

PIIMAPULBrites RASVASISALDUSE MÄÄRAMISE MEETOD

(Röse-Gottliebi meetod)

1. Kasutusala

Meetod võimaldab määrata rasvasisaldust koorepulbris, täispiimapulbris, väherasvases piimapulbris ja lõssipulbris.

2. Määratlus

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

3. Põhimõte

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

4. Reagendid¹

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 puudumise korral metanooli, etüülmetüülketooni või petrooleetriga denatureeritud etanool.

4.3. Peroksiidivaba dietüüleeter².

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 kasutatava lahusti 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 üks tund. Kolvil lastakse jahtuda kaaluruumi temperatuurini ja kaalutakse siis 0,1 mg täpsusega.

6.2. Ettevalmistatud proov kaalutakse 1 mg täpsusega kas ekstraktsiooniseadmes või kaalutiste vahena sellesse. Piimapulbri analüüsi korral kaalutakse ligikaudu 1 g proovi, madala rasvasisaldusega piimapulbri ja rasvata piimapulbri analüüsi korral ligikaudu 1,5 g proovi. Seejärel lisatakse 10 ml vett ja loksutatakse ettevaatlikult, kuni pulber on täielikult dispergeerunud. Vajaduse korral kuumutatakse lahust.

6.3. Lisatakse 1,5 ml 25% ammoniaagilahust või sellele vastav kogus kontsentreeritud lahust ja kuumutatakse kolbi aeg-ajalt loksutades veevannil 15 minutit 60–70 °C juures. Seejärel jahutatakse, näiteks voolava vee all.

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 ajamiseks ei ole kolmefaasiline mootor, võivad tekkida sädemed ning tuleb olla ettevaatlik, et vältida plahvatust või süttimist eetriaarude 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 vedeliku 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 piimapulbri 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, on vaja osa lahustit pärast iga ekstraktsiooni sel viisil eemaldada. 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 loksutatakse lahustit, kuni kogu rasv on lahustunud. Kui ekstraheeritud aine lahustub petrooleetris täielikult, on rasva mass alapunktide 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 alapunkti 6.9 kohaselt määratud massi ja selle alapunkti kohaselt määratud kolvi massi vahe.

6.11. Samal ajal proovis rasvasisalduse määramisega tehakse pimekatse, kasutades proovi asemel 10 ml vett, sama aparatuuri, samu reagendikoguseid ja sama töö käiku, mis on kirjeldatud alapunktides 6.1–6.10. Kui pimekatsel leitud rasvasisaldus ületab 0,5 mg, kontrollitakse reagente ja saastunud reagendid 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 alapunktis 6.9 kirjeldatud, rasvaga kolvi mass grammides;
 M_2 on proovi analüüsimisel alapunktis 6.1 kirjeldatud kolvi mass grammides või lahustumatu aine esinemise või esinemiskahtluse korral alapunktis 6.9 kirjeldatud kolvi mass grammides;

B_1 on pimekatsel alapunktis 6.9 kirjeldatud, rasvaga kolvi mass grammides;

B_2 on pimekatsel alapunktis 6.1 kirjeldatud kolvi mass grammides või lahustumatu aine esinemise või esinemiskahtluse korral alapunktis 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 0,2 g 100 g proovi kohta samades tingimustes sama analüüsitegija määratuna, välja arvatud rasvata piimapulbri proovi puhul, kus erinevus võib olla kuni 0,1 g 100 g proovi kohta.

¹ Reagent peab vastama pimekatse kohta esitatud nõuetele. Vajaduse korral võib reagendi üle destilleerida ligikaudu 1 g piimarasva juuresolekul 100 ml lahusti kohta.

² 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 talle märga tsinkfooliumi, mis on üheks minutiks üleni kastetud lahjendatud hapustatud vasksulfaadilahusesse ja seejärel veega üle pestud. Liitri dietüüleetri kohta kasutatakse ligikaudu 8000 mm² tsinkfooliumi, mis on lõigatud vähemalt poole mahuti kõrguseni ulatuvateks ribadeks.