell foderkontroll skall utföras med användning av gemenskapsmetoder för provtagning och analys i syfte att kontrollera att fodret motsvarar de krav som framgår av bestämmelser i lagar och andra författningar beträffande foders kvalitet och sammansättning.

Alla nödvändiga analysmetoder bör fastställas snarast möjligt. Ett första steg i detta arbete är att fastställa metoder för bestämning av cyanvätesyra, kalcium, karbonater, aska, aska som inte är löslig i HCl, klor från klorider, senapsolja, laktos, kalium, natrium, sockerarter, teobromin och urea samt bestämning av alkaloider i lupiner och bestämning av ureasaktivitet i produkter som framställs av soja.

De åtgärder som beslutas om i detta direktiv är förenliga med Ständiga foderkommitténs yttrande.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Medlemsstaterna skall kräva att analyser vid officiell foderkontroll skall utföras med de metoder som anges i bilagan till detta direktiv när det gäller halter av cyanvätesyra, kalcium, karbonater, aska, aska som är olöslig i HCl, klor från klorider, senapsolja, laktos, kalium, natrium, sockerarter, teobromin och urea samt bestämning av alkaloider i lupiner och bestämning av ureasaktivitet i produkter som framställs av soja.

Artikel 2

Medlemsstaterna skall sätta i kraft de lagar och andra författningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv senast den 1 juli 1972. De skall genast underrätta kommissionen om detta.

Artikel 3

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 15 juni 1971.

På kommissionens vägnar

Franco M. MALFATTI

Ordförande

⁽¹⁾ EGT nr L 170, 3.8.1970, s. 2.

BILAGA

ANALYMETODER FÖR BESTÅNDSDELAR I FODER

1. INLEDNING

I allmänhet kan analysmetoder för beståndsdelar i foder tillämpas på alla oblandade foder och foderblandningar. Vissa foder kräver dock särskilda analysmetoder på grund av sin specifika sammansättning. Sådana fall finns behandlade i metodbeskrivningarna under rubriken "anmärkningar".

Om två eller flera metoder kan användas för att bestämma en beståndsdel i foder skall, om inte annat anges, det berörda provningslaboratoriet välja metod. Dock måste det anges i analysintyget vilken metod som har använts.

Förberedande av provet för analys

Det är *av största vikt* att den kemiska analysen utförs på ett *homogent prov*. Det bör dock vara möjligt att utföra vissa makroskopiska eller mikroskopiska bestämningar och även bestämning av vattenhalt på provet i det skick det är i då det når laboratoriet. För att dessa båda krav skall kunna uppfyllas *skall provet delas i två delar. En del skall användas i befintligt skick; den andra delen skall prepareras enligt följande för den kemiska analysen.*

Dela provet med mekanisk apparatur eller för hand efter att först noggrant ha blandat hela provet på en ren och torr yta. I det senare fallet är det tillrådligt att göra en uppdelning i fyra delar och att växelvis ta prover från två motsatt belägna sektioner av provet. Ta slutligen undan för analys en del som väger cirka 100 g och krossa den, om så behövs, så att hela provet kan passera genom ett rundmaskigt 1 mm-såll. Flytta omedelbart provet till en torr lufttät behållare och förseгла denna.

Om provet är mycket fuktigt måste det först torkas så att vattenhalten nedbringas till mellan 8 och 12 %. För att uppnå detta torkas provet vid lämplig temperatur under tillräcklig tid.

Reagens och utrustning

Endast speciella instrument och apparater eller sådana som skall motsvara särskild standard nämns i beskrivningen av analysmetoderna. Det har inte ansetts nödvändigt att nämna alla apparater och instrument som är normalutrustning på provningslaboratorier.

Med vatten avses alltid *destillerat vatten* då det nämns i samband med utspädning eller sköljning. Likaså menas, om inte annat anges, en *lösning i destillerat vatten* då en *lösning* av en reagens nämns.

Redovisning av resultat

Det resultat som lämnas i analysintyget skall vara medelvärde av minst två prov. Om inte annat följer av särskilda bestämmelser skall det uttryckas i procent av det ursprungliga provet i det skick det var i då det kom till laboratoriet. Resultatet får inte ges med större noggrannhet än vad analysmetodens tillförlitlighet medger.

2. BESTÄMNING AV CYANVÄTESYRA

1. Syfte och räckvidd

Denna metod gör det möjligt att bestämma halten av cyanvätesyra, fri eller ingående i glukosider, i foder, särskilt i produkter som framställs av linfrö, maniokmjöl och vissa bönsorter.

2. Princip

Framställ en suspension av provet i vatten. Cyanvätesyran frigörs genom inverkan av enzymer, fångas upp genom vattenångdestillation och samlas upp i en fastställd volym surgjord silvernitratlösning. Silvercyaniden separeras genom filtrering och överskottet silvernitrattitreras med en ammoniumtiocyanatlösning.

3. Reagens

3.1 Sötmandelsuspension: krossa tjugo skållade sötmandlar i 100 ml vatten vid 37–40 °C. Kontrollera att det inte finns någon cyanvätesyra i 10 ml av suspensionen med hjälp av natriumpikrot-papper eller genom det blankprov som beskrivs i punkt 5 sista stycket.

3.2 10 % (viktprocent) fenolftaleinneutral natriumacetatlösning.

3.3 Löddringshämmande emulsion (t.ex. silikon).

3.4 Salpetersyra, d: 1,40.

3.5 Silvernitratlösning: 0,02 N.

3.6 Ammoniumtiocyanatlösning: 0,02 N.

3.7 Mättad ammoniumjärnsulfatlösning.

3.8 Ammoniak, d: 0,958.

4. Utrustning

4.1 Ugn med termostaten inställd på 38 °C.

4.2 Destillationsapparat för uppfångning i vattenånga utrustad med en kylare med böjt förlängningsstycke.

4.3 Flatbottnade 1000 ml kolvar med proppar av matterat glas.

4.4 Oljebad.

4.5 Byrett graderad 1/20 ml.

5. Utförande

Väg upp 20 g av provet med högst 5 mg avvikelse, placera detta i en enliters flatbottnad kolv och tillsätt 50 ml vatten och 10 ml sötmandelsuspension (3.1). Tillslut kolven och placera den i ugnen under sexton timmar vid 38 °C. Kyl därefter till rumstemperatur och tillsätt 80 ml vatten, 10 ml natriumacetatlösning (3.2) och en droppe löddringshämmande emulsion (3.3).

Anslut kolven till ångdestillationsapparaten och placera den i ett oljebad som först har upphettats till något över 100 °C. Destillera mellan 200 och 300 ml vätska genom att sända en kraftig ström vattenånga genom kolven och försiktigt hetta upp oljebadet. Samla destillatet i en Erlenmeyerkolv som skyddas från ljus och som innehåller exakt 50 ml silvernitratlösning 0,02 N (3.5) och 1 ml salpetersyra (3.4). Se till att kylarens förlängningsstycke är nedsänkt i silvernitratlösningen.

Flytta innehållet i Erlenmeyerkolven till en 500 ml mätkolv, tillsätt vatten så att kolven fylls, rör om och filtrera. Avlägsna 250 ml av filtratet, tillsätt cirka 1 ml ammoniumjärnsulfatlösning (3.7) och sluttitrera överskottet silvernitratt med ammoniumtiocyanatlösning 0,02 N (3.6) som tas från den 1/20 ml-graderade byretten.

Ett blankprov kan, om så krävs, utföras genom att samma metod används på 10 ml av sötmandelsuspensionen (3.1) med uteslutande av det prov som skall analyseras.

6. Resultatberäkning

Om blankprovet visar att silvernitratlösning 0,02 N har förbrukats skall den förbrukade lösningens värde subtraheras från den volym som förbrukats av provdestillatet. 1 ml AgNO_3 0,02 N motsvarar 0,54 mg HCN. Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkning

Om provet innehåller en stor mängd sulfider (t.ex. bönor) bildas en svart silverfällning som filtreras tillsammans med silvercyanidfällningen. Genom denna utfällning orsakas en förlust av silvernitratlösning 0,02 N och denna förlorade volym måste subtraheras från den volym som används för att beräkna HCN-halten. Detta görs på följande sätt:

Behandla den fällning som finns kvar på filtret med 50 ml ammoniak (3.8) så att silvercyaniden upplöses. Skölj återstoden med utspädd ammoniak och fastställ därefter silverhalten. Omvandla det erhållna värdet till ml silvernitratlösning 0,02 N.

Provets HCN-halt kan också bestämmas genom att det surgjorda ammoniakfiltratet titreras med salpetersyra.

3. BESTÄMNING AV KALCIUM

1. Syfte och räckvidd

Genom denna metod kan den totala kalciumhalten i foder bestämmas.

2. Princip

Kalciumet föraskas, askan behandlas med saltsyra och kalciumet utfälls som kalciumoxalat. Upplös fällningen i svavelsyra och titrera oxalsyran som bildas med en kaliumpermanganatlösning.

3. Reagens

3.1 Saltsyra pa, d: 1,14.

3.2 Salpetersyra pa, d: 1,40.

3.3 Svavelsyra pa, d: 1,13.

3.4 Ammoniak pa, d: 0,98.

3.5 Kall mättad ammoniumoxalatlösning pa.

3.6 30-procentig citronsyrelösning (viktprocent) pa.

3.7 5-procentig ammoniumkloridlösning (viktprocent) pa.

3.8 0,04-procentig lösning (viktprocent) av bromkresolgrönt.

3.9 Kaliumpermanganatlösning 0,1 N.

4. Utrustning

4.1 Elektrisk muffelugn med luftcirkulation och termostat.

4.2 Platina-, kisel- eller porslinsdeglar för föraskning.

4.3 Glasfilterdeglar med porositet G₄.

5. Utförande

Väg upp cirka 5 g av provet (eller mer om så är nödvändigt) med en noggrannhet av 1 mg, kalcinera vid 550 °C och flytta askan till en 250 ml glasbägare.

Tillsätt 40 ml saltsyra (3.1), 60 ml vatten och några droppar salpetersyra (3.2). Koka upp och behåll vid kokpunkten under trettio minuter. Kyl lösningen och flytta den till ett 250 ml mätglas. Skölj, fyll på vatten upp till märket, homogenisera och filtrera.

Flytta med pipett en mängd som innehåller 10–40 mg kalcium enligt den antagna kalciumhalten till en 250 ml glasbägare. Tillsätt 1 ml citronsyrelösning (3.6) och 5 ml ammoniumkloridlösning (3.7).

Tillsätt vatten upp till cirka 100 ml volym. Koka upp, tillsätt 8–10 droppar lösning av bromkresolgrönt (3.8) och 30 ml varm ammoniumoxalatlösning (3.5). Om en fällning bildas, löses den upp genom att några droppar saltsyra (3.1) tillsätts.

Neutralisera mycket långsamt med ammoniak (3.4) under ständig omrörning tills ett pH-värde av 4,4–4,6 uppnås (d.v.s. när indikatorn ändrar färg). Placera bägaren i kokande vattenbad under trettio minuter så att den fällning som bildats sedimenteras. Avlägsna bägaren från vattenbadet. Låt den stå en timme och filtrera därefter genom en G₄ filterdegel.

Tvätta bägaren och degeln med vatten tills överskottet ammoniumoxalat helt har avlägsnats (frånvaro av klor i tvättvattnet indikerar att de är tillräckligt tvättade).

Lös upp fällningen på filtret i 50 ml varm svavelsyra (3.3). Skölj degeln med varmvatten och mät upp cirka 100 ml av filtratet. Öka temperaturen till 70–80 °C och titrera droppvis med en kaliumpermananganatlösning (3.9) tills en skär färg erhålls som varar i en minut.

6. Resultatberäkning

1 ml kaliumpermanganat 0,1 N motsvarar 2,004 mg kalcium. Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkningar

7.1. Vid mycket låga kalciumhalter förfars på följande sätt: filtrera kalciumoxalatfällningen genom ett askfritt filterpapper. Torka filtret efter sköljning och föraska vid 550 °C i en platinadegel. Lös åter upp återstoden i några droppar svavelsyra (3.3), låt dunsta tills den är torr, kalcinera igen vid 550 °C och väg. Om W är det erhållna kalciumsulfatets vikt är kalciumhalten i den mängd som tagits för provet = $W \times 0,2944$.

7.2. Om provet endast består av mineralämnen löses det upp i saltsyra utan att först föraskas. I fråga om produkter som t.ex. kalcium-aluminiumfosfat som är svårösliga i syra smälts provet på följande sätt genom en alkaliprocess innan det upplöses: blanda omsorgsfullt det prov som skall analyseras i en platinadegel med en blandning av lika mängder kaliumkarbonat och natriumkarbonat med tillsammans fem gånger högre vikt än provet. Upphetta försiktigt tills blandningen har smält helt och hållet. Kyl ned och lös upp i saltsyra.

7.3. Om provets magnesiumhalt är hög, låt kalciumoxalatet utfällas ytterligare en gång.

4. BESTÄMNING AV KARBONATER

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan mängden karbonater, konventionellt uttryckt som kalciumkarbonat, bestämmas i de flesta foder. I vissa fall (t.ex. järnkarbonat) måste dock en särskild metod användas.

2. Princip

Karbonaterna sönderdelas i saltsyra. Den koldioxid som frigörs samlas upp i ett mätglas, och dess volym jämförs med den som under samma förhållanden frigörs av en känd mängd kalciumkarbonat pa.

3. Reagens

3.1 Saltsyra, d: 1,10.

3.2 Kalciumkarbonat, pa.

3.3 Svavelsyra, cirka 0,1 N, färgad med metylrött.

4. Utrustning

Scheibler-Dietrichapparat (se översiktsbild) eller motsvarande.

5. Utförande

Väg upp en del av provet som beroende på dess karbonathalt skall vara

0,5 g för produkter som innehåller mellan 50 och 100 % karbonater, uttryckt som kalciumkarbonat,

1 g för produkter som innehåller mellan 40 och 50 % karbonater, uttryckt som kalciumkarbonat,

2-3 g för övriga produkter.

Placera denna del av provet i apparatens specialkolv (4), som är utrustad med ett litet rör av okrossbart material som innehåller 10 ml saltsyra (3.1) och anslut kolven till apparaten. Vrid trevägskranen (5) så att röret (1) öppnas. Ställ in vätskenivån på nollmarkeringen med hjälp av det flyttbara röret (2) som är fyllt med färgad svavelsyra (3.3) och anslutet till mätglaset (1). Vrid kranen (5) så att rören (1) och (2) förbinds och kontrollera att nivån är noll.

Luta kolven (4) så att saltsyran (3.1) sprids långsamt över provet. Jämna ut trycket genom att sänka röret (2). Skaka kolven (4) tills ingen koldioxid längre frigörs.

Återställ trycket genom att justera tillbaka vätskenivån till den ursprungliga i rören (1) och (2). Avläs efter *några minuter* när gasvolymen har blivit konstant.

Utför ett kontrolltest under samma förhållanden med 0,5 g kalciumkarbonat (3.2).

6. Resultatberäkning

Karbonathalten i gram, uttryckt som kalciumkarbonat, i procent av provet beräknas med följande formel:

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

där:

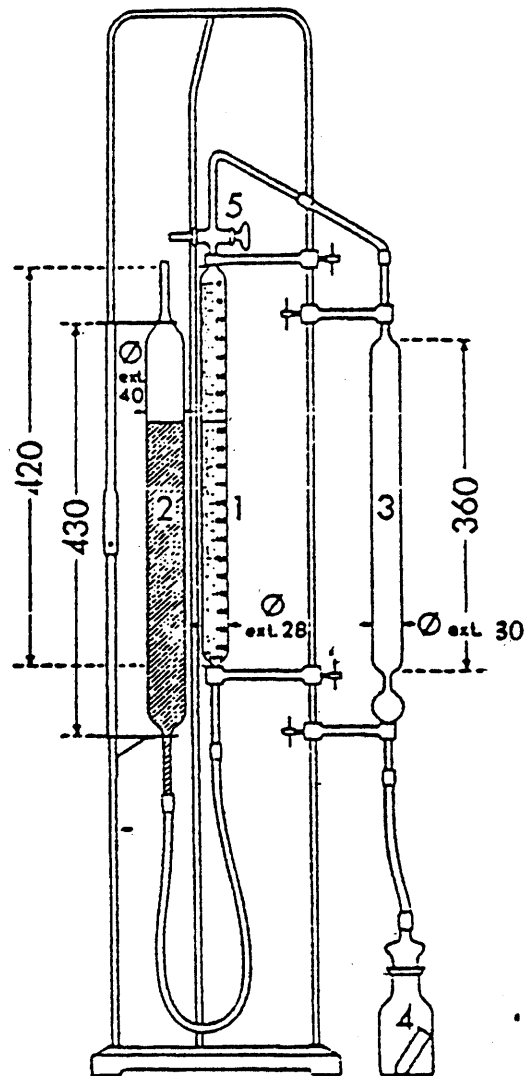
V = ml CO₂ som frigörs av den föreskrivna mängden av provet

T = ml CO₂ som frigörs av 0,5 g CaCO₃ pa

W = provets vikt i gram

7. Anmärkningar

- 7.1 Om den del av provet som används väger mer än 2 g skall först 15 ml destillerat vatten hällas i kolven (4) och blandas med provet innan försöket påbörjas. Använd samma volym vatten vid kontrolltestet.
- 7.2 Om den apparat som används har andra dimensioner än Scheibler-Dietrichapparaten måste man göra motsvarande ändringar av det använda provets och kontrollsubstansens mängd samt vid resultatberäkningen.

SCHEIBLER-DIETRICHAPPARAT FÖR BESTÄMNING AV CO₂

Skala 1:8
(mått i mm)

5. BESTÄMNING AV ASKA

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan halten aska i foder fastställas.

2. Princip

Provet föraskas vid 550 °C. Återstoden vägs.

3. Reagens

20-procentig ammoniumnitratlösning (viktprocent).

4. Utrustning

4.1 Värmeplatta.

4.2 Elektrisk muffelugn med termostat.

4.3 Deglar för föraskning gjorda av platina eller platina-guldlegering (10 % Pt, 90 % Au), rektangulära (60 × 40 × 25 mm) eller cirkelformade (diameter: 60–75 mm, höjd: 20–25 mm).

5. Utförande

Väg upp cirka 5 g av provet med en noggrannhet av 1 mg (2,5 g för produkter som har benägenhet att svälla) och placera detta i en föraskningsdegel som först har kalcinerats och tarerats. Placera degeln på värmeplattan och upphetta gradvis tills substansen förkolnar. Placera degeln i muffelugnen som skall vara inställd på 550 °C ± 5 °C. Behåll provet vid denna temperatur tills en vit, ljusgrå eller rödaktig aska bildas som förefaller fri från kolhaltiga partiklar. Placera degeln i en torkapparat, låt kallna och väg omedelbart.

6. Resultatberäkning

Beräkna återstodens vikt med tarans vikt från dragen.

Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkningar

7.1 Askans av *ämnen som är svåra att föraska* måste först föraskas under minst tre timmar, kylas och sedan tillsättas några droppar 20-procentig ammoniumnitratlösning (försiktigt så att inte askan sprids eller klumpar bildas). Fortsätt kalcineringen efter torkning i ugn. Upprepa förfarandet så många gånger som behövs tills föraskningen är fullständig.

7.2 I fråga om substanser som är resistent mot det förfarande som beskrivs i 7.1 förfars på följande sätt: efter föraskning under tre timmar hålls askan i varmvatten och filtreras genom ett litet askfritt filter. Föraska filtret och dess innehåll i den ursprungliga degeln. Placera filtratet i den kylda degeln, låt dunsta tills det är torrt, föraska och väg filtratet.

7.3 I fråga om *oljor och fetter*: väg noggrant upp ett prov på cirka 25 g i en degel av lämplig storlek. Förkolna genom att tända substansen med en remsa askfritt filterpapper. Fukta efter förbränning med minsta möjliga mängd vatten. Torka och föraska enligt beskrivningen i punkt 5.

6. BESTÄMNING AV ASKA SOM ÄR OLÖSLIG I SALTSYRA

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan halten i foder av mineralämnen som är olösliga i saltsyra bestämmas. Två metoder kan användas beroende på provets art.

1.1 *Metod A:* tillämpas på oblandade organiska foder och på de flesta foderblandningar.

1.2 *Metod B:* tillämpas på mineralfoder och mineralfoderblandningar och på foderblandningar vilkas halt av ämnen som är olösliga i saltsyra överstiger 1 % enligt bestämning med metod A.

2. Princip

2.1 *Metod A:* provet föraskas, askan kokas i saltsyra och det olösliga överskottet filtreras och vägs.

2.2 *Metod B:* provet behandlas med saltsyra. Lösningen filtreras, filtratet föraskas och den aska som erhålls behandlas med metod A.

3. Reagens

3.1 Saltsyra 3 N.

3.2 20-procentig triklorättiksyra (viktpocent).

3.3 1-procentig triklorättiksyra (viktpocent).

4. Utrustning

4.1 Värmeplatta.

4.2 Elektrisk muffelugn med termostat.

4.3 Deglar för föraskning gjorda av platina eller platina-guldlegering (10 % Pt, 90 % Au), rektangulära (60 × 40 × 25 mm) eller cirkelformade (diameter: 60–75 mm, höjd: 20–25 mm).

5. Utförande

5.1 *Metod A:*

Föraska provet med samma metod som den som beskrivits för bestämning av aska. Aska som erhållits vid denna analys kan också användas.

Placera askan i en 250–400 ml bägare med 75 ml saltsyra 3 N (3.1). Koka upp långsamt och låt koka sakta under femton minuter. Filtrera den varma lösningen genom ett askfritt filterpapper och skölj återstoden med varmvatten tills ingen syrareaktion längre är märkbar. Torka filtret med återstoden och föraska i en tarerad degel vid lägst 550 °C och högst 700 °C. Kyl i exsickator och väg.

5.2 *Metod B:*

Väg upp 5 g av provet med en noggrannhet av 1 mg och placera det i en 250–400 ml bägare. Tillsätt 25 ml vatten och därefter 25 ml saltsyra 3 N (3.1), blanda och vänta tills blandningen upphör att sjuda. Tillsätt ytterligare 50 ml saltsyra 3 N (3.1). Vänta tills ingen gas frigörs och placera sedan bägaren i kokande vattenbad under trettio minuter eller längre så att eventuell stärkelse hydrolyseras ordentligt.

Filtrera den fortfarande varma lösningen genom ett askfritt filter och tvätta filtret i 50 ml varmt vatten (se 7). Placera filtret med filtratet i en degel för föraskning, torka och föraska vid en temperatur av lägst 550 °C och högst 700 °C. Lägg askan i en 250–400 ml bägare med 75 ml saltsyra 3 N (3.1). Fortsätt så som beskrivs i punkt 5.1 andra stycket.

6. Resultatberäkning

Beräkna återstodens vikt med taran från dragen. Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkning

Om filtreringen visar sig svår att genomföra, skall analysen påbörjas på nytt varvid de 50 ml saltsyra 3 N (3.1) ersätts med 50 ml 20-procentig triklorättiksyra (3.2) och filtret sköljs med en varm 1-procentig triklorättiksyrelösning (3.3).

7. BESTÄMNING AV KLOR I KLORIDER

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan mängden klor i vattenlösliga klorider, konventionellt uttryckt som natriumklorid, bestämmas. Metoden kan användas på alla foder.

2. Princip

Kloriderna löses upp i vatten. Om produkten innehåller organisk materia skall den renas. Lösningen surgörs något med salpetersyra och kloriderna fälls ut i form av silverklorid genom tillsats av en silvernitratlösning. Överskottet silvernitrattitreras med en ammoniumtiocyanatlösning med Volhard-metoden.

3. Reagens

3.1 Ammoniumtiocyanatlösning 0,1 N.

3.2 Silvernitratlösning 0,1 N.

3.3 Mättad ammoniumjärnsulfatlösning.

3.4 Salpetersyra, d: 1,38.

3.5 Dietyleter pa.

3.6 Aceton pa.

3.7 Carrez-lösning I: lös upp 24 g zinkacetat, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ och 3 g isättika i vatten. Tillsätt vatten upp till 100 ml.

3.8 Carrez-lösning II: lös upp 10,6 g kaliumferrocyanid, $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$, i vatten. Tillsätt vatten upp till 100 ml.

3.9 Aktivt kol pa, fritt från klorider och inte kloridabsorberande.

4. Utrustning

Blandare (tumlare): ungefär 35 till 40 varv i minuten.

5. Utförande

5.1 Beredning av lösningen

Beroende på provets art bereds en lösning enligt 5.1.1, 5.1.2 eller 5.1.3.

Utför samtidigt ett blankprov utan det prov som skall analyseras.

5.1.1 *Prov som är fria från organisk materia*

Väg med en noggrannhet av 1 mg upp ett prov på högst 10 g som innehåller högst 3 g klor i kloridform. Placera det tillsammans med 400 ml vatten i en 500 ml mätkolv vid cirka 20 °C. Blanda i tumlaren under trettio minuter, fyll på till full volym, homogenisera och filtrera.

5.1.2 *Prov som innehåller organisk materia med undantag av produkterna i 5.1.3*

Väg med en noggrannhet av 1 mg upp 5 g av provet och placera det tillsammans med 1 g aktivt kol i en 500 ml mätkolv. Tillsätt 400 ml vatten (cirka 20 °C) och 5 ml Carrez-lösning I (3.7), rör om och tillsätt därefter 5 ml Carrez-lösning II (3.8). Blanda i tumlaren under trettio minuter, fyll på till full volym, homogenisera och filtrera.

5.1.3 *Kokt foder, linfrökakor och linfrömjöl, produkter med hög halt linfrömjöl och andra produkter med hög halt mucilago eller kolloider (till exempel dextrinerad stärkelse)*

Bered lösningen enligt beskrivningen i 5.1.2 men filtrera inte. Dekantera (centrifugera om så är nödvändigt), avlägsna 100 ml av dekanteringsvätskan (supernatanten) och flytta detta till en 200 ml mätkolv. Blanda med aceton (3.6) och fyll på detta lösningsmedel till full volym, homogenisera och filtrera.

5.2 *Titring*

Flytta med en pipett 25–100 ml (beroende på den antagna klorhalten) av det filtrat som erhållits enligt beskrivningen i 5.1.1, 5.1.2 eller 5.1.3 till en Erlenmayerkolv. Analysprovet får inte innehålla mer än 150 mg klor (Cl). Späd om så är nödvändigt med vatten till minst 50 ml, tillsätt 5 ml salpetersyra (3.4), 20 ml mättad ammoniumjärnsulfatlösning (3.3) och två droppar ammoniumtiocyanatlösning (3.1) som tillförs med hjälp av en byrett som är fylld till nollmarkeringen. Tillför silvernitratlösningen (3.2) med en byrett så att ett överskott på 5 ml erhålls. Tillsätt 5 ml dietyleter (3.5) och skaka kraftigt så att fällningen koagulerar.

Titra överskottet silvernitratlösning med ammoniumtiocyanatlösningen (3.1) tills den rödbruna färgen har bestått i en minut.

6. **Resultatberäkning**

Mängden klor (w), uttryckt som natriumklorid, i den volym av filtratet som använts vid titreringen beräknas med följande formel:

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

där:

V_1 = tillsatt silvernitratlösning C-1 N i ml

V_2 = ammoniumtiocyanatlösning 0,1 N som använts vid titreringen i ml

Om blankprovet visar att silvernitratlösning 0,1 M har förbrukats skall detta värde dras från volymen ($V_1 - V_2$).

7. **Anmärkingar**

7.1 Titringen kan även utföras med potentiometer.

7.2 Produkter som är mycket rika på oljor och fetter skall först avfettas med dietyleter eller petroleumeter.

7.3 Vid analys av fiskmjöl kan titringen utföras med Mohrs metod.

8. BESTÄMNING AV SENAPSOLJA

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod är det möjligt att fastställa den mängd senapsolja som ingår i kakor som framställts av arter av *Brassica* och *Sinapis* samt i foderblandningar som innehåller kakor av sådana arter, och som kan uppfångas i ånga som allylisotiocyanat.

2. Princip

Provet slammas i vatten. Senapsoljan frigörs genom enzymverkan, fångas upp genom destillering med etanol och samlas in i utspädd ammoniak. Lösningen behandlas medan den fortfarande är varm med en given volym silvernitratlösning, varefter den kyls och filtreras. Överskottet silvernitrattitreras med en ammoniumtiocyanatlösning.

3. Reagens

- 3.1 Vit senap (*Sinapis alba*).
- 3.2 95- till 96-procentig etanol (volymprocent).
- 3.3 Löddringshämmande emulsion (t.ex. silikon).
- 3.4 Ammoniak, d: 0,958.
- 3.5 Silvernitratlösning 0,1 N.
- 3.6 Ammoniumtiocyanatlösning 0,1 N.
- 3.7 Salpetersyra, d: 1,40.
- 3.8 Mättad ammoniumjärnsulfatlösning.

4. Utrustning

- 4.1 Flatbottnade 500 ml kolvar med proppar av matterat glas.
- 4.2 Destillationsapparat med kylare och utrustning för att förhindra uppfångande av droppar.

5. Utförande

Väg upp 10 g av provet med en noggrannhet av 1 mg, placera det i en 500 ml flatbottnad kolv och tillsätt 2 g finmalen vit senap (3.1) (en enzymkälla) och 200 ml vatten med temperaturen 20 °C. Slut till kolven med en propp och förvara vid 20 °C under cirka två timmar och skaka om med täta mellanrum. Tillsätt 40 ml etanol (3.2) och en droppe löddringshämmande emulsion (3.3). Destillera cirka 150 ml och samla upp destillatet i en 250 ml mätkolv som innehåller 20 ml ammoniak (3.4) och kontrollera samtidigt att kylarens slutstycke är nedsänkt i vätskan. Tillsätt 50 ml silvernitratlösning 0,1 N (3.5) (eller mer om så är nödvändigt) till ammoniaklösningen, placera en liten tratt över mätkolven och hetta upp blandningen över kokande vattenbad under en timme. Låt svalna, fyll på vatten till full volym, rör om och filtrera. Avlägsna 100 ml av det klara filtratet, tillsätt 5 ml salpetersyra (3.7) och cirka 5 ml ammoniumjärnsulfatlösning (3.8). Sluttitrera överskottet silvernitratt med ammoniumtiocyanatlösningen 0,1 N (3.6).

Utför ett *blankprov* med samma metod på 2 g finmalen vit senap med uteslutande av analysprovet.

6. Resultatberäkning

Dra den volym silvernitratlösning 0,1 N som förbrukas i blankprovet från den volym som förbrukas av det upplösta provet. Det erhållna värdet anger antalet ml silvernitratlösning 0,1 N som förbrukas av senapsoljan i provet. 1 ml AgNO₃ 0,1 N motsvarar 4,956 mg allylisotiocyanat. Uttryck resultatet i procent av provet.

9. BESTÄMNING AV LAKTOS

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan laktoshalten bestämmas i foder som innehåller mer än 0,5 % laktos.

2. Princip

Socketarterna löses upp i vatten. Lösningen sätts under jäsning med hjälp av jästen *Saccharomyces cerevisiae* som lämnar laktosen intakt. Efter klargörning och filtrering bestäms laktoshalten i filtratet med Luff-Schoorlmetoden.

3. Reagens

3.1 *Saccharomyces cerevisiae*-suspension: slamma 25 g färsk jäst i 100 ml vatten. Suspensionen håller sig högst en vecka i kylskåp.

3.2 Carrez-lösning I: lös upp 24 g zinkacetat $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ och 3 g isättika i vatten. Fyll på vatten till 100 ml.

3.3 Carrez-lösning II: lös upp 10,6 g kaliumferrocyanid $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ i vatten. Fyll på vatten till 100 ml.

3.4 Luff-Schoorlreagens:

Häll citronsyrelösningen (3.4.2) i natriumkarbonatlösningen (3.4.3) under noggrann omrörning. Tillsätt kopparsulfatlösningen (3.4.1) och fyll på vatten till 1 liter. Låt detta utvecklas över natten och filtrera. Kontrollera att den på detta sätt erhållna reagensen (Cu 0,1 N; Na_2CO_3 2N) har normala egenskaper. Lösningens pH skall vara cirka 9,4.

3.4.1 Kopparsulfatlösning: lös upp 25 g järnfritt kopparsulfat $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ i 100 ml vatten.

3.4.2 Citronsyrelösning: lös upp 50 g citronsyra $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ i 50 ml vatten.

3.4.3 Natriumkarbonatlösning: lös upp 143,8 g vattenfritt natriumkarbonat Na_2CO_3 i cirka 300 ml varmt vatten. Låt svalna.

3.5 Granulerad pimpsten som kokats i saltsyra, sköljts med vatten och torkats.

3.6 30-procentig natriumjodidlösning (viktprocent).

3.7 Svavelsyra 6 M.

3.8 Natriumtiosulfatlösning 0,1 N.

3.9 Stärkelselösning: tillsätt 5 g lösbar stärkelse uppblandad i 30 ml vatten till 1 liter kokande vatten. Koka i tre minuter, låt svalna och tillsätt, om så är nödvändigt, 10 mg kvicksilverjodid som konserveringsmedel.

4. Utrustning

Vattenbad med termostaten inställd på 38–40 °C.

5. Utförande

Väg upp 1 g av provet med en noggrannhet av 1 mg och placera denna del av provet i en 100 ml mätkolv. Tillsätt 25–30 ml vatten. Ställ kollen i kokande vattenbad under trettio minuter och kyl sedan till cirka 35 °C. Tillsätt 5 ml jästsuspension (3.1) och homogenisera. Låt kollen stå i vattenbad under två timmar vid en temperatur av 38–40 °C. Kyl till cirka 20 °C.

Tillsätt 2,5 ml Carrez-lösning I (3.2), rör om under trettio sekunder och tillsätt sedan 2,5 ml Carrez-lösning II (3.3) och rör återigen om under trettio sekunder. Fyll på vatten till 100 ml, blanda och filtrera. Avlägsna med pipett högst 25 ml av filtratet som bör innehålla 40–80 mg laktos och flytta detta till en 300 ml Erlenmayerkolv. Fyll, om så är nödvändigt, på vatten till 25 ml.

Utför ett blankprov på samma sätt med 5 ml jästsuspension (3.1).

Fastställ laktoshalten enligt Luff-Schoorl på följande sätt: tillsätt exakt 25 ml Luff-Schoorlreagens (3.4) och två korn pimpsten (3.5). Rör om för hand medan innehållet hettas upp över medelstor öppen låga och låt vätskan koka under cirka två minuter. Placera omedelbart Erlenmayerkolven på ett asbestklätt trädnät med ett cirka 6 cm i diameter stort hål under vilket en låga är tänd. Lågan skall regleras så att endast Erlenmayerkolvens botten värms upp. Anslut en återloppskylare till Erlenmayerkolven. Låt koka under exakt tio minuter. Kyl omedelbart i kallt vatten och titrera efter cirka fem minuter på följande sätt:

Tillsätt 10 ml kaliumjodidlösning (3.6) och därefter (försiktigt, på grund av risken för kraftigt skum) 25 ml svavelsyra 6 M (3.7). Titrera med natriumtiosulfatlösning 0,1 N (3.8) tills en matt gul färg uppträder, tillsätt stärkelseindikatorn (3.9) och fullfölj titreringen.

Utför samma titrering på en noggrant uppmätt blandning av 25 ml Luff-Schoorlreagens (3.4) och 25 ml vatten efter tillsats av 10 ml kaliumjodidlösning (3.6) och 25 ml svavelsyra 6 M (3.7) utan kokning.

6. Resultatberäkning

Fastställ med hjälp av tabellen nedan den laktosmängd i mg som motsvarar skillnaden mellan resultaten av de båda titreringarna, uttryckt i ml natriumtiosulfat 0,1 N.

Uttryck resultatet som delar vattenfri laktos i procent av provet.

7. Anmärkning

För produkter som innehåller mer än 40 % jäsbart socker används mer än 5 ml jästsuspension (3.1).

Värdetabell för 25 ml Luff-Schoorlreagens

ml Na₂ S₂ O₃ 0,1 N, två minuters uppvärmning, tio minuters kokning

Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 M	Glukos, fruktos invertsocker C ₆ H ₁₂ O ₆		Laktos C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		Maltos C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 M
	ml	mg	skillnad	mg	skillnad	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	3,1	88,0		94,6		23

10. BESTÄMNING AV KALIUM

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan kaliumhalten bestämmas i foder.

2. Princip

Provet föraskas och askan löses upp i saltsyra. Natriumhalten i lösningen bestäms med flammfotometri under närvaro av cesiumklorid och aluminiumnitrat. Tillsatsen av dessa två ämnen eliminerar i stor utsträckning påverkan av störande element.

3. Reagens

3.1 Saltsyra pa, d: 1,12.

3.2 Cesiumklorid pa.

3.3 Aluminiumnitrat $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, allmänt reagensmedel.

3.4 Kaliumklorid pa, vattenfri.

3.5 Reagens: lös upp 50 g cesiumklorid (3.2) och 250 g aluminiumnitrat (3.3) i vatten, fyll på vatten till en liter och homogenisera. Lagra i plastflaskor.

3.6 Standardkaliumlösning: lös upp 1,907 g kaliumklorid (3.4) i vatten, tillsätt 5 ml saltsyra (3.1), fyll på vatten till en liter och homogenisera. Lagra i plastflaskor. 1 ml av denna lösning innehåller 1,00 mg kalium.

4. Utrustning

4.1 Platina-, kisel- eller porslinsdeglar för föraskning, försedda med lock, när så är nödvändigt.

4.2 Elektrisk muffelugn med termostat.

4.3 Flammfotometer.

5. Utförande

5.1 Analys av provet

Generellt skall 10 g av provet vägas upp med en noggrannhet av 10 mg, placeras i en degel och föraskas vid 450 °C under tre timmar. Efter avsvälning flyttas hela mängden aska till en 500 ml mätkolv tillsammans med 250–300 ml vatten och därefter 50 ml saltsyra (3.1). När ingen koldioxid längre avges, upphettas lösningen och förvaras vid cirka 90 °C i två timmar under omrörning då och då. Låt svalna till rumstemperatur, fyll upp till märket med vatten, skaka om och filtrera. Flytta en del av filtratet som innehåller högst 1,0 mg kalium till en 100 ml mätkolv, tillsätt 10,0 ml reagens (3.5), fyll på vatten till märket och homogenisera. Vid högre kaliumhalter skall den lösning som analyseras spädas ut i lämplig utsträckning innan reagensmedlet tillsätts.

Tabellen nedan ger riktlinjer för ett prov på cirka 10 g.

Provets uppskattade kaliumhalt (% K)	Utspädningsfaktor	Del av lösningen som används för analys, i ml
upp till 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

Mät med flammfotometri vid en våglängd av 768 nm. Beräkna resultatet med en kalibreringskurva.

5.2 Kalibreringskurva

Placera exakt 10 ml av standardlösningen (3.6) i en 250 ml mätkolv, fyll på vatten till märket och homogenisera. Placera exakt 5, 10, 15, 20 resp. 25 ml av denna lösning i 100 ml mätkolvar, vilket motsvarar kaliumhalter av 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 och 1,0 mg. Fullborda serien med en blankkolv som inte innehåller någon standardlösning. Tillsätt 10 ml reagens (3.5) i varje kolv, fyll på vatten till märket och homogenisera. Utför mätningarna så som anges i 5.1. Kalibreringskurvan är vanligen linjär upp till en kaliumhalt av 1 mg i 100 ml lösning.

6. Resultatberäkning

Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkning

Det är inte alltid nödvändigt att tillsätta reagens (3.5) för att eliminera påverkan av störande element.

11. BESTÄMNING AV NATRIUM

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan natriumhalten bestämmas i foder.

2. Princip

Provet föraskas och askan löses upp i saltsyra. Natriumhalten i lösningen bestäms med flamfotometri under närvaro av cesiumklorid och aluminiumnitrat. Tillsatsen av dessa två ämnen eliminerar i stor utsträckning påverkan av störande element.

3. Reagens

3.1 Saltsyra pa, d: 1,12.

3.2 Cesiumklorid pa.

3.3 Aluminiumnitrat $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, allmänt reagensmedel.

3.4 Natriumklorid pa, vattenfri.

3.5 Reagens: lös upp 50 g cesiumklorid (3.2) och 250 g aluminiumnitrat (3.3) i vatten, fyll på vatten till en liter och homogenisera. Lagra i plastflaskor.

3.6 Standardnatriumlösning: lös upp 2,542 g natriumklorid (3.4) i vatten, tillsätt 5 ml saltsyra (3.1), fyll på vatten till en liter och homogenisera. Lagra i plastflaskor. 1 ml av denna lösning innehåller 1,00 mg natrium.

4. Utrustning

4.1 Platina-, kisel- eller porslinsdeglar för föraskning, försedda med lock, när så är nödvändigt.

4.2 Elektrisk muffelugn med termostat.

4.3 Flamfotometer.

5. Utförande

5.1 Analys av provet

Generellt skall 10 g av provet vägas upp med en noggrannhet av 10 mg, placeras i en degel (4.2) och föraskas vid 450 °C under tre timmar. Undvik överhettning (antändning). Efter avsvälning flyttas hela mängden aska till en 500 ml mätkolv tillsammans med 250 till 300 ml vatten och därefter 50 ml saltsyra (3.1). När ingen koldioxid längre avges, upphettas lösningen och förvaras

vid cirka 90 °C i två timmar under omrörning då och då. Låt svalna till rumstemperatur, fyll på vatten till märket, skaka om och filtrera. Flytta en del av filtratet som innehåller högst 1,0 mg natrium till en 100 ml mätkolv, tillsätt 10,0 ml reagens (3.5), fyll på vatten till märket och homogenisera. Vid högre natriumhalter skall den lösning som analyseras spädas ut i lämplig utsträckning innan reagensmedlet tillsätts. Tabellen nedan ger riktlinjer för ett prov på cirka 10 g.

Provets uppskattade kaliumhalt (% K)	Utspädningsfaktor	Del av lösningen som används för analys, i ml
upp till 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

Mät med flamfotometri vid en våglängd av 589 nm. Beräkna resultatet med en kalibreringskurva.

5.2 Kalibreringskurva

Placera exakt 10 ml av standardlösningen (3.6) i en 250 ml mätkolv, fyll på vatten till märket och homogenisera. Placera exakt 5, 10, 15, 20 resp. 25 ml av denna lösning i 100 ml mätkolvar, vilket motsvarar natriumhalter av 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 och 1,0 mg. Fullborda serien med en blankkolv som inte innehåller någon standardlösning. Tillsätt 10 ml reagens (3.5) i varje kolv, fyll på vatten till märket och homogenisera. Utför mätningarna så som anges i 5.1. Kalibreringskurvan är vanligen linjär upp till en natriumhalt av 1 mg i 100 ml lösning.

6. Resultatberäkning

Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkningar

7.1 För produkter som innehåller mer än 4 % natrium är det lämpligast att föraska substansen under två timmar i en degel med lock. Efter avsvälning tillsätts vatten och askan slamas upp med platinatråd, torkas och föraskas på nytt under två timmar i den lockförsedda degeln.

7.2 Om provet endast består av mineralämnen löses det upp utan föregående föraskning.

12. BESTÄMNING AV SOCKER

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod är det möjligt att bestämma mängden reducerande socker och totalt socker efter invertering, uttryckt som glukos eller, om så är lämpligt, sackaros med omvandlingsfaktorn 0,95. Metoden skall tillämpas på foderblandningar. För andra typer av foder finns särskilda metoder. Om så är nödvändigt skall laktos beräknas separat och tas med i resultatberäkningen.

2. Princip

Sockerarterna extraheras i utspädd etanol. Lösningen görs klar med Carrez-lösning I och II. Efter det att etanolen eliminerats bestäms kvantiteterna före och efter invertering med Luff-Schoorlmetoden.

3. Reagens

- 3.1 40-procentig etanol (volymprocent) d: 0,948 vid 20 °C, neutraliserad till fenolftalein.
- 3.2 Carrez-lösning I: lös upp 24 g zinkacetat $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ och 3 g isättika i vatten. Fyll på vatten till 100 ml.
- 3.3 Carrez-lösning II: lös upp 10,6 g kaliumferrocyanid $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ i vatten. Fyll på vatten till 100 ml.
- 3.4 0,1-procentig metylorangelösning (viktprocent).
- 3.5 Saltsyra 4 N.
- 3.6 Saltsyra 0,1 N.
- 3.7 Natriumhydroxidlösning 0,1 N.
- 3.8 Luff-Schoorlreagens:

Häll citronsyrelösningen (3.8.2) i natriumkarbonatlösningen (3.8.3) under noggrann omrörning. Tillsätt kopparsulfatlösningen (3.8.1) och fyll på vatten till 1 liter. Låt detta utvecklas över natten och filtrera. Kontrollera att den på detta sätt erhållna reagensen (Cu 0,1 N; Na_2CO_3 2 N) har normala egenskaper. Lösningens pH skall vara cirka 9,4.

 - 3.8.1 Kopparsulfatlösning: lös upp 25 g järnfritt kopparsulfat på $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ i 100 ml vatten.
 - 3.8.2 Citronsyrelösning: lös upp 50 g citronsyra på $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ i 50 ml vatten.
 - 3.8.3 Natriumkarbonatlösning: lös upp 143,8 g vattenfritt natriumkarbonat på i cirka 300 ml varmt vatten. Låt svalna.
- 3.9 Natriumtiosulfatlösning 0,1 N.
- 3.10 Stärkelselösning: tillsätt 5 g lösbar stärkelse uppblandat i 30 ml vatten till 1 liter kokande vatten. Koka i tre minuter, låt svalna och tillsätt, om så är nödvändigt, 10 mg kvicksilverjodid som konserveringsmedel.
- 3.11 Svavelsyra 6 N.
- 3.12 30-procentig kaliumjodidlösning (viktprocent).
- 3.13 Granulerad pimpsten som kokats i saltsyra, sköljts med vatten och torkats.
- 3.14 3-metylbutan-1-ol.

4. Utrustning

Blandare (tumlare): cirka 35–40 varv i minuten.

5. Utförande

5.1 Extrahering av provet

Väg upp 2,5 g av provet med en noggrannhet av 1 mg och placera detta i en 250 ml mätkolv. Tillsätt 200 ml etanol (3.1) och blanda i tumlaren under en timme. Tillsätt 5 ml Carrez-lösning I (3.2) och rör om under en minut. Tillsätt 5 ml Carrez-lösning II (3.3) och rör på nytt om under en minut. Fyll på etanol (3.1) till full volym, homogenisera och filtrera. Ta undan 200 ml av filtratet och låt avdunsta till ungefär halv volym så att det mesta av etanolen elimineras. Flytta hela återstoden efter avdunstningen till en 200 ml mätkolv i varmvatten, kyl, fyll på vatten till full volym, homogenisera och filtrera om nödvändigt. Denna lösning används för att bestämma mängden reducerande socker och totalt socker efter invertering.

5.2 Bestämning av reducerande socker

Avlägsna med pipett högst 25 ml av lösningen med ett innehåll av mindre än 60 mg reducerande socker uttryckt som glukos. Fyll på destillerat vatten till 25 ml om så är nödvändigt, och bestäm halten reducerande socker med Luff-Schoorlmetoden. Resultatet uttrycks som den procentuella halten glukos i provet.

5.3 Bestämning av totalt socker efter invertering

Flytta med pipett 50 ml av lösningen till en 100 ml mätkolv. Tillsätt några droppar metylorangelösning (3.4) och därefter — försiktigt och under ständig omrörning — saltsyra 4 N (3.5) tills vätskan får en bestående röd färg. Tillsätt 15 ml saltsyra 0,1 N (3.6), sänk ned kolven i kraftigt kokande vattenbad och behåll den där under trettio minuter. Kyl hastigt till cirka 20 °C och tillsätt 15 ml natriumhydroxidlösning 0,1 N (3.7). Fyll på vatten till 100 ml och homogenisera. Avlägsna högst 25 ml av lösningen med ett innehåll av mindre än 60 mg reducerande socker uttryckt som glukos. Fyll på destillerat vatten till 25 ml om så är nödvändigt, och bestäm halten reducerande socker med Luff-Schoorlmetoden. Resultatet uttrycks som den procentuella halten glukos i provet eller, om så är lämpligt, sackaros, varvid multiplikatorn 0,95 skall användas.

5.4 Titring med Luff-Schoorlmetoden

Flytta med pipett 25 ml Luff-Schoorlreagens (3.8) till en 300 ml Erlenmayerkolv. Tillsätt exakt 25 ml av den klagjorda sockerlösningen. Tillsätt två korn pimpsten (3.13), hetta upp under omrörning för hand över medelstor öppen låga och låt vätskan koka under cirka två minuter. Placera omedelbart Erlenmayerkolven på ett asbestklätt trädnät med ett cirka 6 cm i diameter stort hål under vilket en låga är tänd. Lågan skall regleras så att endast Erlenmayerkolvens botten uppvärms. Anslut en återloppskylare till Erlenmayerkolven. Låt koka under exakt tio minuter. Kyl omedelbart i kallt vatten och titrera efter cirka fem minuter på följande sätt:

Tillsätt 10 ml kaliumjodidlösning (3.12) och omedelbart därefter (försiktigt, på grund av risken för kraftigt skum) 25 ml svavelsyra 6 N (3.11). Titrera med natriumtiosulfatlösning 0,1 N (3.9) tills en matt gul färg uppträder, tillsätt stärkelseindikatorn (3.10) och fullfölj titreringen.

Utför samma titring på en noggrant uppmätt blandning av 25 ml Luff-Schoorlreagens (3.8) och 25 ml vatten efter tillsats av 10 ml kaliumjodidlösning (3.12) och 25 ml svavelsyra 6 M (3.11) utan kokning.

6. Resultatberäkning

Fastställ med hjälp av tabellen nedan den glukosmängd i mg som motsvarar skillnaden mellan resultaten av de båda titringarna, uttryckt i mg natriumtiosulfat 0,1 N.

Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Särskilda metoder

7.1 Då det gäller foder som är rika på melass och andra foder som inte är särskilt homogena skall 20 g vägas upp och placeras med 500 ml vatten i en enliters mätkolv. Blanda i tumlaren under en timme. Gör lösningen klar med Carrez-reagens I (3.2) och Carrez-reagens II (3.3) enligt beskrivningen i 5.1 men med fyra gånger större mängd av varje reagens. Fyll på 80-procentig etanol (volymprocent) till full volym.

Homogenisera och filtera. Avlägsna etanolen enligt beskrivningen i 5.1. Om det inte finns någon dextrinerad stärkelse, tillsätts destillerat vatten till full volym.

7.2 Då det gäller melass och oblandade foder som är rika på socker och nästan stärkelsefria (johannesbröd, torkad betsnitsel o.s.v.), vägs 5 g upp och placeras i en 250 ml mätkolv, varefter 200 ml destillerat vatten tillsätts och lösningen blandas i tumlaren under en timme eller mer om så behövs. Gör lösningen klar med Carrez-reagens I (3.2) och Carrez-reagens II (3.3) enligt beskrivningen i 5.1. Tillsätt kallt vatten till full volym, homogenisera och filtera. Bestäm mängden totalt socker enligt beskrivningen i 5.3.

8. Anmärkningar

- 8.1 För att förhindra skumbildning är det lämpligt att tillsätta cirka 1 ml (oberoende av volymen) 3-metylbutan-1-ol (3.14) före uppkokning med Luff-Schoorlreagens.
- 8.2 Skillnaden mellan halten totalt socker efter invertering, uttryckt som glukos, och halten reducerande socker, uttryckt som glukos, multiplicerad med 0,95 ger den procentuella sackaroshalten.
- 8.3 För att bestämma halten reducerande socker med uteslutande av laktos kan två metoder användas:
- 8.3.1 För en ungefärlig beräkning multipliceras den laktoshalt, som fastställts med en annan analysmetod, med 0,675 och det erhållna resultatet dras från halten reducerande socker.
- 8.3.2 För en exakt beräkning av reducerande socker med uteslutande av laktos måste samma prov användas för de två slutliga mängdbestämningarna. Den ena analysen utförs på en del av den lösning som erhållits enligt 5.1 och den andra på en del av den lösning som erhållits vid bestämningen av laktos med den metod som fastställts för detta ändamål (efter det att de andra sockerarterna jästs och lösningen klarats).

I båda fallen bestäms mängden befintligt socker med Luff-Schoorlmetoden och beräknas i mg glukos. Det ena av värdena dras från det andra och skillnaden uttrycks i procent av provet.

Exempel

De två valda volymerna motsvarar vid varje bestämning ett prov på 250 mg.

I det första fallet förbrukas 17 ml natriumtiosulfatlösning 0,1 N, vilket motsvarar 44,2 mg glukos och i det andra 11 ml, vilket motsvarar 27,6 mg glukos.

Skillnaden är 16,6 mg glukos.

Halten reducerande socker (med uteslutande av laktos) beräknad som glukos är alltså:

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

Värdetabell för 25 ml Luff-Schoorlreagens

ml Na₂ S₂ O₃ 0,1 N, två minuters uppvärmning, tio minuters kokning
Na₂ S₂ O₃

ml Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 M	Glukos, fruktos invertsocker C ₆ H ₁₂ O ₆		Laktos C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		Maltos C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		ml Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 M
	mg	skillnad	mg	skillnad	mg	skillnad	
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. BESTÄMNING AV TEOBROMIN

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan mängden teobromin i biprodukter från processning av kakaoböner fastställas.

2. Princip

Teobrominet extraheras med kloroform. Extraktet får avdunsta tills det är torrt, löses upp i vatten och behandlas med en bestämd mängd silvernitratlösning. Den salpetersyra som frigörs titreras med natriumhydroxidlösning.

3. Reagens

3.1 Kloroform pa.

3.2 Ammoniak, d: 0,958.

3.3 Natriumsulfat pa, vattenfri.

3.4 Natriumhydroxidlösning 0,1 M.

3.5 Silvernitratlösning 0,1 M.

3.6 Enprocentig lösning av röd fenol i etanol (viktprocent).

3.7 Petroleumeter.

4. Utrustning

Flatbottnade 500 ml kolvar med proppar av matterat glas.

5. Utförande

Väg med en noggrannhet av 1 mg upp ett prov på högst 10 g som innehåller högst 80 mg teobromin, placera det i en 500 ml flatbottnad kolv med en propp av matterat glas och tillsätt 270 ml kloroform (3.1) och 10 ml ammoniak (3.2). Tillslut kolven och skaka den kraftigt under fem minuter. Tillsätt 12 g vattenfritt natriumsulfat (3.3), skaka på nytt och låt sedimentera till följande dag. Filtrera i en 500 ml Erlenmayerkolv och skölj återstoden med 100 ml kloroform (3.1). Destillera lösningsmedlet och avlägsna de sista resterna över kokande vattenbad. Lös på nytt upp extraktet i 50 ml vatten och koka upp.

Kyl, neutralisera exakt med natriumhydroxidlösningen (3.4) med hjälp av 0,5 ml röd fenollösning (3.6). Tillsätt 20 ml silvernitratlösning (3.5). Titra den salpetersyra som frigörs med natriumhydroxidlösning (3.4) tills indikatorn ändrar färg (pH 7,4).

6. Resultatberäkning

1 ml 0,1 M NaOH = 18 mg teobromin

Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkning

Produkter som innehåller över 8 % rå fettsubstans måste först avfettas genom sex timmars extrahering med petroleumeter (kokpunkt 40–60 °C).

14. BESTÄMNING AV UREA

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan ureahalten i foder bestämmas.

2. Princip

Provet slamas upp i vatten med klarningsmedel. Suspensionen filtreras. Ureahalten i filtratet bestäms efter tillsats av 4-dimetylamino-bensaldehyd (4-DMAB) genom mätning av den optiska tätheten vid en våglängd av 420 nm.

3. Reagens

3.1 4-dimetylamino-bensaldehydlösning: lös upp 1,6 g 4-DMAB pa i 100 ml 96-procentig etanol och tillsätt 10 ml saltsyra pa (d: 1,19). Detta reagens är hållbart högst två veckor.

3.2 Carrez-lösning I: lös upp 24 g zinkacetat $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ och 3 g isättika i vatten. Fyll på vatten till 100 ml.

3.3 Carrez-lösning II: lös upp 10,6 g kaliumferrocyanid $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ i vatten. Fyll på vatten till 100 ml.

3.4 Aktivt kol pa som inte absorberar urea (skall kontrolleras).

3.5 0,1-procentig urealösning pa (viktprocent).

4. Utrustning

4.1 Blandare (tumlare): cirka 35–40 varv i minuten.

4.2 Provrör: 160 × 16 mm med proppar av matterat glas.

4.3 Spektrofotometer.

5. Utförande

5.1 *Analys av provet*

Väg upp 2 g av provet med en noggrannhet av 1 mg och placera det i en 500 ml mätkolv tillsammans med 1 g aktivt kol (3.4). Tillsätt 400 ml vatten och 5 ml Carrez-lösning I (3.2) och II (3.3). Blanda under trettio minuter i tumlaren. Tillsätt vatten till full volym, skaka om och filtrera.

Ta undan 5 ml av de genomskinliga, färglösa filtraten, placera detta i provrör med proppar av matterat glas, tillsätt 5 ml 4-DMAB-lösning (3.1) och blanda. Sätt provrören i ett vattenbad som håller 20 °C. Mät efter femton minuter provlösningens optiska densitet med spektrofotometer vid 420 nm. Jämför med blankprovlösningen av reagensen.

5.2 *Kalibreringskurva*

Ta undan volymer på 1, 2, 4, 5 och 10 ml av urealösningen (3.5), placera dem i 100 ml mätkolvar och tillsätt vatten till full volym. Ta 5 ml av varje lösning, tillsätt 5 ml 4-DMAB-lösning (3.1) till vart och ett av lösningsproven, homogenisera och mät den optiska densiteten enligt ovan jämfört med en kontrollösning som innehåller 5 ml 4-DMAB-lösning och 5 ml ureafritt vatten. Rita kalibreringskurvan.

6. Resultatberäkning

Bestäm ureamängden i provet med hjälp av kalibreringskurvan.

Uttryck resultatet i procent av provet.

7. Anmärkningar

- 7.1 I fråga om ureahalter över 3 % skall provet reduceras till 1 g eller originallösningen spädas ut så att det inte finns mer än 50 mg urea per 500 ml.
- 7.2 I fråga om låga ureahalter skall provmängden ökas så mycket som kan ske med bibehållen genomskinlighet och färglöshet hos filtratet.
- 7.3 Om provet innehåller enkla kväveföreningar som aminosyror skall den optiska densiteten mätas vid 435 nm.

15. BESTÄMNING AV LUPINALKALOIDER

1. Syfte och räckvidd

Med denna metod kan alkaloidhalten i lupinfrön bestämmas.

2. Princip

Alkaloiderna löses upp i en blandning av dietyleter och kloroform och extraheras med saltsyra. Alkaloiderna fälls ut i kiseltungstensyra, fällningen föraskas och återstoden vägs.

3. Reagens

- 3.1 Dietyleter.
- 3.2 Kloroform.
- 3.3 Natriumhydroxidlösning 4 M.
- 3.4 Saltsyra 0,3 M.
- 3.5 Natriumklorid pa.
- 3.6 10-procentig kiseltungstenssyrelösning $\text{SiO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 26\text{H}_2\text{O}$ (viktprocent).

4. Utrustning

- 4.1 Mekanisk omrörare.
- 4.2 Platina-, kisel- eller porslinsdeglar för föraskning.
- 4.3 Elektrisk muffelugn.

5. Utförande

Väg upp 15 g av provet med en noggrannhet av 5 mg och placera detta i en behållare med cirka 200 ml rymd som är utrustad med en propp av matterat glas (t.ex. en separertratt). Tillsätt exakt 100 ml dietyleter (3.1) och 50 ml kloroform (3.2) och därefter med graderad pipett 10 ml natriumhydroxidlösning (3.3). Skaka om kraftigt för att förhindra agglomeration. Skaka om ytterligare flera gånger och låt stå över natten. Om dekanteringsvätskan (supernatanten) inte är helt klar tillsätts några droppar vatten. Filtrera i Ueterkloroformlagret. Överför 50 ml av filtratet till en 50 ml mätkolv och flytta hela mängden till en 150 ml separertratt tillsammans med 50 ml dietyleter (3.1). Extrahera tre gånger i följd med 20 ml saltsyra (3.4), låt dekantera och ta vara på syreextraktet efter varje extrahering. Samla syreextrakten i en 250 ml bägare och avlägsna de sista resterna av eter och kloroform genom försiktig uppvärmning. Tillsätt cirka 1 g natriumklorid (3.5), låt svalna och fäll ut alkaloiderna i kiseltungstenssyrelösning (3.6). Rör om med mekanisk omrörare under trettio minuter.

Låt sedimentera över natten, filtrera genom askfritt filter och skölj fällningen i tur och ordning först två gånger med 10 ml saltsyra (3.4) och därefter två gånger med 5 ml saltsyra.

Placera filtret med fällningen i en degel och föraska vid 900 °C. Låt svalna och väg.

6. Resultatberäkning

Alkaloidhalten i provet erhålls genom att askans vikt multipliceras med faktorn 0,2.

Uttryck resultatet i procent av provet.

16. UPPSKATTNING AV UREASAKTIVITET I PRODUKTER SOM FRAMSTÄLLS AV SOJA

1. Syfte och räckvidd

Med detta prov är det möjligt att bedöma ureasaktiviteten i produkter som framställs av soja och att visa om dessa produkter har kokats under tillräckligt lång tid.

2. Princip

Ureasaktiviteten uppskattas med hjälp av den mängd ammoniumkväve som frigörs för varje gram av produkten per minut av en urealösning vid en temperatur av 30 °C.

3. Reagens

3.1 Saltsyra 0,1 M.

3.2 Natriumhydroxidlösning 0,1 M.

3.3 Fosfat 0,05-reagens som per 1000 ml innehåller 4,45 g dinatriumfosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) och 3,40 g monokaliumfosfat (KH_2PO_4).

3.4 Nyberedd ureareagens som innehåller 30,0 g urea per 1000 ml reagens (3.3), pH 6,9–7,0.

4. Utrustning

4.1 Potentiometrisk titreringsapparat eller högkänslig pH-mätare (0,02 pH) med magnetisk omrörare.

4.2 Vattenbad med termostat inställd på exakt 30 °C.

4.3 Provrör med proppar av matterat glas, 150 × 18 mm.

5. Utförande

Krossa cirka 10 g av provet (till exempel i kaffekvarn) så att det passerar genom ett såll med en maskstorlek av 0,2 mm. Väg upp 0,2 g av det krossade provet med en noggrannhet av 1 mg, placera detta i ett provrör med en propp av matterat glas och tillsätt 10 ml ureareagens (3.4). Tillslut omedelbart och skaka om kraftigt. Placera provröret i ett vattenbad som är inställt på exakt 30 °C och behåll det där i exakt trettio minuter. Tillsätt omedelbart 10 ml 0,1 M saltsyra (3.1), kyl hastigt till 20 °C och flytta hela innehållet i provröret till ett titreringskärl genom att skölja två gånger med 5 ml

vatten. Titrera omedelbart och snabbt med hjälp av en glaselektrod (4.1) till pH 4,7 genom elektrometri med 0,1 M natriumhydroxidlösning (3.2).

Utför ett blankprov på följande sätt:

Placera snabbt ett prov på 0,2 g med en noggrannhet av 1 mg i ett provrör med en propp av matterat glas, tillsätt 10 ml 0,1 M saltsyra (3.1) och därefter 10 ml ureareagens (3.4). Kyl omedelbart provröret i isvatten och lämna det där under trettio minuter. Flytta på det sätt som anges ovan innehållet i provröret till titreringskärlet och använd 0,1 M natriumhydroxidlösning (3.2) upp till pH 4,7.

6. Resultatberäkning

Ureasaktiviteten beräknas med följande formel:

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

där:

- a = ml 0,1 M natriumhydroxidlösning som förbrukas av provet
- b = ml 0,1 M natriumhydroxidlösning som förbrukas i blankprovet
- E = provets vikt i g

7. Anmärkningar

- 7.1 Denna metod lämpar sig för en ureasaktivitet av upp till 1 mg N/g/min vid 30 °C. För produkter med högre aktivitet kan provets storlek minskas till 50 mg.
 - 7.2 Produkter som innehåller mer än 10 % rå fettsubstans måste först kallavfettas.
-