

Põllumajandusministri 28.11.2014 määrus nr 113
„Kondenspiimade ja piimapulbrite koostis- ja kvaliteedinõuded
ning toidualase teabe esitamise nõuded,
kondenspiimadest ja piimapulbritest proovide võtmise
ja proovide analüüsimise meetodid”

Lisa 10

PIIMAPULBRITES PIIMHAPPE- JA LAKTAADISISALDUSE MÄÄRAMISE MEETOD

1. Kasutusala

Meetod võimaldab määrata piimhappe- ja laktaadisisaldust koorepulbris, täispiimapulbris, väherasvases piimapulbris ja lõssipulbris.

2. Määratlus

Piimapulbri piimhappe- ja laktaadisisaldus selle lisa tähenduses on kolorimeetriselt määratud atseetaldehüüdi hulk.

3. Põhimõte

Proovist valmistatakse lahus, millest eraldatakse vasksulfaadi ja kaltsiumhüdroksiidi lisamise ja järgneva filtreerimisega ühel ajal nii rasv, valk kui ka laktoos. Filtraadis sisalduvad laktaadid ja piimhappe viiakse kontsentreeritud väävelhappe abil vask(II)sulfaadi juuresolekul atseetaldehüüdiks. Atseetaldehüüdi hulk määratakse kolorimeetriselt, kasutades *p*-hüdroksüdifenüüli. Piimhappe- ja laktaadisisaldus väljendatakse piimhappesisaldusena milligrammides 100 g rasvavaba kuivaine kohta.

4. Reagendid

4.1. Vask(II)sulfaadilahus (valmistamine: 250 g vask(II)sulfaatpentahüdraati $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ lahustatakse vees ja lahuse maht viiakse veega 1000 ml-ni).

4.2. Kaltsiumhüdroksiidi suspensioon I (valmistamine: 300 g kaltsiumhüdroksiidi Ca(OH)_2 peenestatakse uhmris koos veega, mida kasutatakse kokku 900 ml. Suspensioon soovitatakse valmistada vahetult enne kasutamist).

4.3. Kaltsiumhüdroksiidi suspensioon II (valmistamine: 300 g kaltsiumhüdroksiidi Ca(OH)_2 peenestatakse uhmris koos veega, mida kasutatakse kokku 1400 ml. Suspensioon soovitatakse valmistada vahetult enne kasutamist).

4.4. Väävelhappe- ja vask(II)sulfaadilahus (valmistamine: 300 ml väävelhappele (95,9–97,0% (massiprotsent) H_2SO_4) lisatakse 0,5 ml alapunkti 4.1 nimetatud vask(II)sulfaadilahust).

4.5. *p*-hüdroksüdifenüülilahus (valmistamine: 0,75 g *p*-hüdroksüdifenüüli $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ lahustatakse loksutades ja kergelt soojendades 5 ml-s naatriumhüdroksiidi vesilahuses (5 g $\text{NaOH}/100$ ml) ning lahuse maht viiakse mõõtekolvis 50 ml-ni. Lahust säilitatakse pruunis klaaspudelil pimedas ja jahedas kohas. Värvuse muutuse või hägususe esinemise korral ei tohi lahust kasutada. Maksimaalne säilivusaeg 72 h).

4.6. Piimhappe standardlahus (valmistamine: vahetult enne kasutamist lahustatakse vees 0,1067 g liitiumlaktaati $\text{CH}_3\text{CHOHCOOL}$ ja viiakse lahuse maht mõõtekolvis 1000 ml-ni. 1 ml lahust vastab 0,1 mg piimhappele).

4.7. Standardne taastatud piim (kalibratsioonikõvera koostamiseks analüüsitakse mitut kõrge-kvaliteedilist piimapulbrit, mille hulgast valitakse madalaima piimhappesisaldusega pulber,

mille piimhappesisaldus ei ületa 30 mg 100 g rasvavaba piimakuivaine kohta. Järgitakse alapunktis 6.1 kirjeldatud töö käiku).

5. Seadmed ja vahendid¹

5.1. Analüütilised kaalud.

5.2. Spektrofotomeeter, mis sobib mõõtmiseks lainepikkusel 570 nm.

5.3. Veevann, mis võimaldab hoida temperatuuri 30 ± 2 °C.

5.4. Veevann, mis võimaldab hoida temperatuuri 100 °C.

5.5. Uhmer ja uhmrinui.

5.6. Filterpaber (*Schleicher and Schull 595*, *Whatman 1* või samaväärne).

5.7. Katseklaasid, *Pyrexist* või samaväärsed, mõõtmetega 25×150 mm.

6. Töö käik²

6.1. Arvutatakse proovi rasvavaba kuivainesisaldus, lahutades 100-st lisas 8 kirjeldatud meetodi järgi leitud rasvasisalduse ja lisas 6 kirjeldatud meetodi järgi leitud niiskusesisalduse. Katseks vajaminev proovikogus grammides arvutatakse valemi järgi, kus *a* on proovi rasvavaba kuivainesisaldus, ning kaalutakse täpsusega 0,1 g. Proovikogus lisatakse 100 ml veele ja segatakse põhjalikult.

6.2. Saadud lahusest pipeteeritakse 5 ml 50 ml-sse mõõtesilindrisse ja lahjendatakse ligikaudu 30 ml-ni.

6.3. Seejärel lisatakse aeglaselt, lahust pidevalt loksutades, 5 ml vask(II)sulfaadilahust ning jäetakse lahus kümneks minutiks seisma. Lahust pidevalt loksutades lisatakse aeglaselt 5 ml kaltsiumhüdroksiidi suspensiooni I või 10 ml kaltsiumhüdroksiidi suspensiooni II. Lahuse maht viiakse veega 50 ml-ni, segatakse tugevalt loksutades läbi, jäetakse kümneks minutiks seisma ning filtreeritakse. Filtraadi esimest osa edasisel analüüsil ei kasutata. Katseklaasi pipeteeritakse 1 ml filtraati, lisatakse büreti või gradueeritud pipeti abil 6,0 ml väävelhappe- ja vask(II)-sulfaadilahust, segatakse ning kuumutatakse keeval veevannil 5 minutit. Jahutatakse voolava vee all toatemperatuurini, lisatakse 2 tilka *p*-hüdroksüdifenüülilahust ja segatakse tugevalt loksutades. Katseklaas asetatakse 15 minutiks veevannile 30 ± 2 °C juurde, loksutades katseklaasi aeg-ajalt, ning seejärel 90 sekundiks keevale veevannile. Jahutatakse voolava vee all toatemperatuurini. Kolme tunni jooksul mõõdetakse proovi optiline tihedus punktis 6.4 kirjeldatud pimekatse lahuse suhtes lainepikkusel 570 nm. Kui optiline tihedus ületab kõrgeimat punkti kalibratsioonikõveral, lahjendatakse filtraati sobivalt ja mõõdetakse optiline tihedus uuesti.

6.4. Samal ajal piimhappesisalduse määramisega proovis tehakse pimekatse, kasutades proovi asemel 30 ml vett, sama aparatuuri, samu reagentkoguseid ja sama töö käiku, mis on kirjeldatud alapunktis 6.2. Kui pimekatsel leitud piimhappesisaldus ületab 20 mg 100 g rasvavaba kuivaine kohta, kontrollitakse reagente ja saastunud reagentid puhastatakse või asendatakse.

6.5. Kalibreerimisgraafiku koostamiseks valmistatakse standardlahused. Võetakse viis 50 ml mõõtesilindrit, millest igähte pipeteeritakse 5 ml standardset taastatud piima ning seejärel vastavalt 0, 1, 2, 3 ja 4 ml piimhappe standardlahust nii, et saadakse standardlahuste vahemik, mis vastab 0, 20, 40, 60 ja 80 mg-le lisatud piimhappele 100 g kuivpiima rasvavaba kuivaine kohta. Lahused lahjendatakse veega mahuni ligikaudu 30 ml ja toimitakse alapunktis 6.3 kirjeldatu kohaselt. Standardlahuste optiline tihedus mõõdetakse pimekatse suhtes lainepikkusel 570 nm. Koostatakse graafik, mille abstsisssteljele kantakse lisatud piimhappe kogused 100 g rasvavaba kuivaine kohta ning ordinaatteljele neile vastavad optilise tiheduse väärtused. Saadud punktidest tõmmatakse neid võimalikult täpselt järgiv sirge ja joonistatakse kalibratsioonigraafik, liigutades sirget paralleelselt iseendaga nii, et see läbib koordinaatide algpunkti.

7. Tulemuste esitamine

7.1. Proovi piimhappe- ja laktaatidesisaldus 100 g rasvavaba kuivaine kohta leitakse graafikult alapunkti 6.3 kohaselt määratud optilise tiheduse kaudu. Kui filtraati lahjendati, korrutatakse saadud tulemus lahjendusteguriga.

7.2. Kahe üheaegse või järjestikuse sama proovi määramise tulemuste erinevus võib kuni 80 mg piimhappesisalduse puhul olla kuni 8 mg 100 g rasvavaba kuivaine kohta samades tingimustes sama analüüsitegija määratuna. Suuremate kontsentratsioonide puhul võib erinevus olla kuni 10% väikseimast leitud väärtusest.

¹ Klaasnõu peab olema väga puhas ja ette nähtud kasutamiseks üksnes kõnealuses analüüsis. Sademejääke sisaldavat klaasnõu loputatakse enne pesemist kontsentreeritud soolhappega.

² Vältida tuleb lisandite, eriti higi ja sülje sattumist proovi.