

Põllumajandusministri 28.11.2014 määrus nr 113
„Kondenspiimade ja piimapulbrite koostis- ja kvaliteedinõuded
ning toidualase teabe esitamise nõuded,
kondenspiimadest ja piimapulbriest proovide võtmise
ja proovide analüüsimise meetodid”
Lisa 12

PIIMAPULBRIEST FOSFATAASI AKTIIVSUSE MÄÄRAMISE MEETOD

(Aschaffenburgi ja Mülleni meetod)

1. Kasutusala

Meetod võimaldab määrata fosfataasi aktiivsust koorepulbris, täispiimapulbris, väherasvases piimapulbris ja lõssipulbris.

2. Määratlus

Fosfataasi aktiivsus selle lisa tähenduses on aktiivse aluselise fosfataasi sisaldus piimapulbris. See väljendatakse *p*-nitrofenooli kogusena mikrogrammides ühe milliliitri piimapulbri taastatud piima kohta selle meetodi kohaselt pulbri analüüsimise korral.

3. Põhimõte

Pulbrilise piimatoote fosfataasi aktiivsus määratakse aluselise fosfataasi võime järgi vabastada naatrium-*p*-nitrofenüülfosfaadist *p*-nitrofenooli. Ettenähtud tingimustel vabaneva *p*-nitrofenooli hulk määratakse otse võrdlemisel standardvärviklaasidega lihtsas komparaatoris, kasutades peegeldunud valgust.

4. Reagensid

4.1. Naatriumkarbonaat-vesinikkarbonaatpuhverlahus (valmistamine: 3,5 g veevaba naatriumkarbonaati ja 1,5 g naatriumvesinikkarbonaati lahustatakse vees ja lahuse maht viiakse mõõtekolvis veega 1000 ml-ni).

4.2. Puhversubstraatlahus¹ (valmistamine: 1,5 g dinaatrium-*p*-nitrofenüülfosfaati lahustatakse naatriumkarbonaat-vesinikkarbonaatpuhverlahuses ja lahuse maht viiakse mõõtekolvis eelnimetatud puhverlahusega 1000 ml-ni).

4.3. Tsinksulfaadilahus (valmistamine: 30,0 g tsinksulfaati ZnSO₄ lahustatakse vees ja lahuse maht viiakse mõõtekolvis veega 100 ml-ni).

4.4. Kaaliumheksatsüanoferraat(II)lahus (valmistamine: 17,2 g kaaliumheksatsüanoferraat(II)-trihüdraati K₄[Fe(CN)₆]·3H₂O lahustatakse vees ja lahuse maht viiakse mõõtekolvis veega 1000 ml-ni).

5. Seadmed ja vahendid

5.1. Analüütilised kaalud.

5.2. Veevann, mis võimaldab hoida temperatuuri 37±1 °C.

5.3. Standardvärvi klaasidega, mis on kalibreeritud mikrogrammides *p*-nitrofenooli järgi 1 ml piima kohta, spetsiaalse kettaga ja kahe 25 mm mõõteküvetiga komparaator.

5.4. Filterpaber.

6. Töö käik

6.1. Ettevaatusabinõuna tuleb vältida katse tegemist otseses päikesevalguses. Pärast kasutamist tühjandatakse katseklaasid, loputatakse veega, pestakse kuuma leeliselist detergentsisaldava veega ja loputatakse puhta kuuma kraaniveega. Seejärel loputatakse katseklaasid veega ja kuivatatakse enne kasutamist. Pipetid loputatakse kohe pärast kasutamist põhjalikult üle külma kraaniveega, seejärel veega ja kuivatatakse enne kasutamist. Katseklaasi korgid loputatakse kohe pärast kasutamist põhjalikult üle kuuma kraaniveega ning keedetakse seejärel kaks minutit vees. Iga proovi jaoks kasutatakse eraldi pipetti, vältides sülje sattumist sellesse.

6.2. Pulbrist piima taastamiseks kaalutakse 10 g uuritavat proovi täpsusega 0,1 g ja lahustatakse 90 ml vees. Proovi lahustamisel ei tohi temperatuur ületada 35 °C.

6.3. Puhtasse kuiva katseklaasi pipeteeritakse 15 ml puhversubstraatlahust ning 2 ml alapunkti 6.2 järgi taastatud piima, segatakse katseklaasi ümber pöörates läbi ja asetatakse katseklaas kaheks tunniks temperatuuril 37 ± 1 °C olevale veevannile. Seejärel võetakse katseklaas veevannilt ning katseklaasi lisatakse 0,5 ml tsinksulfaadilahust, loksutatakse tugevalt ning jäetakse kolmeks minutiks seisma. Lisatakse 0,5 ml kaaliumheksatsüanoferraat(II)lahust, segatakse põhjalikult ning filtreeritakse läbi volditud filterpaberi. Selge filtraat kogutakse puhtasse katseklaasi.

6.4. Filtraat viiakse komparaatori 25 mm mõõteküveti ja spetsiaalset ketast kasutades võrreldakse võrdluslahust filtraadiga.

6.5. Mõõtmisel kasutatav võrdluslahus valmistatakse sarnaselt alapunktides 6.2 ja 6.3 kirjeldatud viisile, asendades alapunktis 6.3 nimetatud taastatud piima fosfaasi inaktiveerimiseks hoolikalt keedetud, alapunkti 6.2 järgi taastatud piimaga. Proovilahus ja võrdluslahus valmistatakse ühel ajal.

7. Tulemuste esitamine

7.1. *p*-nitrofenoolisisalduseks mikrogrammides taastatud piima ühe milliliitri kohta võetakse komparaatori lugem.

7.2. Kahe üheaegse või järjestikuse sama proovi määramise tulemuste erinevus võib olla kuni 2 µg vabanenud *p*-nitrofenooli alapunkti 6.2 järgi taastatud piima 1 ml kohta samades tingimustes sama analüüsitegija määratuna.

¹ Puhversubstraatlahus säilib külmikus 4 °C või madalamal temperatuuril stabiilsena vähemalt üks kuu. Väiksempi ebastabiilsus on märgatav kollase värvuse tekkest. Lahust, mis komparaatoris 25 mm mõõteküvetis destilleeritud vee suhtes mõõdetuna ületab värvuslugemi 10 µg, ei soovitata kasutada.