

## KONDENSPIIMADE RASVASISALDUSE MÄÄRAMISE MEETOD (Röse-Gottliebi meetod)

### 1. Kasutusala

Meetod võimaldab määrata rasvasisaldust magustamata kõrge rasvasisaldusega kondenspiimas, magustamata kondenspiimas, magustamata väherasvases kondenspiimas, magustamata kondenslõssis, magustatud kondenspiimas, magustatud väherasvases kondenspiimas ja magustatud kondenslõssis.

### 2. Määratlus

Rasvasisaldus selle lisa tähenduses on proovist ekstraheeritud aine mass arvatuna proovi massi kohta.

### 3. Põhimõte

Proovi ammoniakaalset alkoholilahust ekstraheeritakse dietüüleetri ja petrooleetriga, seejärel aurustatakse ekstraktidest solventid, jääk kaalutakse ja arvutatakse protsentuaalse sisaldusena proovi massist.

### 4. Reagendid<sup>1</sup>

**4.1.** Ammoniaagilahus, mis sisaldab ligikaudu 25% (massiprotsent) ammoniaaki ja mille tihedus 20 °C juures on ligikaudu 0,91 g/ml, või suurema teadaoleva kontsentratsiooniga ammoniaagilahus.

**4.2.** 96±2% (mahuprotsent) etanool või selle puudumisel metanooli, etüülmetüülketooni või petrooleetriga denatureeritud etanool.

**4.3.** Peroksiidivaba dietüüleeter<sup>2</sup>.

**4.4.** Petrooleeter, mille keemistemperatuur on vahemikus 30–60 °C.

**4.5.** Lahustite segu, mis koosneb võrdsetest ruumalakogustest dietüüleetrist ja petrooleetrist ning mis valmistatakse vahetult enne tarvitamist. Lahustite segu asemel võib kasutada ka üksnes dietüüleetrit või petrooleetrit.

### 5. Seadmed ja vahendid

**5.1.** Analüütilised kaalud.

**5.2.** Ekstraktsioonitoru või -kolb (edaspidi *ekstraktsiooniseade*), millel on kasutatavate solventide suhtes inertne klaaslihv kork või muu sulgur.

**5.3.** 150–250 ml mahuga õhukeseseinaline ja lamedapõhjaline kolb.

**5.4.** Kuivatuskapp, mis on hea õhuvahetusega ning reguleeritav temperatuurile 102±1 °C.

**5.5.** Rasvavabad mittepoorsed mitterabedad keemistsentrid, näiteks klaashelmed või ränikarbiidi tükid.

**5.6.** Ekstraktsioonitoru külge sobiv sifoon.

## 5.7. Tsentrifuug.

### 6. Töö käik

**6.1.** Kolbi, vajaduse korral koos keemistsentritega, kuivatatakse kuivatuskapis pool tundi kuni tund. Kolvil lastakse jahtuda kaaluruumi temperatuurini ja kaalutakse siis 0,1 mg täpsusega.

**6.2.** Ettevalmistatud proov segatakse ja kaalutakse 1 mg täpsusega kas ekstraktsiooniseadmes või kaalutiste vahena sellesse. Magustatud kondenspiima analüüsi korral kaalutakse 2–2,5 g proovi, magustamata kondenspiima analüüsi korral 4–5 g proovi. Seejärel lisatakse vett mahuni 10,5 ml ja loksutatakse ettevaatlikult ning kergelt soojendades temperatuurini 40–50 °C, kuni proov on täielikult disperseerunud. Proov peab olema täielikult disperseerunud, vastasel juhul korratakse määramist.

**6.3.** Lisatakse 1,5 ml 25% ammoniaagilahust või sellele vastav kogus kontsentreeritud lahust ja segatakse hoolikalt.

**6.4.** Lisatakse 10 ml etanooli ja seejärel segatakse vedelikud avatud ekstraktsiooniseadmes ettevaatlikult, kuid põhjalikult läbi.

**6.5.** Lisatakse 25 ml dietüületrit ning segu jahutatakse voolava vee all. Ekstraktsiooniseade suletakse, loksutatakse tugevalt ja pööratakse ühe minuti jooksul korduvalt ümber. Seejärel eemaldatakse ettevaatlikult kork ja lisatakse 25 ml petrooleetrit, mille esimeste milliliitritega pestakse korgi ja ekstraktsiooniseadme kaela sisepinda, lastes pesemiseks kasutatud lahustikogusel voolata ekstraktsiooniseadmesse. Ekstraktsiooniseade suletakse taas korgiga ning loksutatakse ja pööratakse 30 sekundi jooksul korduvalt ümber. Kui edaspidi vedeliku eraldamiseks ei kasutata tsentrifuugimist, ei tohi loksutada liiga tugevalt.

**6.6.** Vedeliku eraldamiseks jäetakse ekstraktsiooniseade seisma, kuni pealne vedelikukiht on selginenud ja selgelt alumisest veekihist eraldunud. Teise eraldamise võimalusena võib kasutada tsentrifuugimist. Kui tsentrifuugi ajam ei ole kolmefaasiline mootor, võivad tekkida sädemed ning tuleb olla ettevaatlik, et vältida plahvatust või süttimist eetriaurude mõjul, mis võivad eralduda purunenud ekstraktsioonitorust.

**6.7.** Ekstraktsiooniseadmelt eemaldatakse kork ning seda ja seadme kaela sisepinda pestakse lahustite seguga, lastes pesuvedelikul seadmesse voolata. Pealmisest vedelikukihist viiakse ettevaatlikult dekanteerimise või sifooni abil nii palju kui võimalik kolbi, mis on alapunkti 6.1 kirjelduse kohaselt ette valmistatud. Kui sifooni ei kasutata, võib dekanteerimise hõlbustamiseks lisada veidi vett vedelike eralduspiiri tõstmiseks. Mõne milliliitri lahustite seguga loputatakse kas ekstraktsiooniseadme kaela seest ja väljast või sifooni otsa ja alumist osa. Seadme välisosade loputamiseks kulunud pesuvedelik lastakse voolata kolbi. Seadmekaela sisepinnalt ning sifoonilt pärinev pesuvedelik lastakse voolata seadmesse.

**6.8.** Ekstraheerimist korratakse veel kaks korda, järgides alapunktides 6.3–6.7 kirjeldatud töö käiku, kuid kasutades nendes ettenähtud lahustikoguste asemel 15 ml dietüületrit ja 15 ml petrooleetrit ning jättes viimasel ekstraheerimisel ära seadmekaela või sifooni pesemise. Rasvata kondenspiima analüüsi puhul ei ole proovi vaja kolmandat korda ekstraheerida.

**6.9.** Kolvist aurustatakse ettevaatlikult või destilleeritakse nii palju lahustit, sh etanooli, pealt ära kui võimalik. Kui kolb on väikese mahuga, eemaldatakse osa lahustit pärast iga ekstraktsiooni kirjeldatud viisil. Kui ei ole enam tuntavat lahustilõhna, asetatakse kolb külili kuivatuskappi ja kuumutatakse üks tund. Seejärel võetakse kolb kuivatuskapist välja, lastakse jahtuda kaaluruumi temperatuurini ja kaalutakse 0,1 mg täpsusega. Kuumutamist 30–60 minuti kestel, jahutamist ja kaalumist korratakse, kuni kahel järjestikusel kaalumisel saadud masside vahe on alla 0,5 mg või kuni mass hakkab tõusma. Kui mass tõuseb, kasutatakse arvutustes väikseimat saadud massinäitu.

**6.10.** Veendumaks, et ekstraheeritud aine on täielikult lahustuv, lisatakse sellele pärast kuivatamist 15–25 ml petrooleetrit. Kolbi soojendatakse veidi ja lahustit loksutatakse, kuni kogu rasv on lahustunud. Kui ekstraheeritud aine lahustub petrooleetris täielikult, on rasva mass

alpunktide 6.1 ja 6.9 kohaselt määratud masside vahe. Kui leitakse lahustumatut ainet või kahtlustatakse selle olemasolu, ekstraheeritakse rasv kolvist korduva sooja petrooleetriga pestes täielikult, lastes lahustumatul ainel enne iga dekanteerimist settida. Kolvikaela välispinda pestakse kolm korda. Kolb pannakse külili kuivatuskappi, kuumutatakse üks tund, lastakse jahtuda kaaluruumi temperatuurini ja kaalutakse 0,1 mg täpsusega. Rasva mass on alpunkti 6.9 kohaselt määratud massi ja selle punkti kohaselt määratud kolvi massi vahe.

**6.11.** Samal ajal proovis rasvasisalduse määramisega tehakse pimekatse, kasutades proovi asemel 10 ml vett, sama aparatuuri, samu reagentikoguseid ja sama töö käiku, mis on kirjeldatud alpunktides 6.1–6.10. Kui pimekatsel leitud rasvasisaldus ületab 0,5 mg, kontrollitakse regente ja saastunud reagentid puhastatakse või asendatakse.

## 7. Tulemuste esitamine

**7.1.** Proovi rasvasisaldus arvutatakse järgmise valemi järgi:

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100\% ,$$

kus  $M_1$  on proovi analüüsimisel alpunktis 6.9 kirjeldatud, rasvaga kolvi mass grammides;  
 $M_2$  on proovi analüüsimisel alpunktis 6.1 kirjeldatud kolvi mass grammides või lahustumatu aine esinemise või esinemiskahtluse korral alpunktis 6.9 kirjeldatud kolvi mass grammides;

$B_1$  on pimekatsel alpunktis 6.9 kirjeldatud, rasvaga kolvi mass grammides;

$B_2$  on pimekatsel alpunktis 6.1 kirjeldatud kolvi mass grammides või lahustumatu aine esinemise või esinemiskahtluse korral alpunktis 6.9 kirjeldatud kolvi mass grammides;

$S$  on analüüsitud proovikoguse mass grammides.

**7.2.** Kahe üheaegse või järjestikuse sama proovi määramise tulemuste erinevus võib olla kuni 0,05 g 100 g proovi kohta samades tingimustes sama analüüsitegija määratuna.

<sup>1</sup> Reagent peab vastama pimekatses esitatud nõuetele. Vajaduse korral võib reagenti üle destilleerida ligikaudu 1 g piimarasva juuresolekul 100 ml lahusti kohta.

<sup>2</sup> Peroksiidide esinemise kontrollimiseks lisatakse 10 ml eetrile klaaskorgiga silindris, mida on eelnevalt eetriga loputatud, 1 ml värskelt valmistatud 10% kaaliumjodiidilahust. Silindrit loksutatakse ja lastakse üks minut seista. Kummiski kihis ei tohi näha olla kollast värvi. Dietüületrit on võimalik hoida peroksiidivabana, lisades sellele märga tsinkfooliumi, mis on üheks minutiks üleni kastetud lahjendatud hapustatud vasksulfaadilahusesse ja seejärel veega üle pestud. Ühe liitri dietüüleetri kohta kasutatakse ligikaudu 8000 mm<sup>2</sup> tsinkfooliumi, mis on lõigatud vähemalt poole mahuti kõrguseni ulatuvateks ribadeks.