

- b) određivanje udjela masti;
- c) određivanje udjela bezmasne suhe tvari;
- d) određivanje udjela ukupnog dušika;
- e) određivanje udjela proteina;
- f) određivanje specifične mase.

Članak 2.

(Izvedba referentnih metoda)

Izvedba referentnih metoda analiza, određivanja kriterija pouzdanosti i uzorkovanja provodi se sukladno odredbama propisanim u Aneksu I, koji je sastavni dio ovoga pravilnika.

Članak 3.

(Metode ispitivanja)

Metode iz članka 1. ovoga pravilnika propisane su u Aneksu II, koji je sastavni dio ovoga pravilnika.

DIO DRUGI - PRIJELAZNE I ZAVRŠNE ODREDBE

Članak 4.

(Službena kontrola i inspekcijски nadzor)

Službena kontrola i inspekcijски nadzor provode se sukladno važećim propisima.

Članak 5.

(Prestanak važenja odredaba)

Danom stupanja na snagu ovoga pravilnika prestaju važiti odredbe Pravilnika o metodama uzimanja uzoraka te metodama kemijskih i fizikalnih analiza mlijeka i mliječnih proizvoda ("Službeni list SFRJ", broj 32/83, i "Službeni list RBiH", broj 2/92) koje se odnose na metode uzorkovanja i fizikalno-kemijske analize mlijeka, te odredbe Uputstva o načinu uzimanja uzoraka za vršenje analiza i superanaliza namirnica i predmeta opće upotrebe ("Službeni list SFRJ", broj 60/78 i "Službeni list RBiH", broj 2/92) koje se odnose na toplinski obrađeno mlijeko.

Članak 6.

(Primjena Pravilnika)

Mlijeko uzorkovano i analizirano sukladno odredbama propisa navedenim u članku 4. ovoga pravilnika može se stavljati na tržište 12 mjeseci od dana stupanja na snagu ovoga pravilnika.

Članak 7.

(Stupanje na snagu)

Ovaj pravilnik stupa na snagu osmoga dana od dana objave u "Službenom glasniku BiH".

VM broj 216/13
3. rujna 2013. godine
Sarajevo

Predsjedatelj
Vijeća ministara BiH
Vjekoslav Bevanda, v. r.

Na temelju članka 17. stavak 3. i članka 72. Zakona o hrani ("Službeni glasnik BiH", broj 50/04) i članka 17. Zakona o Vijeću ministara Bosne i Hercegovine ("Službeni glasnik BiH", br. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 i 24/08), Vijeće ministara Bosne i Hercegovine, na prijedlog Agencije za sigurnost hrane Bosne i Hercegovine, u suradnji s nadležnim tijelima entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine, na 62. sjednici održanoj 3. rujna 2013. godine, donijelo je

PRAVILNIK

O METODAMA ANALIZA TOPLINSKI OBRADENOG MLIJEKA ZA PREHRANU LJUDI

DIO PRVI - OPĆE ODREDBE

Članak 1.

(Predmet propisa)

- (1) Ovim se pravilnikom propisuju referentne metode uzimanja uzoraka i referentne metode analiza toplinski obrađenog mlijeka namijenjenog za prehranu ljudi radi kontrole kakvoće.
- (2) Referentne metode analiza toplinski obrađenog mlijeka su:
 - a) određivanje udjela ukupne suhe tvari;

ANEKS I.

DIO I. OPĆE ODREDBE

1. UVOD

Propisane su opće odredbe vezane uz reagense, opremu, izražavanja rezultata, preciznosti i analitička izvješća. Laboratoriji zaduženi za provedbu uzorkovanja i ispitivanja mlijeka moraju udovoljavati odredbama ovoga Pravilnika.

2. REAGENSI

2.1. Voda

2.1.1. Voda koja se koristi za postupke otapanja, razrjeđivanja ili ispiranja mora biti destilirana, deionizirana ili demineralizirana voda najmanje jednake čistoće, osim ako nije drukčije navedeno.

2.1.2. Pojam "otapanje" ili "razrjeđivanje", bez dodatnih navoda, podrazumijeva "otapanje u vodi" ili "razrjeđivanje vodom".

2.2. Kemijske tvari

Sve kemijske tvari koje se koriste moraju imati priznatu analitičku čistoću, osim ako nije drukčije navedeno.

3. OPREMA

3.1. Popis opreme

Popisi opreme za različite referentne metode sadrže samo pribor za specijaliziranu upotrebu i pribor koji zahtijeva posebnu specifikaciju.

3.2. Analitička vaga

Pojam "analitička vaga" odnosi se na vagu osjetljivosti 0,1 mg.

4. IZRAŽAVANJE REZULTATA

4.1. Rezultati

Osim ako je drukčije navedeno, rezultati navedeni u analitičkom izvješću iz točke 6. ovoga Aneksa odnose se na aritmetičku vrijednost dobivenu iz dvije analize koje ispunjavaju kriterij ponovljivosti iz točke 5.1.1. ovoga Aneksa naveden za tu metodu. Ukoliko kriterij ponovljivosti nije ispunjen, analiza mora biti ponovljena, ako je to moguće, ili rezultat proglašen nevažnim.

4.2. Izračun masenog udjela

Ako nije drukčije navedeno, rezultati se moraju izračunavati kao maseni udio uzorka.

5. KRITERIJI PRECIZNOSTI: PONOVLJIVOST I OBNOVLJIVOST

5.1. Kriteriji preciznosti koji su zadani u svakoj metodi definirani su kako slijedi:

5.1.1. Ponovljivost (r) je vrijednost ispod koje je apsolutna razlika između dva pojedinačna rezultata analiza dobivena primjenom istog postupka na istom materijalu za analizu, pod istim uvjetima (isti analitičar, ista oprema, isti laboratorij i kratak vremenski razmak).

5.1.2. Obnovljivost (R) je vrijednost ispod koje je apsolutna razlika između dva pojedinačna rezultata analiza dobivena primjenom istog postupka na istom materijalu za analizu, pod različitim uvjetima (drugi analitičar, druga oprema, drugi laboratorij i/ili drugo vrijeme).

5.1.3. Ako nije drukčije navedeno, za svaku pojedinu metodu vrijednosti kriterija ponovljivosti i obnovljivosti svakog postupka predstavljaju intervale s razinom pouzdanosti od 95% u skladu s odredbom članka 13. stavka (2) Zakona o standardizaciji Bosne i Hercegovine ("Službeni glasnik BiH", broj 19/01) BAS ISO 5725.

5.1.4. Potrebne međulaboratorijske pokuse i studije trebalo bi planirati i provoditi u skladu s međunarodnim smjernicama.

6. ANALITIČKO IZVJEŠĆE

U analitičkom izvješću treba biti navedena korištena metoda analize i dobiveni rezultati. Osim toga, izvješće mora sadržavati sve pojedinosti o postupku koje nisu određene metodom analize ili su izborne, kao i sve druge okolnosti koje su mogle utjecati na dobivene rezultate. Analitičko izvješće treba pružiti sve potrebne informacije za potpunu identifikaciju uzorka.

DIO II. UZORKOVANJE TOPLINSKI OBRADENOG MLJEKA

1. OPSEG I PODRUČJE PRIMJENE

Ovim se postupkom opisuje referentna metoda uzorkovanja, prijevoza i skladištenja uzoraka toplinski obrađenog mlijeka.

2. OPĆE ODREDBE

Uzorkovanje toplinski obrađenog mlijeka u spremnicima i dr. provest će stručna osoba koja je prošla odgovarajuću obuku prije uzorkovanja mlijeka.

Ukoliko je to potrebno, nadležno tijelo ili ispitni laboratorij mora podučiti osoblje koje radi uzorkovanje tehnikama uzorkovanja, kako bi se osiguralo da uzorak bude reprezentativan i sukladan s cijelom serijom.

Ukoliko je to potrebno, nadležno tijelo ili ispitni laboratorij moraju uputiti osoblje koje radi uzorkovanje na poduku o označavanju uzorka, kako bi se osigurao nedvojbena identitet uzorka.

3. OPREMA ZA UZORKOVANJE

3.1. Opće odredbe

Oprema za uzorkovanje mora biti izrađena od nehrđajućeg čelika ili drugog odgovarajućeg materijala primjerene čvrstoće i konstrukcije koji odgovara njoj namjeni (miješanje, uzorkovanje itd.). Stapovi i miješalice za miješanje tekućine u spremnicima moraju imati dovoljno prostora za odgovarajuće miješanje proizvoda, a da ne uzrokuju nastajanje užeglosti. Žlica mora imati čvrstu ručku dostatne dužine kako bi se omogućilo uzimanje uzoraka na bilo kojoj dubini u spremniku. Kapacitet žlice ne smije biti manji od 50 ml.

Spremnici za uzorke i poklopci moraju biti od stakla, odgovarajućih metala ili plastike.

Materijali od kojih je izrađena oprema za uzorkovanje (uključujući spremnike i poklopce) ne smiju uzrokovati nikakve promjene na uzorcima koje bi mogle utjecati na rezultate analize. Sve površine opreme za uzorkovanje i spremnika za uzorke moraju biti čiste i suhe, glatke i bez pukotina, a rubovi im trebaju biti zaobljeni.

4. TEHNIKE UZORKOVANJA

4.1. Opće odredbe

Bez obzira na analize koje treba provesti, mlijeko treba potpuno promiješati prije uzorkovanja, i to ručno ili strojno.

Uzorak treba uzeti odmah nakon miješanja, dok se mlijeko još giba. Volumen uzorka treba odgovarati zahtjevima analize. Kapacitet korištenih spremnika za uzorke treba biti takav da su gotovo potpuno ispunjeni uzorkom i da se time omogući odgovarajuće miješanje sadržaja prije analize i izbjegne bućkanje tijekom transporta.

4.2. Ručno uzorkovanje

4.2.1. Uzorkovanje iz više posuda

U slučaju kada se količina mlijeka iz koje treba uzeti uzorke nalazi u više spremnika, potrebno je uzeti reprezentativnu količinu iz svakog spremnika i zabilježiti na koju količinu mlijeka se odnosi koji uzorak. U slučaju da uzorke iz svakog spremnika ne treba zasebno analizirati, tada treba promiješati udjele ovih reprezentativnih količina u omjerima razmjernima količini koja se nalazi u spremnicima iz kojih je uzet uzorak. Uzorke iz tih skupnih razmjernih količina treba uzeti nakon miješanja.

4.2.2. Uzorkovanje iz velikih posuda - skladišni, željeznički i cestovni spremnici

4.2.2.1. Miješanje mlijeka odgovarajućim postupkom prije uzorkovanja.

Za miješanje sadržaja velikih posuda ili skladišnih, željezničkih i cestovnih spremnika savjetuje se korištenje strojne miješalice sukladno točki 4.2.2.2. ovoga Aneksa.

Vrijeme miješanja odgovara vremenskom razdoblju u kojemu je mlijeko mirovalo. Potrebno je dokazati da učinkovitost postupka miješanja koji se primijeni pod bilo kojim okolnostima odgovara potrebama predviđene analize; kriterij učinkovitosti miješanja naročito utječe na sličnost

rezultata analize provedene na uzorcima uzetima ili iz različitih dijelova pošiljke, ili iz ispusta spremnika u razmacima tijekom pražnjenja. Postupak miješanja (neobrađenog ili punomasnog) mlijeka smatrat će se učinkovitim ako razlika u količini masti koju sadrže dva uzorka uzeta pod tim uvjetima iznosi manje od 0,1%. U velikoj posudi s ispuštom za izlivanje na dnu može na točki izlivanja postojati manja količina mlijeka koja nije reprezentativna za cjelokupni sadržaj, čak ni nakon miješanja. Stoga je bolje uzimati uzorke kroz gornji otvor. Ukoliko se uzorci uzimaju na ispustu za izlivanje, treba pustiti dovoljnu količinu mlijeka da proteče kako bi se osigurala reprezentativnost uzoraka u odnosu na cjelinu.

4.2.2.2. Miješanje sadržaja velikih posuda ili skladišnih, željezničkih i cestovnih spremnika može se provesti na sljedeće načine:

- strojnom miješalicom ugrađenom u spremnike koju pokreće električni motor;
- propelerom ili miješalicom koju pokreće električni motor te je postavljena na otvor s miješalicom uronjenom u mlijeko;
- u slučaju cestovnih ili željezničkih spremnika, ponovnim kruženjem mlijeka kroz ispusnu cijev koja je povezana s pumpom za pražnjenje spremnika te je umetnuta kroz gornji otvor;
- čistim filtriranim komprimiranim zrakom. U ovom slučaju trebalo bi koristiti minimalni tlak i volumen zraka kako bi se spriječilo nastajanje užeglosti.

4.3. Uzorkovanje toplinski obrađenog mlijeka za prehranu ljudi u maloprodajnoj ambalaži

Uzorci toplinski obrađenog mlijeka za prehranu ljudi u maloprodajnoj ambalaži moraju biti u izvornom pakiranju. Ako je moguće, uzorke treba uzeti iz stroja za pakiranje ili hladnjače u postrojenju za obradu što je prije moguće nakon obrade (za pasterizirano mlijeko na dan obrade).

Uzorci se uzimaju iz svake vrste toplinski obrađenog mlijeka (pasteriziranog, UHT- obrađenog i steriliziranog), i to u broju koji odgovara analizama što će se provoditi i u skladu s uputama koje je propisao laboratorij koji obavlja ispitivanja ili drugo nadležno tijelo.

5. IDENTIFIKACIJA UZORKA

Uzorak treba biti označen identifikacijskim kodom tako da se može odmah identificirati prema uputama laboratorija koji obavlja analize ili drugog nadležnog tijela.

6. ČUVANJE, TRANSPORT I SKLADIŠTENJE UZORAKA

Laboratorij koji provodi analize dužan je pripremiti upute vezane za uvjete čuvanja (kemijske, temperaturne, prijevoza, skladištenja i vremenskih razdoblja između uzorkovanja i analize mlijeka prema vrsti mlijeka i postupku analize koji se koristi.

Upute trebaju sadržavati sljedeće:

- Tijekom prijevoza i skladištenja treba poduzeti preventivne mjere kojima će se spriječiti izlaganje stranim mirisima i izravnoj sunčevoj svjetlosti. U slučaju da je spremnik za uzorke proziran, treba ga pohraniti na tamnom mjestu.

ANEKS II.

DIO I. ODREĐIVANJE UDJELA UKUPNE SUHE TVARI 1. OPSEG I PODRUČJE PRIMJENE

Ovim se postupkom opisuje referentna metoda za određivanje udjela ukupne suhe tvari u mlijeku.

2. DEFINICIJA

Udio ukupne suhe tvari jest masa koja ostane po završetku točno određenog postupka sušenja na konstantnoj temperaturi do konstantne mase, a izražava se kao maseni udio.

3. NAČELO

Isparavanje vode iz uzorka za analizu na temperaturi od $102 \pm 2^\circ\text{C}$ u sušioniku.

4. OPREMA I STAKLENI PRIBOR

Potrebna laboratorijska oprema, a naročito:

- 4.1. Analitička vaga;
- 4.2. Eksikator, s učinkovitim sredstvom za sušenje (npr. svježe osušeni silika-gel s pokazateljem udjela vode);
- 4.3. Sušionik, ventiliran, s temperaturom održavanom na $102 \pm 2^\circ\text{C}$ na cijelom radnom prostoru;
- 4.4. Posude s ravnim dnom, visine od 20 do 25mm, promjera od 50 do 75mm te od odgovarajućeg materijala, zajedno s poklopcima koji dobro prijanjaju i lako se uklanjaju;
- 4.5. Vruća vodena kupelj;
- 4.6. Homogenizator.

5. PRIPREMA UZORKA ZA ANALIZU

Uzorak mlijeka treba zagrijati na temperaturu između 20 i 25°C . Temeljito promiješati kako bi se osigurala ravnomjerno raspoređivanje masti u cijelom uzorku. Izbjegavati previše snažno miješanje da ne bi došlo do pjenjenja mlijeka ili bućkanja masti. U slučaju da se pokaže da je teško raspršiti sloj vrhnja, treba polako zagrijati na temperaturu između 25 i 40°C i pažljivim miješanjem umiješati svo vrhnje sa stjenke spremnika. Brzo ohladiti uzorak na $20\text{--}25^\circ\text{C}$.

Može se koristiti homogenizator kao pomagalo pri raspršivanju masti.

Ne može se očekivati dobivanje točnih rezultata ukoliko uzorak sadrži odvojenu tekuću mast ili vidljive odvojene bijele čestice nepravilnog oblika koje prijanjaju uz stjenke spremnika.

6. POSTUPAK

6.1. Priprema posuda

Zagrijavati posudu (4.4.) i poklopac tako da se stave u sušionik (4.3.) jedno pokraj drugog, na temperaturi održavanoj na $102 \pm 2^\circ\text{C}$, barem 30 minuta. Staviti poklopac na zdjelu i odmah je premjestiti u eksikator (4.2.), te pustiti da se ohladi na sobnu temperaturu (odnosno barem 30 minuta) i izmjeriti s točnošću od 0,1 mg.

6.2. Uzorak za analizu

Odmah izmjeriti, s točnošću od 0,1 mg, od 3 do 5 g pripremljenog uzorka za analizu (5.) i staviti u pripremljenu posudu (6.1.).

6.3. Određivanje

6.3.1. Predsušiti posudu 30 minuta grijući je na vrućoj vodenoj kupelji (4.5.).

6.3.2. Zagrijavati posudu, s poklopcem pokraj nje, u sušioniku (4.3.) dva sata na konstantnoj temperaturi od $102 \pm 2^\circ\text{C}$. Staviti poklopac na posudu i izvaditi je iz sušionika.

6.3.3. Ostaviti posudu u eksikatoru (4.2.) da se ohladi na sobnu temperaturu (odnosno barem 30 minuta) i izmjeriti s točnošću od 0,1 mg.

6.3.4. Ponovno zagrijati posudu, s poklopcem pokraj nje, u sušioniku (4.3.) jedan sat. Staviti poklopac na zdjelu i izvaditi je iz sušionika. Pustiti je da se u eksikatoru (4.2.) hladi barem 30 minuta i izmjeriti je s točnošću od 0,1 mg.

6.3.5. Ponoviti postupak opisan u točki 6.3.4. dok razlika u masi između dva uzastopna mjerenja ne prelazi 0,5 mg. Zabilježiti najnižu masu.

7. IZRAŽAVANJE REZULTATA

7.1. Izračun i formula

Izračun masenog udjela suhe tvari iz:

$$W_T = \frac{m_1 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

pri čemu je

W_T = udio ukupne suhe tvari u g na 100 g,

m_0 = masa posude i poklopca (pogledajte 6.1.), u gramima,

m_1 = masa posude, poklopca i uzorka za analizu prije sušenja (pogledajte 6.2.), u gramima,

m_2 = masa posude, poklopca i suhog uzorka za analizu nakon sušenja (pogledajte 6.3.5.), u gramima.

Zaokružiti dobivenu vrijednost s točnošću od 0,01% (maseni udio).

7.2. Preciznost

7.2.1. Ponovljivost (r): 0,10 g ukupne suhe tvari na 100 g proizvoda.

7.2.2. Obnovljivost (R): 0,20 g ukupne suhe tvari na 100 g proizvoda.

DIO II. ODREĐIVANJE UDJELA MASTI

1. OPSEG I PODRUČJE PRIMJENE

Ovim se postupkom opisuje referentna metoda određivanja udjela masti u sirovom mlijeku i punomasnom mlijeku, djelomično obranom mlijeku i obranom mlijeku.

2. DEFINICIJA

Udio masti u mlijeku jest sva tvar određena točno određenom metodom, a izražava se kao maseni udio.

3. NAČELO

Otopina amonijaka i etanola uzorka za analizu ekstrahira se pomoću dietiletera i petroletera, otapala koje se uklanja destilacijom ili isparavanjem, a potom se određuje masa ekstrahirane tvari topive u petroleteru. (Ovaj postupak je poznat kao Roesse-Gottliebova metoda).

4. REAGENSI

Svi reagensi moraju biti priznate analitičke čistoće i ne smiju ostavljati znatne taloge pri slijepoj probi.

Kako bi se provjerila kvaliteta reagensa, treba provesti određivanje opisano u točki 6.3. Koristiti praznu tikvicu, čašu ili metalnu zdjelu (5.8.) za mjerenje, pripremljene u skladu s točkom 6.4., kao taru (kako bi se omogućilo ispravljanje učinka promjena u atmosferskim prilikama na rezultate mjerenja). Ukoliko talog ispravljen za očitu promjenu mase tare prelazi 2,5 mg, potrebno je odvojeno odrediti talog otapala isparavanjem 100ml dietiletera (4.4.) i 100 ml petroletera (4.5.), tim redosljedom. Također koristiti taru za mjerenje. U slučaju da je talog veći od 2,5 mg, potrebno je pročistiti otapalo destilacijom ili ga zamijeniti.

4.1. Otopina amonijaka, koja sadrži otprilike 25% (m/m) NH_3 . Može se koristiti u točki 6.3. Koristiti praznu tikvicu, čašu ili metalnu zdjelu (5.8.) za mjerenje, pripremljene u skladu s točkom 6.4., kao taru (kako bi se omogućilo ispravljanje učinka promjena u atmosferskim prilikama na rezultate mjerenja). Ukoliko talog ispravljen za očitu promjenu mase tare prelazi 2,5 mg, potrebno je odvojeno odrediti talog otapala isparavanjem 100ml dietiletera (4.4.) i 100 ml petroletera (4.5.), tim redosljedom. Također koristiti taru za mjerenje. U slučaju da je talog veći od 2,5 mg, potrebno je pročistiti otapalo destilacijom ili ga zamijeniti.

4.2. Etanol, barem 94% (v/v). Etanol razgrađen metanolom može se koristiti ako je sigurno da to ne utječe na rezultate određivanja.

4.3. Otopina kongo crvenila ili krezol crvenila
Otopiti 1 g kongo crvenila ili krezol crvenila u vodi i razvodniti do 100 ml.

Napomena: Korištenje ove otopine, koja omogućava da se lakše vidi granica između sloja otapala i vodenog sloja, nije obvezno (pogledajte 6.5.2.). Mogu se koristiti i druge vodene otopine u boji ukoliko ne utječu na rezultate određivanja.

4.4. Dietileter bez peroksida koji ne sadrži više od 2 mg/kg antioksidansa i udovoljava zahtjevima slijepe probe (6.3.).

4.5. Petroleter, s rasponom ključanja između 30 i 60°C.

4.6. Smjesa otapala, pripravljeno neposredno prije korištenja miješanjem jednakih volumena dietiletera (4.4.) i petroletera (4.5.).

5. OPREMA I STAKLENI PRIBOR

Upozorenje: Budući da određivanje uključuje korištenje hlapljivih i zapaljivih otapala, sva korištena električna oprema mora biti sukladna s propisima koji se odnose na korištenje tih otapala.

Potrebna laboratorijska oprema, a naročito:

5.1. Analitička vaga

5.2. Centrifuga, u kojoj se mogu vrtjeti tikvice ili epruvete za ekstrakciju masti (5.6.) rotacijskom frekvencijom od 500 do 600 okretaja u minuti kako bi se proizvelo gravitacijsko polje od 80 do 90 g na vanjskim krajevima tikvica ili epruveta.

Napomena: Korištenje centrifuge nije obvezno (6.5.5.).

5.3. Destilator ili instrument za isparavanje, kako bi se omogućilo destiliranje otapala i etanola iz tikvica ili isparavanje iz čaša i zdjela (pogledajte 6.5.12. i 6.5.15.) na temperaturi koja ne prelazi 100°C.

5.4. Sušionik, koji se zagrijava električnim putem, s potpuno otvorenim ventilacijskim otvorom(ima), i u kojemu se temperatura može održavati na $102 \pm 2^\circ\text{C}$ na cijelom radnom prostoru. Sušionik bi trebao biti opremljen odgovarajućim termometrom.

5.5. Vodena kupelj, u kojoj se temperatura može održavati na 35-45°C.

5.6. Tikvice za ekstrakciju masti tipa Mojonnier

Napomena: Moguće je koristiti i epruvete za ekstrakciju sifonom ili nastavcima boce štrcaljke, ali u tom slučaju je postupak drugačiji te je naveden u dodatku.

Tikvice (ili epruvete) moraju imati čepove od brušenog stakla, kvalitetnog pluta ili drugog materijala na koje ne djeluju reagensi koji se koriste. Čepove od pluta treba ekstrahirati dietileterom (4.4.), namakati u vodi pri 60°C ili najmanje 15 minuta, a nakon toga ostaviti da se ohladi u vodi kako bi ostali zasićeni pri korištenju.

5.7. Staljak, za držanje tikvica (ili epruveta) za ekstrakciju masti (pogledajte 5.6.).

5.8. Boca štrcaljka, za korištenje smjese otapala (4.6.). Ne smije se koristiti plastična boca štrcaljka.

5.9. Posude za sakupljanje masti, npr. tikvice za ključanje (s ravnim dnom), ili Erlenmeyerove tikvice kapaciteta 125-250 ml ili metalne posude. Ukoliko se koriste metalne posude, najbolje je da su od nehrđajućeg čelika, s ravnim dnom, po mogućnosti s noscem, te trebaju biti promjera 80-100 mm i visine oko 50 mm.

5.10. Pomagala za ključanje, bez masti, od neporoznog porculana ili silicij-karbida ili staklenih kuglica (neobvezno u slučaju metalnih zdjela).

5.11. Menzure, kapaciteta 5 i 25ml.

5.12. Pipete, s označenom ljestvicom, kapaciteta 10 ml.

5.13. Kliješta, metalna, namijenjena držanju tikvica, čaša ili zdjela.

6. POSTUPAK

Napomena: Druga mogućnost koja je opisana u Dodatku je korištenje epruveta za ekstrakciju masti sa sifonom ili nastavcima boce štrcaljke (pogledajte napomenu pod 5.6.).

6.1. Priprema uzorka za analizu

Prilagoditi temperaturu laboratorijskog uzorka na otprilike 35-40°C, 15 minuta, i to pomoću vodene kupelji. Temeljito, ali lagano promiješati uzorak stalnim preokretanjem boce tako da ne nastaje pjena i brzo ohladiti na otprilike 20°C.

6.2. Uzorak za analizu

Promiješati uzorak za analizu (6.1.) polaganim preokretanjem boce tri ili četiri puta i odmah izvagati, s točnošću od 1 mg, od 10 do 11 g uzorka za analizu, izravno ili na temelju razlike, i prenijeti ga u tikvicu za ekstrakciju (5.6.).

Uzorak za analizu mora u cijelosti biti u donjem (manjem) dijelu tikvice za ekstrakciju.

6.3. Slijepa proba

Provesti slijepu probu istovremeno, i to korištenjem istog postupka i istog reagensa, ali tako da umjesto uzorka za analizu stavimo od 10 do 11 ml vode.

Promjena prave mase posude za sakupljanje masti, ispravljena za ukupnu promjenu mase kontrolne posude ne smije prelaziti 2,5 mg.

6.4. Priprema posude za sakupljanje masti

Osušiti posudu (5.9.) zajedno s nekoliko pomagala za ključanje (5.10.) kako bi se potaknulo lagano ključanje tijekom sljedećeg uklanjanja otapala u sušioniku (5.4.) u trajanju od jednog sata. Ostavite posudu da se ohladi (ne u eksikatoru, ali zaštitite od prašine) na sobnoj temperaturi za mjerenje (staklene posude pustiti da se hlade barem jedan sat, a metalne posude barem 30 minuta). Koristiti kliješta za stavljanje posude na vagu i provedite vaganje s točnošću od 0,1 mg, te pritom treba izbjegavati promjene temperature.

6.5. Određivanje

6.5.1. Dodati 2 ml otopine amonijaka (4.1.) ili odgovarajući volumen otopine amonijaka veće koncentracije i temeljito pomiješati s uzorkom za analizu u manjem dijelu tikvice. Nakon dodavanja amonijaka provesti analizu bez odgađanja.

6.5.2. Dodati 10 ml etanola (4.2.) i lagano, ali temeljito promiješati dopuštajući da sadržaj tikvice teče naprijed-nazad između njena dva dijela; izbjegavati da tekućina dođe preblizu vratu tikvice. Prema želji dodati dvije kapi otopine kongo crvenila ili krezol crvenila (4.3.).

6.5.3. Dodati 25 ml dietiletera (4.4.), zatvoriti tikvicu čepom od pluta zasićenim vodom ili zatvaračem smočnim vodom (pogledajte 5.6.), te tresti tikvicu umjerenom jačinom (kako bi se izbjeglo stvaranje postojanih emulzija) jednu minutu s tikvicom u vodoravnom položaju, tako da manji dio stoji prema gore. Povremeno dopustiti da se tekućina iz većeg dijela pretoči u manji dio. Prema potrebi ohladiti tikvicu u vodi iz slavine, a zatim pažljivo ukloniti čep od pluta ili drugi zatvarač i pomoću boce štrcaljke (5.8.) isprati ga i vrat tikvice s malo smjese otapala (4.6.) tako da isprani sadržaj uđe u tikvicu.

6.5.4. Dodati 25 ml petroletera (4.5.), zatvoriti tikvicu ponovno namočenim čepom od pluta ili drugim zatvaračem (ponovno smočiti uranjanjem u vodu) i lagano tresti tikvicu 30 sekundi kako je opisano u točki 6.5.3

6.5.5. Centrifugirati zatvorenu tikvicu od 1 do 5 minuta rotacijskom brzinom od 500 do 600 okretaja u minuti (5.2.). Ukoliko centrifuga nije na raspolaganju (pogledati napomenu uz 5.2.), ostaviti zatvorenu tikvicu da stoji na stalku (5.7.) barem 30 minuta, dok se gornji sloj jasno i vidljivo ne odvoji od vodenog sloja. Prema potrebi ohladiti tikvicu pod tekućom vodom.

6.5.6. Pažljivo ukloniti čep pluta ili drugi zatvarač i isprati ga kao i unutarnju stranu vrata tikvice s malo smjese otapala (4.6.) tako da isprani sadržaj uđe u tikvicu.

Ukoliko se granica nalazi ispod kraja vrata tikvice, isprani sadržaj treba podignuti nešto iznad te razine lagano ulijevajući vodu niz stjenku tikvice tako da se olakša prelijevanje otapala.

6.5.7. Držeći tikvicu za ekstrakciju za manji dio, pažljivo prelići najveću moguću količinu gornjeg sloja u pripremljene posude za sakupljanje masti (6.4.) koje

sadrže nekoliko pomagala za ključanje (5.10.) u slučaju tikvice (po izboru s metalnim posudama), izbjegavajući izlijevanje vodenog sloja.

6.5.8. Isprati vanjsku stranu vrata tikvice za ekstrakciju s malo smjese otapala (4.6.), sakupljajući isprani sadržaj u posudu za sakupljanje masti i pazite da se smjesa otapala ne prelije preko vanjskog dijela tikvice za ekstrakciju.

Prema želji se otapalo ili dio otapala može ukloniti iz posude destilacijom ili isparavanjem kako je opisano u točki 6.5.2.

6.5.9. Dodati 5 ml etanola (4.2.) sadržaju tikvice za ekstrakciju, pritom koristeći etanol za ispiranje unutrašnjosti vrata tikvice, i promiješati kako je opisano u točki 6.5.2.

6.5.10. Provesti drugu ekstrakciju ponavljanjem radnji opisanih u točkama od 6.5.3. do 6.5.8., ali koristeći samo 15 ml dietiletera (4.4.) i 15 ml petroletera (4.5.); koristiti eter za ispiranje unutrašnjosti vrata tikvice za ekstrakciju. Prema potrebi podignuti granicu na sredinu vrata tikvice kako bi se omogućilo da konačno izlijevanje otapala bude što potpunije.

6.5.11. Provesti treću ekstrakciju daljnjim ponavljanjem radnji opisanih u točkama od 6.5.3. do 6.5.8., ali koristeći samo 15 ml dietiletera (4.4.) i 15 ml petroletera (4.5.); koristiti eter za ispiranje unutrašnjosti vrata tikvice za ekstrakciju. Prema potrebi podignuti granicu na sredinu vrata tikvice kako bi se omogućilo da konačno izlijevanje otapala bude što potpunije. Treća ekstrakcija može se ispustiti u slučaju obranog mlijeka.

6.5.12. Otapala (uključujući etanol) iz tikvice ukloniti što potpunije postupkom destilacije, ili iz čaše ili zdjele isparavanjem (5.3.), ispirući unutrašnjost vrata tikvice s malo miješanog otapala (4.6.) prije započinjanja destilacije.

6.5.13. Grijati posudu za sakupljanje masti (s tikvicom pored nje kako bi para otapala isparila) jedan sat u sušioniku (5.4.). Ukloniti posudu za sakupljanje masti iz sušionika, ostaviti da se ohladi (ne u eksikatoru, ali zaštitite od prašine) na temperaturu sobe za mjerenje (staklene posude neka stoje barem sat vremena, a metalne posude barem 30 minuta) i obaviti mjerenje s točnošću od 0,1 mg.

Ne brisati posudu neposredno prije mjerenja. Staviti posudu na vagu korištenjem kliješta i naročito izbjegavati promjene temperature.

6.5.14. Ponavljati radnje opisane u točki 6.5.13. dok se masa posude za sakupljanje masti ne smanji za 0,5 mg ili manje, ili poveća, između dva uzastopna mjerenja. Zabilježiti najmanju izmjerenu masu posude za sakupljanje masti i ekstrahirane tvari.

6.5.15. Dodati 25 ml petroletera u posudu za sakupljanje masti kako bi se provjerilo je li ekstrahirana tvar u potpunosti topljiva. Lagano zagrijati i miješati otapalo dok se sva mast ne otopi.

Ukoliko je ekstrahirana tvar u potpunosti topljiva u petroleteru, uzima se da je masa masti razlika između konačne mase posude koja sadrži ekstrahiranu tvar (6.5.14.) i početne mase.

6.5.16. Ukoliko je ekstrahirana tvar u potpunosti topljiva u petroleteru ili u slučaju sumnje, u potpunosti ekstrahirati mast iz posude ponavljanjem ispiranjem toplim petroleterom. Pustiti sve tragove netopljive tvari da se slegnu i pažljivo izliti petroleter bez uklanjanja netopljive tvari. Ponoviti ovaj postupak još tri puta korištenjem petroletera za ispiranje unutrašnjosti vrata posude.

Na kraju isprati vanjski dio vrha posude smjesom otapala tako da se otapalo ne proširi preko vanjske strane posude.

Ukloniti paru petroletera iz posude jednosatnim zagrijavanjem posude u sušioniku, pustiti da se ohladi i izmjeriti kako je opisano u točkama 6.5.13. i 6.5.14.

Uzeti da je masa masti razlika mase određene u točki 6.5.14. i ove konačne mase.

7. IZRAŽAVANJE REZULTATA

7.1. Izračun i formula

Izračunajte maseni udio masti iz:

$$F = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100$$

pri čemu je

F = udio masti,

m_0 = masa uzorka za analizu (6.2.), u gramima,

m_1 = masa posude za sakupljanje masti i ekstrahirane tvari određene u točki 6.5.14., u gramima,

m_2 = masa pripremljene posude za sakupljanje masti ili, u slučaju neotopljenog materijala, posude za sakupljanje masti i netopivog taloga određenog u točki 6.5.16., u gramima,

m_3 = masa posude za sakupljanje masti korištene u slijepoj probi (6.3.) i sav ekstrahirani materijal određen u točki 6.5.14., u gramima,

m_4 = masa pripremljene posude za sakupljanje masti (pogledati 6.4.) korištene u slijepoj probi (6.3.) ili, u slučaju netopivog materijala, posude za sakupljanje masti i netopivog taloga određenog u točki 6.5.16., u gramima.

Prikazati rezultat s točnošću od 0,01 mg.

7.2. Preciznost

7.2.1. Ponovljivost (r):

- za punomasno mlijeko i djelomično obrano mlijeko: 0,02 g masti na 100 g proizvoda,
- za obrano mlijeko: 0,01 g masti na 100 g proizvoda

7.2.2. Obnovljivost (R):

- za punomasno mlijeko: 0,04 g masti na 100 g proizvoda,
- za djelomično obrano mlijeko: 0,03 g masti na 100 g proizvoda,
- za obrano mlijeko: 0,025 g masti na 100 g proizvoda.

DIO III. ODREĐIVANJE UDJELA BEZMASNE SUHE TVARI

1. OPSEG I PODRUČJE PRIMJENE

Ovim se postupkom opisuje referentna metoda za određivanje udjela bezmasne suhe tvari u toplinski obrađenom mlijeku.

2. DEFINICIJA I IZRAČUN

Udio bezmasne suhe tvari izražava se kao maseni udio.

Udio bezmasne suhe tvari jest udio ukupne suhe tvari (pogledati Odjeljak I.) umanjen za udio masti (pogledati Odjeljak II.).

DIO IV. ODREĐIVANJE UDJELA UKUPNOG DUŠIKA

1. OPSEG I PODRUČJE PRIMJENE

Ovim se postupkom opisuje referentna metoda za određivanje udjela ukupnog dušika u sirovom mlijeku i punomasnom mlijeku, djelomično obranom mlijeku i obranom mlijeku.

2. DEFINICIJA

Udio ukupnog dušika u mlijeku jest udio dušika, izražen kao maseni udio, kako je to određeno točno opisanom Kjeldahlovom metodom.

3. NAČELO

Izmjerena količina uzorka mlijeka tretira se koncentriranom sumpornom kiselinom i kalij-sulfatom i bakar(II)-sulfatom kao katalizatorom, kako bi se dušik iz organskih spojeva preveo u amonijev sulfat. Amonijak se oslobađa dodavanjem otopine natrijevog hidroksida, a zatim se destilira i apsorbira u otopinu borne kiseline. To se titrira kiselim otopinom.

4. REAGENSI

- 4.1. Kalijev sulfat (K_2SO_4).
- 4.2. Otopina bakrovog sulfata. Otopiti 5,0 g bakar(II)-sulfata pentahidrata ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) u vodi i razvodniti do 100 ml (na 20°C) u odmjerne tikvici.
- 4.3. Sumporna kiselina, barem 98,0% (m/m) H_2SO_4 .
- 4.4. Otopina natrijevog hidroksida, 47% (m/m) 704 g NaOH/ (20 °C).
Napomena: Može se koristiti i otopina natrijevog hidroksida manje koncentracije, npr.: 40% (m/m) 572 g/l, 20 °C; ili 30% (m/m) 399 g/l, 20 °C.
- 4.5. Otopina borne kiseline. Otopiti 40 g borne kiseline (H_3BO_3) u jednoj litri vruće vode, ostaviti da se ohladi i spremiti u bocu od borosilikatnog stakla.
- 4.6. Indikatorska otopina. Otopiti 0,01 g crvenog metila, 0,02 g plavog bromtimola i 0,06 g zelenog bromkrezola u 100 ml etanola. Spremiti otopinu u smeđu zatvorenu bocu na hladno i tamno mjesto.
- 4.7. Volumetrijska otopina $c(HCl) = 0,1$ mol/l standardizirana s točnošću od 0,0001 mol/l.
- 4.8. Saharoza bez dušika.
- 4.9. Amonijeva sol, čista, kao što su amonijev oksalat ($(NH_4)_2C_2O_4$, H_2O ili amonijev sulfat $(NH_4)_2SO_4$.
- 4.10. Triptofan ($C_{11}H_{12}N_2O_2$), fenacetin ($C_{10}H_7CH_2CONH_2$) ili lizin mono- ili dihidroklorid ($C_6H_{14}N_2O_2 \cdot HCl$ ili $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl$).
Napomena: Čistoća reagensa u točkama 4.9. i 4.10. trebala bi biti iznad stupnja "analitičke čistoće". Ukoliko je na raspolaganju, trebala bi se koristiti certificirana otopinu amonijeve soli (4.9.).

5. OPREMA I STAKLENI PRIBOR

- Potrebna laboratorijska oprema, a naročito:
- 5.1. Kjeldahlove tikvice kapaciteta 500 ml.
 - 5.2. Odgovarajuća pomagala za ključanje, npr. staklene kuglice promjera oko 5 mm, Hengarove granule, kamen plavac.
 - 5.3. Birete ili automatska pipeta, za doziranje 1,0 ml.
 - 5.4. Menzure s označenim ljestvicama, staklene, kapaciteta 50, 100 i 250 ml.
 - 5.5. Digestor u nagnutom položaju (oko 45°), s električnim grijačima ili plinskim plamenicima koji ne zagrijavaju tikvicu iznad razine njenog sadržaja, sa sustavom za ekstrahiranje dima.
 - 5.6. Destilator, izrađen od borosilikatnog stakla, na koji se može spojiti Kjeldahlovu tikvicu (5.1.) i koji se sastoji od učinkovite glave štrcaljke povezane s učinkovitim hladilom s ravnom unutarnjom cijevi i odvodnom cijevi povezanom s njegovim donjim završetkom; povezne cijevi i zatvarač(i) moraju dobro prijanjati i po mogućnosti biti od neoprenske gume.
 - 5.7. Pipeta ili automatska pipeta, za 0,1 ml.
 - 5.8. Čunjaste tikvice, kapaciteta 500 ml, građirane na 200 ml.
 - 5.9. Bireta kapaciteta 50 ml, građirana na 0,1 ml, s maksimalnom mogućnošću pogreške $\pm 0,05$ ml.
 - 5.10. Povećalo, za očitavanje birete (5.9.).

5.11. pH-metar

5.12. Automatska bireta.

6. POSTUPAK

6.1. Dodati pomagala za ključanje (5.2.) (npr. tri staklene kuglice) u Kjeldahlovu tikvicu (5.1.), 15 g kalijevog sulfata (4.1.), 1,0 ml otopine baktovog sulfata (4.2.), otprilike 5 g uzorka mlijeka (izmjenenog s točnošću od 0,001 g) i 25 ml sumporne kiseline (4.3.). Koristiti kiselinu za ispiranje otopine bakrovog sulfata, kalijevog sulfata ili mlijeka na vratu tikvice, te lagano promiješati sadržaj tikvice.

Napomena: Budući da organska tvar troši sumpornu kiselinu tijekom ključanja, za razgradnju umjesto 25 ml koristi se 30 ml H_2SO_4 (4.3.) ako mlijeko sadrži više od 5,0 % (m/m) masti. Isto bi trebalo učiniti i u slijepoj probi.

6.2. Zagrijte svaku Kjeldahlovu tikvicu u digestoru (5.5.), u početku vrlo polako tako da crna pjena ostane unutar trbušastog dijela tikvice. Kada prestane početno pjenjenje i pojavi se obilna bijela para, snažno prokuhajte (kisela para će se kondenzirati kada dođe na pola puta do vrha vrata tikvice) dok ne nestanu sve crne čestice i dok sadržaj tikvice ne bude jasno blijede plavo-zelene boje. Tada lagano kuhati barem 1,5 sat. Primiti na znanje sljedeće:

(a) Ne bi trebalo proteći više od 1 sata da sadržaj tikvice postane bistar, a razgradnja ukupno ne bi trebala trajati kraće od 2,5 sata. Ukoliko je potrebno više od jednog sata za razbistravanje, ukupno trajanje razgradnje treba se povećati sukladno tome.

(b) Dodani kalijev sulfat potiče razgradnju, budući da podiže temperaturu ključanja smjese. Ukoliko je preostali volumen H_2SO_4 manji od otprilike 15 ml na kraju razgradnje, dušik je možda izgubljen zbog prekomjernog zagrijavanja. U slučaju plinskog grijanja trebate zagrijati tikvicu na ploči od toplinski izolacijskog materijala, s kružnim otvorom takvog promjera da slobodni plamen samo dodiruje dio tikvice koja je ispod površine tekućeg sadržaja (5.5.).

(c) Ukoliko crne čestice uđu u vrat tikvice i ne spere ih se potpuno u trbuh tikvice kretanjem kiseline u početnim fazama razdoblja snažnog zagrijavanja (to bi se moglo olakšati okretanjem tikvice), treba pustiti da se tikvica dovoljno ohladi i pažljivo je isprati minimalnom količinom vode. Zatim nastaviti razgradnju kako je gore opisano.

6.3. Kada se Kjeldahlove tikvice potpuno ohlade, dodati 300 ml vode (pogledati napomenu) u svaku tako da se pažljivo ispere vrat tikvice, te temeljito promiješati sadržaj pazeći na to da se otope kristali koji su se odvojili. Dodati pomagala za ključanje (5.2.) kako bi se osiguralo jednolično ključanje. Zatim u svaku tikvicu dodati 70 ml otopine natrijevog hidroksida (4.4.) (pogledati napomenu) lagano ulijevajući otopinu kroz nakošeni vrat tikvice da se stvori donji sloj u trbušastom dijelu; ne močiti vrh vrata otopinom natrijevog hidroksida.

Napomena: Potrebno je da zajednički volumen vode i otopine natrijevog hidroksida iznosi 370 ml kako bi se omogućilo sakupljanje oko 150 ml destilata upravo prije nego što uslijedi neujednačeno ključanje. Stoga, ako se doda veći odgovarajući volumen otopine natrijevog hidroksida koncentracije manje od 47% (m/m), volumen dodane vode smanjit će se prema tome. Primjerice, ukoliko se doda 85 ml od 40% (m/m) ili 125 ml od 30% (m/m) otopine natrijevog hidroksida, volumen dodane vode iznositi će 285 ml ili 245 ml.

6.4. Odmah spojiti svaku Kjeldahlovu tikvicu na destilator (5.6.). Pobrinite se da vrh odvodne cijevi hladila bude uronjen u 50 ml borne kiseline (4.5.) zajedno s 0,20 ml (5 - 6 kapi) indikatorske otopine (4.6.) u čunjastoj tikvici (5.8.). Zavrtjeti sadržaj svake Kjeldahlove tikvice kako bi se temeljito promiješao i zakuhao, ali u početku lagano kako bi se spriječilo pretjerano pjenjenje. Nakon što se sakupi 100 do 125 ml destilata, spuštati svaku čunjastu tikvicu dok se vršak odvodne cijevi hladila ne nađe na otprilike 40 mm iznad oznake za 200 ml. Nastaviti svaku pojedinačnu destilaciju dok ne počne neujednačeno ključanje, a zatim odmah prestati zagrijavati. Odvojiti sve Kjeldahlove tikvice i isprati vrh odvodnih cijevi hladila pomoću malo vode, sakupljajući isprani sadržaj u čunjastu tikvicu.

Treba znati sljedeće:

(a) Stupanj destilacije mora biti takav da se otprilike 150 ml destilata sakupi kada započne neujednačeno ključanje, a volumen sadržaja svake čunjaste tikvice tada će iznositi otprilike 200 ml.

(b) Učinkovitost svakog hladila trebala bi biti takva da temperatura sadržaja svake čunjaste tikvice ne prelazi 25°C tijekom destilacije.

6.5. Titrirati svaki destilat sa standardnom volumetrijskom otopinom (4.7.) dok pH ne bude $4,6 \pm 0,1$, te pritom koristiti pH-metar i po želji automatsku biretu. Dodavanje indikatora pomaže pri provjeravanju pravilnog tijeka titracije. Očitati vrijednosti na bireti s točnošću od 0,1 ml pomoću povećala (5.10.), izbjegavajući greške vezane za menisk.

Titriranje se može provesti samo s indikatorom. Potrebno je titrirati dok boja destilata ne postane jednaka boji prethodno pripremljene otopine od 150 ml vode u koju je dodano 50 ml otopine borne kiseline i 0,20 ml indikatora sadržanog u čunjastoj tikvici (5.8.).

6.6. Provesti slijepu probu u skladu s točkama od 6.1. do 6.5., a umjesto uzorka mlijeka za postupak uzeti 5 ml destilirane vode i otprilike 0,1 g saharoze (4.8.).

Napomena: Za titraciju slijepog destilata potreban je mali volumen standardne volumetrijske otopine (4.7.).

6.7. Redovito provjeravati ispravnost postupka korištenjem dva rekuperacijska pokusa, prateći postupak opisan u točkama od 6.1. do 6.5.

6.7.1. Provjeriti dolazi li do gubitka dušika zbog prekomjernog zagrijavanja ili mehaničkih curenja tijekom destilacije, i to korištenjem uzorka za analizu od 0,15 g amonijevog oksalata ili sulfata (4.9.) izmjenenog s točnošću od 0,001 g i 0,1 g saharoze (4.8.).

Postotak rekuperiranog dušika mora iznositi između 99,0% i 100,0%.

Niži ili viši rezultati ukazuju na propuste u postupku i/ili netočnost koncentracije standardnih otopina (4.7.).

6.7.2. Provjeriti je li postupak razgradnje dovoljan za oslobađanje ukupnog proteinskog dušika korištenjem uzorka za analizu od 0,20 g čistog triptofana, 0,35 g fenacetina ili 0,20 g lizin hidroklorida (4.10.). Sva mjerenja trebala bi biti provedena s točnošću od 0,001 g. Najmanje 98-99 % dušika trebalo bi biti rekuperirano.

7. SIGURNOSNE MJERE

Pri radu s koncentriranom sumpornom kiselinom i natrijevim hidroksidom i kada se rukuje Kjeldahlovim tikvicama uvijek nositi laboratorijsku kutu, zaštitne naočale i rukavice otporne na kiselinu.

Nikad ne ostavljati Kjeldahlove tikvice bez nadzora tijekom destilacije. Zbog potencijalne opasnosti, odmah

zaustaviti destilaciju ako sadržaj tikvice ključa prejako. Ukoliko je struja isključena više od dvije do tri minute, spustiti tikvicu za sakupljanje tako da destilacijski vršak bude izvan tekućine.

8. IZRAŽAVANJE REZULTATA

8.1. Izračun i formula:

Izračunajte udio dušika (W_N), izraženo u gramima dušika na 100 g proizvoda, pomoću sljedeće formule:

$$W_N = \frac{1,40(V - V_0)c}{m}$$

pri čemu je:

W_N = udio dušika,

V = volumen standardne volumetrijske otopine kiseline korištene pri određivanju, u mililitrima,

V_0 = volumen standardne volumetrijske otopine kiseline korištene u slijepoj probi, u mililitrima,

c = koncentracija, izražena u molima po litri standardne volumetrijske otopine kiseline (4.7.),

m = masa uzorka za analizu u gramima.

Zaokružiti rezultat na 0,001 g na 100 g.

8.2. Preciznost

8.2.1. Ponovljivost (r): 0,007 g na 100 g.

8.2.2. Obnovljivost (R): 0,015 g na 100 g.

9. IZMJENE POSTUPAKA

9.1. Koristiti aparaturu za razgradnju s cilindričnim tikvicama, umjesto digestora i Kjeldahlovih tikvica opisanih u točkama 5.5. i 5.1. U tom slučaju svaki uređaj treba zasebno provjeriti kako bi se utvrdile potencijalne nepravilnosti (6.7.).

9.2. Koristiti parnu destilaciju umjesto izravnog zagrijavanja tikvica (6.4.). Kada instrument ne dopušta korištenje destilirane vode, treba obratiti pozornost na to sadrži li voda hlapljive kiseline ili baze.

9.3. Uzorak za analizu od 1 g mlijeka (semi-makro Kjeldahl) može se koristiti umjesto 5 g (6.1.) ako se:

- količine reagensa korištenog za mineralizaciju (6.1.): H_2SO_4 , $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, K_2SO_4 , smanje u istom omjeru (1/5);
- ukupno trajanje razgradnje (6.2.) smanji na 75 minuta;
- količina otopina natrijevog hidroksida (6.3.) smanji u istom omjeru (1/5);
- mora koristiti standardna kisela otopina (4.7.) niže koncentracije (0,02 do 0,03 mol/l).

Napomena: Korištenje jedne ili više ovih mogućnosti prihvatljivo je samo ukoliko su vrijednost ponovljivosti (8.2.1.) i rezultati dviju provjera točnosti (6.7.) sukladni s uvjetima propisanim ovom metodom.

DIO V. ODREĐIVANJE UDJELA PROTEINA

1. OPSEG I PODRUČJE PRIMJENE

Ovim se postupkom opisuje referentna metoda za određivanje udjela proteina u toplinski obrađenom mlijeku.

2. DEFINICIJA

Udio proteina jest vrijednost koja se dobije množenjem udjela ukupnog dušika, izraženog kao maseni udio, određenog metodom opisanom u Odjeljku IV. stavku 3., s odgovarajućim faktorom (3.).

3. IZRAČUN

Udio proteina u mlijeku kao maseni udio = 6,38 x udio ukupnog dušika N u mlijeku %.

DIO VI. ODREĐIVANJE SPECIFIČNE MASE

1. OPSEG I PODRUČJE PRIMJENE

Ovim se postupkom opisuje referentna metoda određivanja specifične mase sirovog mlijeka i punomasnog mlijeka, djelomično obranog mlijeka i obranog mlijeka na 20°C.

2. DEFINICIJA

Specifična masa mlijeka jest omjer mase određenog volumena mlijeka na 20°C i mase istog volumena vode na 20°C.

3. NAČELO

Specifična masa na 20°C određuje se hidrometrom.

4. OPREMA I STAKLENI PRIBOR

Potrebna laboratorijska oprema, a naročito:

4.1. Hidrometar

Specifični gravitacijski Hidrometar je instrument koji se sastoji od staklenog plovka koji je u svome donjem dijelu širok i težak. Cilindrična staklena cjevčica je spojena na gornji kraj plovka te je usporedna s njim; gornji dio cjevčice je zatvoren.

Stakleni plovak sadrži teret (olovo, živa itd.) namijenjen prilagodavanju mase hidrometra. Cjevčica ima ljestvicu od 1,025 do 1,035 g/ml.

Hidrometar bi trebalo provjeriti piknometrijskom metodom, korištenjem piknometra kapaciteta oko 100 ml koji je opremljen termometrom za mjerenje preciznosti.

4.2. Cilindri (stakleni ili od nehrđajućeg čelika).

Njihove minimalne dimenzije trebale bi biti sljedeće:

- unutarnji promjer otprilike 35 mm,

- unutarnja visina otprilike 225 mm.

4.3. Vodena kupelj regulirana na $20 \pm 0,1^\circ C$.

4.4. Vodena kupelj regulirana na $40 \pm 2^\circ C$.

4.5. Termometar, s označenom ljestvicom podijeljenom na $0,5^\circ C$.

5. POSTUPAK

5.1. Promiješati uzorak preokretanjem kako bi se raspršila mast te ga staviti u vodenu kupelj na 40°C (4.4.). Pustiti da uzorak dosegne temperaturu od 40°C i održavati tu temperaturu pet minuta. Temeljito promiješati laganim preokretanjem kako bi se mast ravnomjerno rasporedila. Uzorak ohladiti na 20°C u drugoj vodenoj kupelji (4.3.).

5.2. Temeljito promiješati uzorak laganim preokretanjem kako bi se izbjeglo miješanje zraka. Uлити mlijeko u cilindar (4.2.) koji se mora držati nagnutim kako bi se izbjeglo stvaranje pjene. Koristiti dostatnu količinu uzorka mlijeka kako bi bili sigurni da će se dio prelići iz cilindra kada se u uzorak uroni hidrometar (4.1.). Pažljivo spustiti hidrometar u mlijeko i pustiti ga da slobodno pluta dok ne postigne ravnotežu. Cilindar treba položiti okomito. Hidrometar treba biti namješten u sredini stupca tekućine i ne bi trebao dodirivati stranice cilindra.

5.3. Kada se hidrometar umiri, očitati oznaku na vrhu meniskusa.

5.4. Odmah nakon očitavanja na hidrometru staviti termometar (4.5.) u uzorak i očitati temperaturu s točnošću od $0,5^\circ C$. Temperatura ne smije odstupati $\pm 2^\circ C$ na $\pm 20^\circ C$.

6. ISPRAVAK TEMPERATURE

6.1. Ukoliko temperatura uzorka mlijeka ne iznosi točno 20°C pri mjerenju specifične mase, onda se dobiveni rezultat mora ispraviti dodavanjem određenoj specifičnoj masi 0,0002 za svaki stupanj Celzija iznad 20°C, ili oduzimanjem 0,0002 za svaki stupanj Celzija ispod 20°C. Ovaj ispravak provodi se samo ako temperatura uzorka mlijeka odstupa od 5°C do 20°C.

су прописане у Анексу I, који је саставни дио овог правилника.

- (3) Анализе за службену контролу казеина и казеината у храни врше се у складу са методама које су прописане у Анексу II, који је саставни дио овог правилника.

ДИО II ПРЕЛАЗНЕ И ЗАВРШНЕ ОДРЕДБЕ

Члан 2.

(Престанак важења прописа)

Даном ступања на снагу овог правилника престаје да важи Правилник о методама узимања узорака и вршења хемијских и физичких анализа бјеланчевинастих производа за прехранбену индустрију ("Службени лист СФРЈ", број 41/85).

Члан 3.

(Ступање на снагу и примјена)

Овај правилник ступа на снагу осмог дана од дана објављивања у "Службеном гласнику БиХ".

СМ број 217/13

3. септембра 2013. године
Сарајево

Предсједавајући

Савјета министара БиХ
Вјекослав Беванда, с. р.

АНЕКС I МЕТОДЕ УЗОРКОВАЊА ЗА ХЕМИЈСКЕ АНАЛИЗЕ ЈЕСТИВИХ КАЗЕИНА И КАЗЕИНАТА НАМИЈЕЊЕНИХ ЗА КОНЗУМАЦИЈУ ДИО I ОПШТЕ ОДРЕДБЕ

1. Особље

Узорковање обавља лице које овласти надлежни орган.

2. Печаћење и означавање узорака

Сваки узорак, узет за службену употребу, мора се запечатити на мјесту узимања и означити у складу са посебним прописима.

3. Број узорака

За анализу је потребно истовремено припремити најмање два једнака репрезентативна узорка. Поступак и број узетих узорака прописан је посебним прописима.

Узорци се након узорковања морају што је могуће прије отпремити у лабораторију.

4. Записник

Уз узорке се прилаже записник у складу са посебним прописима.

5. Опрема за узорковање

Сва опрема за узорковање мора бити израђена од одговарајућег материјала прикладне чврстоће, који не узрокује промјене узорака које би могле утицати на резултате испитивања, и не смије узроковати промјене узорака током узорковања. Препоручује се употреба нерђајућег челика.

Све површине морају бити глатке и без пукотина, а сви рубови заобљени. Опрема за узорковање мора удовољавати захтјевима прописанима за сваки производ који се узоркује.

6. Посуде за узорковање

Посуде и поклопци за узорке морају бити израђени од материјала и такве конструкције да примјерено штите узорак и у њему не узрокују промјене које би могле утицати на резултате анализа и испитивања. Прикладни материјали укључују стакло, неке метале и неке врсте пластике. Посуде би по могућности требало да буду непрозирне. Уколико су прозирне или пропуштају

свјетлост, посуде са садржајем морају се похранити на тамном мјесту.

Посуде и поклопци морају бити чисти и суви. Облик и запремина посуде морају испуњавати захтјеве прописане за производ чији се узорак узима.

Могу се користити пластичне посуде за једнократну употребу, пластичне посуде, ламинати укључујући алуминијску фолију или прикладне пластичне кесице са одговарајућим начинима затварања.

Све посуде, осим пластичних кесица, морају бити чврсто затворене или прикладним чепом или металним или пластичним поклопцем са навојима, по потреби са херметичним пластичним затварачем. Сви чепови или затварачи који се користе морају бити нетопљиви, отпорни на дјеловање масти и не смију имати способност апсорпције те не смију утицати на мирис, арому, својства или састав узорака.

Чепови морају бити израђени или прекривени материјалима без мириса и који немају способност апсорпције.

7. Поступак узорковања

Посуде за узорке морају се затворити одмах након узорковања.

8. Чување узорака

Препоручена температура за чување различитих казеина и казеината не смије бити виша од 25°C.

9. Превоз узорака

Узорци се морају што је могуће прије отпремити у лабораторију у којој се врши испитивање (по могућности унутар 24 сата након узорковања).

Током превоза потребно је спријечити излагање мирисима који могу контаминирати узорак, излагање директној сунчевој свјетлости и температурама вишим од 25°C.

ДИО II МЕТОДА УЗОРКОВАЊА ЈЕСТИВИХ КАЗЕИНА И КАЗЕИНАТА

1. Обим и област примјене

Овом методом се описује узимање узорака јестивих киселих казеина, јестивих слатких казеина и јестивих казеината за хемијску анализу.

2. Опрема

Видјети Дио I тачку 5. овог анекса.

2.1. Сонде

Морају бити довољне дужине да досегну до дна посуде са производом. Сонде морају удовољавати захтјевима из Дијела III овог анекса.

2.2. Кашика, шпатула или лопатица

Напуњена до врха.

2.3. Посуде за узорке

Видјети Дио I тачку 6. овог анекса.

3. Поступак

3.1. Уопштено

Током или непосредно прије узимања узорака за анализу апсорпција воде из атмосфере у садржај посуде за узорке мора бити минимална. Након узорковања посуду поново чврсто затворити.

3.2. Поступак

3.2.1. Узорковање

Маса узорка који се узима за анализу не смије бити мања од 200 g.

Чисту и суву сонду утиснути у производ, тако да је, уколико је то потребно, посуда нагнута или положена на

једну страну. Отвор окренути према доље и употријебити равномјерну силу продирања. Када досегне дно посуде, сонду ротирати за 180°, извући садржај и испразнити у посуду за узорке. Како би се добио узорак масе најмање 200 g, поступак поновити једном или више пута. Посуду за узорке затворити одмах након завршеног узорковања. Узорковање се врши на истој серији.

3.2.2. Узимање узорака производа пакованих за малопродају

Нетакнуте и неотворене претпаковине могу се сматрати узорцима. Ако је то могуће, узети једну или више претпаковина из исте серије како би се добио узорак масе најмање 200 g.

Ако то није могуће, употријебити другу методу за добијање репрезентативног узорака.

3.2.3. Заштита, чување и превоз узорака.

Видјети Дио I тачке 8. и 9. овог анекса.

ДИО III СОНДЕ ЗА УЗОРКОВАЊЕ ЈЕСТИВИХ КАЗЕИНА И КАЗЕИНАТА

1. Врсте сонде

- Тип А: дуга (Слика 1)
- Тип Б: кратка (Слика 2)

2. Материјали

Оштрица и тијело сонде морају бити израђени од глатког метала, по могућности нерђајућег челика. Држак дуге сонде мора по могућности бити израђен од нерђајућег челика. Кратка сонда има одвојиви дрвени или пластични држак са куком у облику бајонета у оштрици.

3. Конструкција

- Облик, материјал и спољни дио морају бити такви да омогуће лагано чишћење сонде.
- Истакнути дио оштрице сонде типа А мора бити довољно оштар како би послужио као стругач.
- Шиљак оштрице мора бити довољно оштар како би се олакшало узимање узорака.

4. Основне димензије

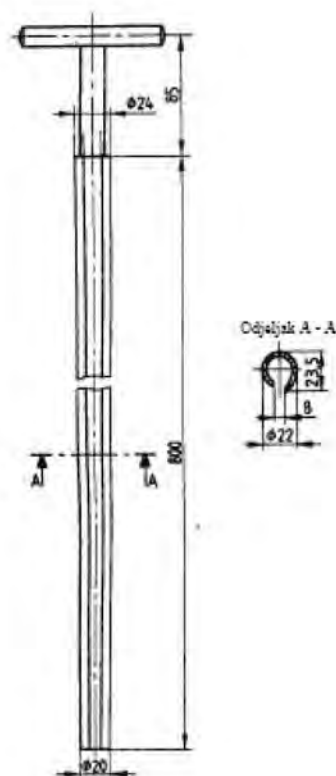
Сонде морају бити у складу са сљедећим димензијама (дозвољено је одступање од 10%):

	Тип А дуга	Тип Б кратка
Дужина оштрице	800 mm	400 mm
Дебљина метала оштрице	1 do 2 mm	1 do 2 mm
Унутрашњи промјер оштрице код шиљка	18 mm	32 mm
Унутрашњи промјер оштрице код дршка или тијела	22 mm	28 mm
Ширина отвора код шиљка	4 mm	20 mm
Ширина отвора код дршка или тијела	14 mm	14 mm

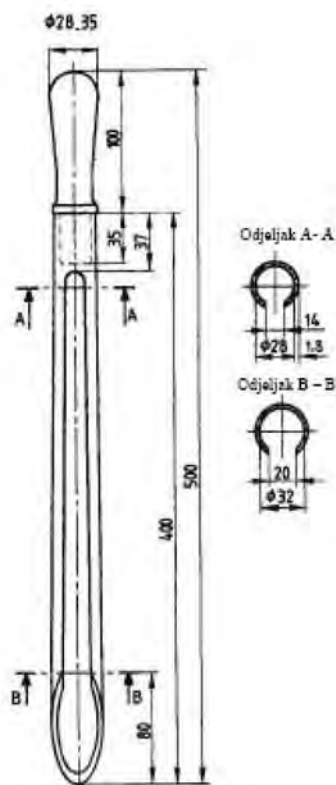
5. Напомена

- Код мање сипких прашака сонде се могу уметнути окомито. Сонде типа А се потпуно напуне вртњом и могу се извући окомито. Сонде типа Б потпуно се напуне током уметања и морају се извући у косом положају како би се спрјечили губици на доњем крају.
- Код сипких прашака посуде морају бити нагнуте, сонде уметнуте у готово водоравном положају са отвором према доље, а извучене са отвором према горе.

Слика 1. СОНДА ТИП А



Слика 2. СОНДА ТИП Б



АНЕКС II

ДИО I ПРЕГЛЕД МЕТОДА АНАЛИЗА ЈЕСТИВИХ КАЗЕИНА И КАЗЕИНАТА

I ОДРЕЂИВАЊЕ ВОДЕ У:	}	Метода 1.
- киселим казеинима		
- слатким казеинима		
- казеинатима		
II ОДРЕЂИВАЊЕ КОЛИЧИНЕ БЈЕЛАНЧЕВИНА У:	}	Метода 2.
- киселим казеинима		
- слатким казеинима		
- казеинатима		
III ОДРЕЂИВАЊЕ КИСЕЛОСТИ, ТИТРИМЕТРИСКИ, У:		Метода 3.
- киселим казеинима		
IV ОДРЕЂИВАЊЕ ПЕПЕЛА (укључујући P ₂ O ₅) У:		Метода 4.
- киселим казеинима		Метода 5.
- слатким казеинима		
V ОДРЕЂИВАЊЕ pH У:		Метода 6.
- казеинатима		

ДИО II МЕТОДЕ АНАЛИЗА САСТАВА ЈЕСТИВИХ КАЗЕИНА И КАЗЕИНАТА

1. Припрема узорка за анализу

1.1. Опште одредбе

Маса узорка достављеног у лабораторију на анализу не смије бити мања од 200 g.

1.2. Припрема узорка за анализу у лабораторији

1.2.1. Темељито промијешати и разбити грудве и сл. у лабораторијском узорку протресајући и преокрећући посуду више пута (уколико је потребно, након што је читав узорак пренесен у херметички затворену посуду довољне запремине (запремине два пута веће од запремине узорка) како би се омогућио овај поступак).

1.2.2. Пренијети репрезентативни дио узорка односно приближно 50 g темељито промијешаног лабораторијског узорка (1.2.1) у испитно сито (3.3).

1.2.3. Уколико 50 g узорка потпуно или готово потпуно (најмање 95% масе) прође кроз сито (3.3), за одређивање употребити узорак припремљен под тачком 1.2.1.

1.2.4. У супротном, самљети 50 g узорка у уређају за мљење (3.4), док узорак не задовољи критеријум пролаза кроз сито (1.2.3). Просијани узорак одмах пренијети у херметички затворену посуду довољне запремине (два пута веће од запремине узорка) и темељито промијешати поновљеним протресањем и преокретањем. Током тих поступака потребно је предузети мјере како би се спријечила било каква промјена удјела воде у узорку.

1.2.5. Након што је испитни узорак припремљен, што је могуће брже наставити с одређивањем.

1.3. Посуде

Узорак се увијек мора чувати у херметички затвореној посуди.

2. Реагенси

2.1. Вода

2.1.1. Ако се вода користи као растварач, за разрјеђивање или за прање, треба користити дестиловану или деминерализовану воду најмање једнаке чистоће.

2.1.2. Појам "растварање" или "разрјеђивање", без навођења било каквог другог реагенса, подразумијева растварање у води или разрјеђивање водом.

2.2. Хемикалије

Све хемикалије које се користе морају бити признате аналитичке чистоће, осим гдје је другачије наведено.

3. Опрема

3.1. Списак опреме

Списак опреме садржи само опрему за специјалну употребу те опрему која захтијева посебну спецификацију.

3.2. Аналитичка вага

Појам "аналитичка вага" односи се на вагу тачности најмање 0,1 mg.

3.3. Испитно сито

Испитна сита која се употребљавају морају имати одговарајући поклопац, морају бити промјера 200 mm и израђена од жичаног материјала номиналне величине отвора 500 μm. Дозвољена одступања од номиналне величине отвора и промјери жице прописани су стандардом BAS ISO 3310-1 (Испитна сита: Технички захтјеви и испитивања – 1. дио: Испитна сита израђена од металне жичане мреже). Сита морају имати посуду за прикупљање.

3.4. Уређај за мљење

За мљење лабораторијског узорка, уколико је потребно (видјети тачку 1.2.4. овог дијела), без стварања прекомерне топлоте и без губитка или апсорпције воде, не смије се употребљавати млин чекићар.

4. Изражавање резултата

4.1. Резултати

Резултат наведен у аналитичком извјештају представља средњу вриједност добијену из најмање два одређивања која задовољавају критеријум поновљивости за ту методу.

4.2. Израчунавање

Уколико није другачије наведено, резултат мора бити изражен као проценат масе узорка.

5. Извјештај о испитивању

У извјештају о испитивању наводе се употребљена метода анализе и добијени резултати. Осим тога, наводе се сви детаљи поступка који нису описани у методи анализе или који нису обавезни, као и све околности које су могле утицати на добијене резултате. Извјештај о испитивању мора садржавати све информације потребне за потпуну идентификацију узорка.

МЕТОДА 1.

ОДРЕЂИВАЊЕ УДЈЕЛА ВОДЕ

1. Обим и област примјене

Овом методом одређује се удјело воде у:

- киселим казеинима,
- слатким казеинима,
- казеинатима.

2. Дефиниција

Удјело воде у казеинима и казеинатима је губитак масе одређен описаном методом.

3. Принцип

Маса остатка узорка за испитивање одређује се након сушења при атмосферском притиску у сушионику при $102 \pm 1^\circ\text{C}$ до константне масе. Губитак масе изражава се као проценат масе узорка.

4. Опрема

- 4.1. Аналитичка вага
- 4.2. Посудице са равним дном, израђене од материјала који не кородира у условима испитивања на примјер никла, алуминијума, нерђајућег челика или стакла. Посудице морају имати поклопце који се могу чврсто затворити, али и лако уклонити. Примјерене димензије су промјер од 60 до 80 mm и дубина приближно 25 mm.
- 4.3. Сушионик за сушење при атмосферском притиску са одговарајућом вентилацијом и термостатски регулисаном температуром од $102 \pm 1^\circ\text{C}$. Температура мора бити једнака у цијелом сушионику.
- 4.4. Ексикатор с активним силикагелом с индикатором присуства воде или одговарајућим средством за сушење.
- 4.5. Одговарајући прибор за руковање посудицама, на примјер лабораторијска клијешта.

5. Поступак

- 5.1. Припрема узорка
Поступити како је описано у тачки 1.2. овог дијела.
- 5.2. Припрема посудница
Отворене посуднице и поклопце (4.2) загријавати у сушионику (4.3) при температури $102 \pm 1^\circ\text{C}$, најмање 1 сат.
 - 5.2.2. Затворене посуднице оставити да се охладе у ексикатору (4.4) до собне температуре и затим извагати са тачношћу од 0,1 mg (m_0).
- 5.3. Узорак за анализу
Ставити од 3 до 5 g узорка (5.1) у посудницу. Посудицу затворити поклопцем и извагати са тачношћу од 0,1 mg (m_1).
- 5.4. Одређивање
 - 5.4.1. Отворену посудницу са поклопцем ставити у сушионик (4.3) на температуру $102 \pm 1^\circ\text{C}$, четири сата.
 - 5.4.2. Затворену посудницу оставити да се охлади у ексикатору (4.4) до собне температуре и затим извагати са тачношћу од 0,1 mg.
 - 5.4.3. Отворену посудницу са поклопцем загријавати у сушионику један сат. Затим поновити поступак описан у тачки 5.4.2.
 - 5.4.4. Ако је маса из тачке 5.4.3. мања од масе из тачке 5.4.2. за више од 1 mg, поновити поступак описан у тачки 5.4.3.
Ако се маса повећа, при израчунавању (6.1) употребити најмању забиљежену масу.
Конечна забиљежена маса је m_2 (g). Укупно вријеме сушења не смије бити дуже од шест сати.

6. Изражавање резултата

6.1. Метода израчунавања

Губитак масе сушењем, изражен као проценат масе узорка, израчунава се на сљедећи начин:

$$\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

при чему је:

m_0 = маса посуднице и поклопца након поступка описаног у тачки 5.2, у грамама

m_1 = маса посуднице, поклопца и узорка прије сушења (поступак описан у тачки 5.3), у грамама

m_2 = маса посуднице, поклопца и узорка након сушења (поступак описан у тачки 5.4.3. или 5.4.4), у грамама

Израчунати губитак масе сушењем са тачношћу од 0,01%.

6.2. Поновљивост

Разлика између резултата два одређивања која спроводи исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку те под истим условима, не смије бити већа од 0,1 g воде на 100 g производа.

Ова дозвољена разлика између два резултата требало би да буде постигнута у 95% случајева када је метода исправно изведена.

МЕТОДА 2.

ОДРЕЂИВАЊЕ УДЈЕЛА БЈЕЛАНЧЕВИНА

1. Обим и област примјене

Овом методом се одређује удио бјеланчевина у:

- киселим казеинима,
- слатким казеинима,
- казеинатима,

осим оних који садрже амонијумов казеинат или друге амонијумове или азотне непротеинске спојеве.

2. Дефиниција

Удио бјеланчевина је умножак удјела азота, одређеног описаном методом, са фактором 6,38 и изражен у проценту.

3. Принцип

Узорак разградити мјешавином калијум-сулфата и сумпорне киселине, уз бакар (II)- сулфат као катализатор, како би се органски азот претворио у амонијумов јон. Амонијак се дестилује и апсорбује у раствор борне киселине и затим титрира стандардним раствором хлороводоничне киселине. Множењем удјела азота са фактором 6,38 добија се удио бјеланчевина.

4. Реагенси

- 4.1. Сумпорна киселина, концентрована, густине 1,84 g/ml.
- 4.2. Безводни калијум-сулфат (K_2SO_4).
- 4.3. Бакар(II)-сулфат пентахидрат ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$).
- 4.4. Сахароза ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$).
- 4.5. Борна киселина, раствор 40 g/l.
- 4.6. Натријум-хидроксид, концентровани водени раствор 30% (m/m), без карбоната.
- 4.7. Хлороводонична киселина (HCl), 0,1 mol/l.
- 4.8. Мијешани индикатор

Помијешати једнаки волумен 2 g/l метилног црвенила отопљеног у најмање 95%-тном(V/V) етанолу и 1 g/l раствора метиленског модрила у најмање 95%-тном (V/V) етанолу.

5. Опрема

- 5.1. Аналитичка вага
- 5.2. Кјелдахова тиквица, 500 ml.
- 5.3. Уређај за дигестију са Кјелдаловом тиквицом (5.2) у нагнутом положају те уређајем за загријавање којим се не загријава дио тиквице изнад површине текућег садржаја.
- 5.4. Хладило са равном унутрашњом цијеви.
- 5.5. Одводна цијев са безбједносним вентилом повезана са доњим дијелом хладила (5.4.) спојком од брушеног стакла или гуменом цјевчицом. Уколико се употребљава гумена цјевчица, стаклени крајеви морају бити близу један другом.

- 5.6. Глава за унос, повезана са Кјелдаловом тиквицом (5.2) и хладилом (5.4) помоћу мекане, чврсто приањајуће гуме или других одговарајућих чепова.
- 5.7. Ерленмајерова тиквица, 500 ml.
- 5.8. Градуиране мензуре, 50 и 100 ml.
- 5.9. Бирета, 50 ml, градуирана на 0,1 ml.
- 5.10. Помагала за врење
- 5.10.1. За дигестију: комадићи тврдог порцулана или стаклене куглице.
- 5.10.2. За дестилацију: свјеже жарени каменчићи за врење.

6. Поступак

6.1. Припрема узорка

Поступити како је описано у тачки 1.2. овог дијела.

6.2. Испитивање присуства амонијумовог јона

Ако постоји сумња да је присутан амонијумов казенат или други спој амонијума, потребно је спровести сљедећу пробу.

У Ерленмајерову тиквицу одвагати 1 g узорка, а затим додати 10 ml воде и 100 mg магнезијум-оксида. Са зинова испрати магнезијум-оксид и тиквицу затворити чепом од плуте. Између чепа од плуте и врата тиквице ставити комадић навлаженог црвеног лакмус папира. Пажљиво промијешати садржај тиквице и загријати тиквицу у воденом купатилу при температури од 60 до 65°C. Ако се боја лакмус папира промијени у плаву унутар 15 минута, присутан је амонијак и методу није могуће примјенити (видјети тачку 1).

6.3. Слијепа проба

Паралелно са одређивањем удјела азота у узорку, спровести слијепу пробу са 0,5 g сахарозе (4.4) умјесто узорка, користећи исти уређај, исте количине свих реагенса и исти поступак како је описано у тачки 6.5. Ако је утрошак 0,1 mol/l киселине при титрацији већи од 0,5 ml, провјерити реагенсе те нечисти реагенс или реагенсе очистити или замијенити.

6.4. Узорак за анализу

У Кјелдалову тиквицу (5.2) пренијети од 0,3 до 0,4 g узорка (6.1), изваганог са тачношћу од 0,1 mg.

6.5. Одређивање

6.5.1. У тиквицу ставити неколико комадића порцулана или стаклених куглица (5.10.1) и приближно 10 g безводног калијум-сулфата. Додати 0,2 g бакар(II)-сулфата (4.3) и испрати врат тиквице са мало воде. Додати 20 ml концентроване сумпорне киселине (4.1). Промијешати садржај тиквице. Лагано загријавати у уређају за дигестију (5.3) док пјењење не престане, оставити да лагано врије док се раствор не разбистри и појави стабилна блиједо зелено-плава боја. Током загријавања повремено окретати тиквицу. Наставити врење и регулисати загријавање тако да се паре кондензују на средини врата тиквице. Наставити загријавање још 90 минута тако да не дође до локалног прегријавања. Оставити да се охлади до собне температуре и пажљиво додати приближно 200 ml воде и неколико каменчића за врење (5.10.2). Промијешати и поновно охладити.

6.5.2. У Ерленмајерову тиквицу (5.7) пренијети 50 ml борне киселине (4.5) и четири капи индикатора (4.8). Промијешати и ставити тиквицу испод хладила (5.4) тако да врх одводне цијеви (5.5) буде уроњен у борну киселину. Помоћу градуиране мензуре (5.8) у Кјелдалову тиквицу додати 80 ml раствора натријум-хидроксида (4.6) Током тог поступка држати тиквицу у нагнутом положају како би раствор натријум-

хидроксида текао уз зид тиквице и формирао доњи слој. Одмах повезати Кјелдалову тиквицу са хладилом помоћу главе за унос (5.6).

Лагано ротирати Кјелдалову тиквицу како би се промијешао садржај. На почетку лагано загријавати до врења пазећи да не дође до пјењења. Наставити са дестилацијом тако да се 150 ml дестилата сакупи за приближно 30 минута. Температура дестилата не смије бити већа од 25°C. Приближно двије минуте прије завршетка дестилације спустити Ерленмајерову тиквицу тако да врх одводне цијеви не буде уроњен у раствор киселине и испрати врх са мало воде. Прекинути загријавање, уклонити одводну цијев и испрати унутрашње и спољашње зидове са мало воде, сакупљајући воду у Ерленмајерову тиквицу.

6.5.3. Титрирати дестилат у Ерленмајеровој тиквици стандардном волуметријским раствором хлороводоничне киселине (4.7).

7. Изражавање резултата

7.1. Формула и метода израчунавања

Количина бјеланчевина у узорку, изражена као проценат масе узорка, израчунава се на сљедећи начин:

$$\frac{(V_1 - V_2) \times T \times 14 \times 100 \times 6,38}{m \times 1000} = \frac{8,932 (V_1 - V_2) \times T}{m}$$

при чему је:

V_1 = волумен стандардног волуметријског раствора хлороводоничне киселине (4.7) утрошеног приликом одређивања, у ml

V_2 = волумен стандардног волуметријског раствора хлороводоничне киселине (4.7) утрошеног за слијепу пробу (6.3), у ml

T = концентрација стандардног волуметријског раствора хлороводоничне киселине (4.7), у mol/l

m = маса испитиваног узорка, у грамама

Израчунати уддио бјеланчевина са тачношћу од 0,1%.

7.2. Поновљивост

Разлика између резултата два одређивања која изводи исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку те под истим условима, не смије бити већа од 0,5 g бјеланчевина на 100 g производа.

Ова дозвољена разлика између два резултата требало би да буде постигнута у 95% случајева када је метода исправно изведена.

МЕТОДА 3.

ТИТРИМЕТРИЈСКО ОДРЕЂИВАЊЕ КИСЕЛОСТИ

1. Обим и област примјене

Титриметријском методом одређује се киселост киселих казеина.

2. Дефиниција

Титрацијска киселост киселих казеина је волумен (ml) 0,1 mol/l стандардног раствора натријум-хидроксида потребног за неутрализацију воденог екстракта 1 g производа.

3. Принцип

Водени екстракт узорка добија се и филтрира при 60°C. Филтрат се титрира стандардним раствором натријум-хидроксида користећи фенолфталеин као индикатор.

4. Реагенси

Из воде која се користи у поступку или за припрему реагенса прије употребе мора бити уклоњен угљен-диоксид загријавањем до врења 10 минута.

- 4.1. Раствор натријум-хидроксида, 0,1 mol/l.
- 4.2. Раствор индикатора фенолфталеина, 10 g/l у етанолу (95% V/V), неутрализованом у односу на индикатор.

5. Опрема

- 5.1. Аналитичка вага
- 5.2. Ерленмајерова тиквица, 500 ml, са брушеним вратом и стакленим чепом од брушеног стакла.
- 5.3. Трбушаста пипета, 100 ml.
- 5.4. Пипета, примјерена за мјерење 0,5 ml раствора индикатора из тачке 4.2. ове методе.
- 5.5. Ерленмајерова тиквица, 250 ml.
- 5.6. Мензура, 250 ml.
- 5.7. Бирета, градуирана на 0,1 ml.
- 5.8. Водено купатило, са могућношћу регулисања температуре на $60 \pm 2^\circ\text{C}$.
- 5.9. Одговарајући филтер.

6. Поступак

- 6.1. Припрема узорка за испитивање
Поступити како је описано у тачки 1.2. овог дијела.
- 6.2. Узорак за анализу
У Ерленмајерову тиквицу (5.2) одвагати приближно 10 g узорка за анализу (6.1) са тачношћу од 10 mg.
- 6.3. Одређивање

Помоћу мензуре (5.6) додати 200 ml свјеже прокуване и охлађене воде, претходно загријане на 60°C . Тиквицу затворити чепом, окретањем промијешати садржај и ставити у водено купатило на 60°C (5.8) 30 минута. Приближно сваких 10 минута протрести тиквицу. Филтрирати и охладити филтрат на приближно 20°C . Филтрат мора бити бистар.

Пипетом (5.3) пребацити 100 ml охлађеног филтрата у Ерленмајерову тиквицу (5.5). Пипетом (5.4) додати 0,5 ml раствор индикатора фенолфталеина (4.2). Титрирати стандардним волуметријским раствором натријум-хидроксида до појаве блиједе ружичасте боје која се задржава најмање 30 секунди. Одредити и записати волумен са тачношћу 0,01 ml.

7. Изражавање резултата

- 7.1. Формула и метода израчунавања
Титрацијска киселост киселих казеина израчунава се на следећи начин:

$$\frac{20 \times V \times T}{m}$$

при чему је:

V = запремина утрошеног стандардног волуметријског раствора натријум-хидроксида (4.1), у милилитрима
T = концентрација утрошеног стандардног волуметријског раствора натријум- хидроксида (4.1), у mol/l
m = маса узорка за анализу, у грамима
Резултат се изражава на два децимална мјеста.

7.2. Поновљивост

Разлика између резултата два одређивања која изводи исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку те под истим условима, не смије бити већа од 0,02 ml 0,1 mol/l натријум-хидроксида на 1 g производа.

Ова дозвољена разлика између два резултата требало би да буде постигнута у 95% случајева када је метода исправно изведена.

МЕТОДА 4. ОДРЕЂИВАЊЕ ПЕПЕЛА

(укључујући P_2O_5)

1. Обим и област примјене

Овом методом се одређује удио пепела (укључујући P_2O_5) у киселим казеинима.

2. Дефиниција

Удио пепела (укључујући P_2O_5) јесте удио пепела одређен описаном методом.

3. Принцип

Узорак се спаљује при $825 \pm 25^\circ\text{C}$ у присуству магнезијум-ацетата како би се везао сав фосфор органског поријекла. Коначни удио пепела израчуна се након вагања остатка и одузимања масе пепела који потиче од магнезијум-ацетата.

4. Реагенси

- 4.1. Раствор магнезијум-ацетата тетраhidрата, 120 g/l.
Растворити 120 g магнезијум-ацетата тетраhidрата [$\text{Mg}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$] у води и допунити водом до 1 литра.

5. Опрема

- 5.1. Аналитичка вага
- 5.2. Трбушаста пипета, 5 ml.
- 5.3. Посудице од кварца или платине, промјера приближно 70 mm и дубине од 25 до 50 mm.
- 5.4. Сушионик, са могућношћу регулисања температуре на $102 \pm 1^\circ\text{C}$.
- 5.5. Муфолна пећ, са могућношћу регулисања температуре на $825 \pm 25^\circ\text{C}$.
- 5.6. Водено купатило.
- 5.7. Ексикатор са активним силикагелом са индикатором присуства воде или одговарајућим средством за сушење.

6. Поступак

- 6.1. Припрема узорка
Видјети тачку 1.2. овог дијела.
- 6.2. Припрема посудица
Загријавати двије посудице (А, Б) (5.3) у муфолној пећи на температури $825 \pm 25^\circ\text{C}$, 30 минута. Причекати да се посудице мало охладе, а затим их ставити у ексикатор (5.7) да се охладе на собну температуру. Извагати посудице са тачношћу 0,1 mg.

- 6.3. Узорак за анализу
Одвагати приближно 3 g узорка (6.1) са тачношћу 0,1 mg у једну од припремљених посудица (А).

6.4. Одређивање

Пипетом (5.2) додати тачно 5 ml раствора магнезијум-ацетата (4.1.) у посудицу (А) тако да сав узорак буде натопљен и оставити да стоји 20 минута. У другу посудицу (Б) пипетом (5.2) додати тачно 5 ml раствора магнезијум-ацетата (4.1). Испарити садржај обје посудице (А и Б) до сувога у кључалом воденом купатилу (5.6). Затим обје посудице ставити у сушионик (5.4) на температуру $102 \pm 1^\circ\text{C}$, 30 минута.

Загријавати посудицу А на слабом пламену, врућој плочи или под инфрацрвеном лампом док узорак потпуно не поугљени, пазећи при томе да се не запали.

Обје посудице (А и Б) пренијети у муфолну пећ (5.5) и загријавати на температури $825 \pm 25^\circ\text{C}$ најмање 1 сат, док

сав угаљ из посуднице А не нестане. Причекати да се посуднице мало охладе, а затим их ставити у ексихатор (5.7) да се охладе на собну температуру. Извагати посуднице са тачношћу 0,1 mg.

Понављати поступак загријавања приближно 30 минута, у муфолној пећи (5.5), хлађења и вагања до константне масе (у границама 1 mg) или до почетка повећавања масе. Записати најнижу масу.

7. Изражавање резултата

7.1. Метода израчунавања

Удио пепела, укључујући P_2O_5 , изражен као проценат масе, израчунава се на следећи начин:

$$\frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100$$

при чему је:

m_0 = маса узорка, у грамима

m_1 = маса посуднице А и остатка, у грамима

m_2 = маса припремљене посуднице А, у грамима

m_3 = маса посуднице Б и остатка, у грамима

m_4 = маса припремљене посуднице Б, у грамима.

Коначни резултат израчунати са тачношћу 0,01 %

7.2. Поновљивост

Разлика између резултата два одређивања која изводи исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку те под истим условима, не смије бити већа од 0,1 g на 100 g производа.

Ова дозвољена разлика између два резултата требало би да буде постигнута у 95% случајева када је метода исправно изведена.

МЕТОДА 5

ОДРЕЂИВАЊЕ ПЕПЕЛА

(укључујући P_2O_5)

1. Обим и област примјене

Овом методом се одређује удио пепела (укључујући P_2O_5) у слатким казеинима.

2. Дефиниција

Удио пепела (укључујући P_2O_5) јесте удио пепела одређен описаном методом.

3. Принцип

Узорак се спаљује при температури 825 ± 25 °C до константне масе. Остатак се важе и изражава као проценат масе узорка.

4. Опрема

4.1. Аналитичка вага

4.2. Посудица од кварца или платине, пречника приближно 70 mm и дубине од 25 до 50 mm.

4.3. Муфолна пећ, са вентилацијом и могућношћу регулисања температуре на 825 ± 25 °C.

4.4. Ексихатор с активним силикагелом с индикатором присуства воде или одговарајућим средством за сушење.

5. Поступак

5.1. Припрема узорка

Поступити како је описано у тачки 1.2. овог дијела.

5.2. Припрема посуднице

Загријавати посудницу (4.2) у муфолној пећи из тачке

4.3. ове методе, на температури 825 ± 25 °C, 30 минута. Причекати да се посудница мало охлади, а затим је ставити у ексихатор из тачке 4.4. ове методе, да се охлади на собну температуру. Извагати посудницу са тачношћу 0,1 mg.

5.3. Узорак за анализу

У посудницу одвагати приближно 3 g узорка (5.1) са тачношћу 0,1 mg.

5.4. Одређивање

Загријавати посудницу на слабом пламену, врућој плочи или под инфрацрвеном лампом док узорак потпуно не поугљени, пазећи при томе да се не запали.

Посудицу пренијети у муфолну пећ (4.3) на температуру 825 ± 25 °C и загријавати најмање 1 сат, док сав угаљ из посуднице не нестане. Причекати да се посудница мало охлади, а затим је ставити у ексихатор (4.4) да се охлади на собну температуру. Извагати посудницу са тачношћу 0,1 mg.

Понављати поступак загријавања приближно 30 минута, у муфолној пећи (4.3), хлађења и вагања до константне масе (у границама 1 mg) или до почетка повећавања масе. Записати најнижу масу.

6. Изражавање резултата

6.1. Метода израчунавања и формула

Удио пепела, укључујући P_2O_5 , изражен као проценат масе, израчунава се на следећи начин:

$$\frac{m_1 - m_2}{m_0} \times 100$$

при чему је:

m_0 = маса узорка, у грамима

m_1 = маса посуднице и остатка, у грамима

m_2 = маса припремљене посуднице, у грамима

Коначни резултат израчунати са тачношћу 0,01%.

6.2. Поновљивост

Разлика између резултата два одређивања која изводи исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку те под истим условима, не смије бити већа од 0,15 g на 100 g производа.

Ова дозвољена разлика између два резултата требало би да буде постигнута у 95% случајева када је метода исправно изведена.

МЕТОДА 6.

ОДРЕЂИВАЊЕ pH ВРИЈЕДНОСТИ

1. Обим и област примјене

Овом методом се одређује pH вриједност казеината.

2. Дефиниција

pH вриједност казеината је pH воденог раствора казеината при 20°C одређеног описаном методом.

3. Принцип

Електрометријско одређивање pH вриједности воденог раствора казеината помоћу pH- метра.

4. Реагенси

Вода која се користи за припрему реагенса или у поступку (6) мора бити свјеже дестилована, без апсорбованог угљен-диоксида.

4.1. Пуферски раствори за баждарење pH-метра (5.2)

Два стандардна пуферска раствора са pH вриједностима при 20°C, израженима на два децимална мјеста, којима се тачно одређује pH вриједност испитиваног узорка, на примјер фталатни пуферски раствор са pH вриједности приближно 4 и бораксов пуферски раствор са pH вриједности приближно 9.

5. Опрема

5.1. Вага, са тачношћу 0,1 g.

5.2. pH-метар, најмање осјетљивости 0,05 pH јединица, с одговарајућом баждареном електродом, на примјер стакленом електродом и каломел електродом или другом референтном електродом.

- 5.3. Термометар, са тачношћу 0,5°C.
- 5.4. Ерленмајерова тиквица, 100 ml, са чепом од брушеног стакла.
- 5.5. Чаша, 50 ml.
- 5.6. Мијешалица.
- 5.7. Чаша, за мијешалицу (5.6), 250 ml.

6. Поступак

- 6.1. Припрема узорка
Поступити како је описано у тачки 1.2. овог дијела.
- 6.2. Одређивање
 - 6.2.1. Баждарење рН-метра
Подесити температуру пуферских раствора (4.1) на 20°C и баждарити рН-метар у складу са упутствима произвођача.
Напомене:
 1. Баждарење треба спровести за вријеме 20 минута стајања раствора (видјети тачку 6.2.2).
 2. При испитивању серије узорака провјеравати баждареност рН-метра једном или више стандардних раствора најмање сваких 30 минута.
 - 6.2.2. Припрема раствора за испитивање
У чашу (5.7) одвагати 5 g узорка (6.1), додати 95 ml воде и мијешати мијешалицом (5.6) 30 секунди. Раствор пустити да стоји 20 минута при температури приближно 20°C, покривен сатним стакалцем.
 - 6.2.3. Мјерење рН
 - 6.2.3.1. У чашу (5.5) улили приближно 20 ml раствора и одмах очитати рН вриједност течности помоћу рН-метра (5.2). Прије мјерења потребно је стаклену электроду пажљиво испрати водом.
 - 6.2.3.2. Измјерити рН.

7. Изражавање резултата

- 7.1. Записивање рН вриједности
Као рН вриједност раствора казеината очитати вриједност на показатељу рН-метра на најмање два децимална мјеста.
 - 7.2. Поновљивост
Разлика између резултата два одређивања која изводи исти аналитичар, истовремено или непосредно једно за другим, на истом узорку те под истим условима, не смије бити већа од 0,05 рН јединица.
Ова дозвољена разлика између два резултата требало би да буде постигнута у 95% случајева када је метода исправно изведена.
-