

ANEKS I.
METODE UZORKOVANJA ZA HEMIJSKE ANALIZE
JESTIVIH KAZEINA I KAZEINATA NAMIJENJENIH
ZA KONZUMACIJU
DIO I. OPĆE ODREDBE

1. Osoblje

Uzorkovanje radi lice ovlašteno od nadležnog organa.

2. Pečaćenje i označavanje uzoraka

Svaki uzorak, uzet za službenu upotrebu, mora se zapečatiti na mjestu uzimanja i označiti u skladu s posebnim propisima.

3. Broj uzoraka

Za analizu je potrebno istovremeno pripremiti najmanje dva jednaka reprezentativna uzorka. Postupak i broj uzetih uzoraka propisan je posebnim propisima.

Uzorci se nakon uzorkovanja moraju što je moguće prije otpremi u laboratorij.

4. Zapisnik

Uz uzorke se prilaže zapisnik u skladu s posebnim propisima.

5. Oprema za uzorkovanje

Sva oprema za uzorkovanje mora biti izrađena od odgovarajućeg materijala prikladne čvrstoće, koji ne uzrokuje promjene uzorka koje bi mogle uticati na rezultate ispitivanja, i ne smije uzrokovati promjene uzoraka tokom uzorkovanja. Preporučuje se upotreba nehrđajućeg čelika.

Sve površine moraju biti glatke i bez pukotina, a svi rubovi zaobljeni. Oprema za uzorkovanje mora zadovoljavati zahtjeve propisane za svaki proizvod koji se uzorkuje.

6. Posude za uzorkovanje

Posude i poklopci za uzorke moraju biti izrađeni od materijala i takve konstrukcije da primjereno štite uzorak i u njemu ne uzrokuju promjene koje bi mogle uticati na rezultate analiza i ispitivanja. Prikladni materijali uključuju staklo, neke metale i neke vrste plastike. Posude bi po mogućnosti trebalo da budu neprozirne. Ako su prozirne ili propuštaju svjetlost, posude sa sadržajem moraju se pohraniti na tamnom mjestu.

Posude i poklopci moraju biti čisti i suhi. Oblik i volumen posude moraju zadovoljavati zahtjeve propisane za proizvod čiji se uzorak uzima.

Mogu se koristiti plastične posude za jednokratnu upotrebu, plastične posude, laminati uključujući aluminijsku foliju ili prikladne plastične vrećice s odgovarajućim načinima zatvaranja.

Sve posude, osim plastičnih vrećica, moraju biti čvrsto zatvorene ili prikladnim čepom ili metalnim ili plastičnim poklopcem s navojima, po potrebi s hermetičkim plastičnim zatvaračem. Svi čepovi ili zatvarači koji se koriste moraju biti netopivi, otporni na djelovanje masti i ne smiju imati sposobnost apsorpcije te ne smiju uticati na miris, aromu, svojstva ili sastav uzorka.

Čepovi moraju biti izrađeni ili prekriveni materijalima bez mirisa i koji nemaju sposobnost apsorpcije.

7. Postupak uzorkovanja

Posude za uzorke moraju se zatvoriti odmah nakon uzorkovanja.

8. Čuvanje uzoraka

Preporučena temperatura za čuvanje različitih kazeina i kazeinata ne smije biti veća od 25 °C.

9. Transport uzoraka

Uzorci se moraju što je moguće prije otpremiti u laboratorij u kojem se vrši ispitivanje (po mogućnosti unutar 24 sata nakon uzorkovanja).

Tokom transporta potrebno je spriječiti izlaganje mirisima koji mogu kontaminirati uzorak, izlaganje direktnoj sunčevoj svjetlosti i temperaturama većim od 25 °C.

DIO II. METODA UZORKOVANJA JESTIVIH KAZEINA I KAZEINATA

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom opisuje se uzimanje uzoraka jestivih kiselih kazeina, jestivih slatkih kazeina i jestivih kazeinata za hemijsku analizu.

2. Oprema

Vidjeti Dio I. tačku 5. ovog aneksa.

2.1. Sonde

Moraju biti dovoljne dužine da dosegnu do dna posude s proizvodom. Sonde moraju zadovoljavati zahtjeve iz Dijela III. ovog aneksa.

2.2. Kašika, špatula ili lopatica

Napunjena do vrha.

2.3. Posude za uzorke

Vidjeti Dio I. tačku 6. ovog aneksa.

3. Postupak

3.1. Općenito

Tokom ili neposredno prije uzimanja uzoraka za analizu apsorpcija vode iz atmosfere u sadržaj posude za uzorke mora biti minimalna. Nakon uzorkovanja posudu ponovo čvrsto zatvoriti.

3.2. Postupak

3.2.1. Uzorkovanje

Masa uzorka koji se uzima za analizu ne smije biti manja od 200 g.

Čistu i suhu sondu utisnuti u proizvod, tako da je, ako je to potrebno, posuda nagnuta ili položena na jednu stranu. Otvor okrenuti prema dolje i upotrijebiti ravnomjernu silu prodiranja. Kada dosegne dno posude, sondu rotirati za 180°, izvući sadržaj i isprazniti u posudu za uzorke. Kako bi se dobio uzorak mase najmanje 200 g, postupak ponoviti jednom ili više puta. Posudu za uzorke zatvoriti odmah nakon završenog uzorkovanja. Uzorkovanje se vrši na istoj seriji.

3.2.2. Uzimanje uzoraka proizvoda pakovanih za maloprodaju

Netaknute i neotvorene pretpakovine mogu se smatrati uzorcima. Ako je to moguće, uzeti jednu ili više pretpakovina iz iste serije kako bi se dobio uzorak mase najmanje 200 g.

Ako to nije moguće, upotrijebiti drugu metodu za dobivanje reprezentativnog uzorka.

3.2.3. Zaštita, čuvanje i transport uzoraka

Vidjeti Dio I. tačke 8. i 9. ovog aneksa.

DIO III. SONDE ZA UZORKOVANJE JESTIVIH KAZEINA I KAZEINATA

1. Vrste sonda

a) Tip A: duga (slika 1.)

b) Tip B: kratka (slika 2.)

2. Materijali

Oštrica i tijelo sonde moraju biti izrađeni od glatkog metala, po mogućnosti nehrđajućeg čelika. Držak duge sonde mora po mogućnosti biti izrađen od nehrđajućeg čelika. Kratka sonda ima odvojivi drveni ili plastični držak s kukom u obliku bajoneta u oštrici.

3. Konstrukcija

3.1. Oblik, materijal i vanjski dio moraju omogućiti lagano čišćenje sonde.

3.2. Istaknuti dio oštrice sonde tipa A mora biti dovoljno oštar kako bi poslužio kao strugač.

3.3. Šiljak oštrice mora biti dovoljno oštar kako bi se olakšalo uzimanje uzoraka.

4. Osnovne dimenzije

Sonde moraju biti u skladu sa sljedećim dimenzijama (dozvoljeno je odstupanje od 10 %):

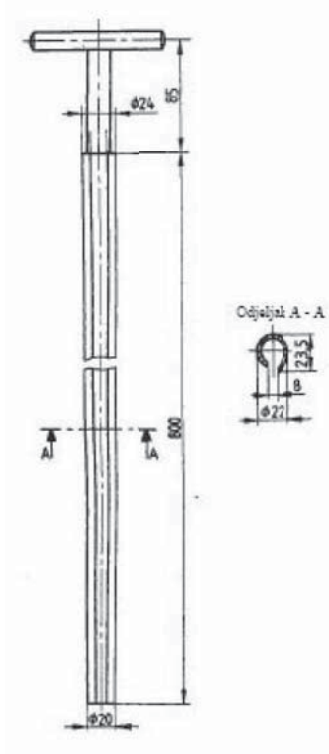
	Tip A duga	Tip B kratka
Dužina oštrice	800 mm	400 mm
Debljina metala oštrice	1 do 2 mm	1 do 2 mm
Unutrašnji promjer oštrice kod šiljka	18 mm	32 mm
Unutrašnji promjer oštrice kod drška ili tijela	22 mm	28 mm
Širina otvora kod šiljka	4 mm	20 mm
Širina otvora kod drška ili tijela	14 mm	14 mm

5. Napomena

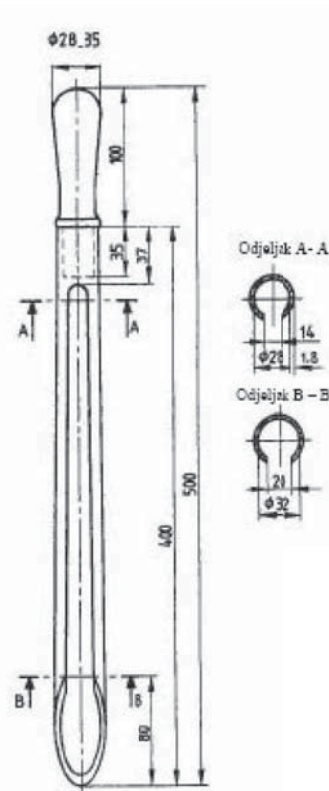
5.1. Kod manje sipkih prašaka sonde se mogu umetnuti okomito. Sonde tipa A se potpuno napune vrtnjom i mogu se izvući okomito. Sonde tipa B se potpuno napune tokom umetanja i moraju se izvući u kosom položaju kako bi se spriječili gubici na donjem kraju.

5.2. Kod sipkih prašaka, posude moraju biti nagnute, sonde umetnute u gotovo vodoravnom položaju s otvorom prema dolje, a izvučene s otvorom prema gore.

Slika 1. SONTA TIP A



Slika 2. SONTA TIP B



ANEKS II.
DIO I. PREGLED METODA ANALIZA JESTIVIH
KAZEINA I KAZEINATA

I. ODREĐIVANJE VODE U:		Метода 1.
- kiselim kazeinima	}	
- slatkim kazeinima		
- kazeinatima		
II. ODREĐIVANJE KOLIČINE BJELANČEVINA U:		Метода 2.
- kiselim kazeinima	}	
- slatkim kazeinima		
- kazeinatima		
III. ODREĐIVANJE KISELOSTI, TITRIMETRIJSKI, U:		Метода 3.
- kiselim kazeinima		
IV. ODREĐIVANJE PEPELA (uključujući P ₂ O ₅) U:		Метода 4.
- kiselim kazeinima		Метода 5.
- slatkim kazeinima		
V. ODREĐIVANJE pH U:		Метода 6.
- kazeinatima		

DIO II. METODE ANALIZA SASTAVA JESTIVIH
KAZEINA I KAZEINATA

1. Priprema uzorka za analizu

- 1.1. Opće odredbe
Masa uzorka dostavljenog u laboratorij na analizu ne smije biti manja od 200 g.
- 1.2. Priprema uzorka za analizu u laboratoriju
 - 1.2.1. Temeljito promiješati i razbiti grudve i sl. u laboratorijskom uzorku protresajući i preokrećući posudu više puta (ako je potrebno, nakon što je čitav uzorak prenesen u hermetički zatvorenu posudu dovoljnog volumena (volumena dva puta većeg od volumena uzorka) kako bi se omogućio ovaj postupak).
 - 1.2.2. Prenijeti reprezentativni dio uzorka, odnosno približno 50 g temeljito promiješanog laboratorijskog uzorka (1.2.1.) u ispitno sito (3.3.).
 - 1.2.3. Ako 50 g uzorka potpuno ili gotovo potpuno (najmanje 95% mase) prođe kroz sito (3.3.), za određivanje upotrijebiti uzorak pripremljen pod tačkom 1.2.1.
 - 1.2.4. U suprotnom, samljeti 50 g uzorka u uređaju za mljevenje (3.4.), dok uzorak ne zadovolji kriterij prolaza kroz sito (1.2.3.). Prosijani uzorak odmah prenijeti u hermetički zatvorenu posudu dovoljnog volumena (dva puta većeg od volumena uzorka) i temeljito promiješati ponovljenim protresanjem i preokretanjem. Tokom tih postupaka potrebno je preduzeti mjere kako bi se spriječila bilo kakva promjena udjela vode u uzorku.
 - 1.2.5. Nakon što je ispitni uzorak pripremljen, što je brže moguće nastaviti s određivanjem.
- 1.3. Posude
Uzorak se uvijek mora čuvati u hermetički zatvorenoj posudi.

2. Reagensi

- 2.1. Voda

- 2.1.1. Ako se voda koristi kao rastvarač, za razrjeđivanje ili za pranje, treba koristiti destiliranu ili demineraliziranu vodu najmanje jednake čistoće.
- 2.1.2. Pojam "rastvaranje" ili "razrjeđivanje", bez navođenja bilo kakvog drugog reagensa, podrazumijeva rastvaranje u vodi ili razrjeđivanje vodom.
- 2.2. Hemikalije
Sve hemikalije koje se koriste moraju biti priznate analitičke čistoće, osim gdje je drugačije navedeno.

3. Oprema

3.1. Spisak opreme

Spisak opreme sadrži samo opremu za specijalnu upotrebu te opremu koja zahtijeva posebnu specifikaciju.

3.2. Analitička vaga

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

3.3. Ispitno sito

Ispitna sita koja se upotrebljavaju moraju imati odgovarajući poklopac, moraju biti promjera 200 mm i biti izrađena od žičanog materijala nominalne veličine otvora 500 µm. Dozvoljena odstupanja od nominalne veličine otvora i promjeri žice propisani su standardom BAS ISO 3310-1 (Ispitna sita: Tehnički zahtjevi i ispitivanja – 1. dio: Ispitna sita izrađena od metalne žičane mreže). Sitna moraju imati posudu za prikupljanje.

3.4. Uređaj za mljevenje

Za mljevenje laboratorijskog uzorka, ako je potrebno (vidjeti tačku 1.2.4. ovog dijela), bez stvaranja prekomjerne toplote i bez gubitka ili apsorpcije vode, ne smije se upotrebljavati mlin čekičar.

4. Izražavanje rezultata

4.1. Rezultati

Rezultat naveden u analitičkom izvještaju predstavlja srednju vrijednost dobivenu iz najmanje dva određivanja koja zadovoljavaju kriterij ponovljivosti za tu metodu.

4.2. Izračunavanje

Ako nije drugačije navedeno, rezultat mora biti izražen kao postotak mase uzorka.

5. Izvještaj o ispitivanju

U izvještaju o ispitivanju navodi se upotrijebljena metoda analize i dobiveni rezultati. Osim toga, navode se svi detalji postupka koji nisu opisani u metodi analize ili koji nisu obavezni, kao i sve okolnosti koje su mogle uticati na dobivene rezultate. Izvještaj o ispitivanju mora sadržavati sve informacije potrebne za potpunu identifikaciju uzorka.

METODA 1.

ODREĐIVANJE UDJELA VODE

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se udio vode u:

- kiselim kazeinima,
- slatkim kazeinima,
- kazeinatima.

2. Definicija

Udio vode u kazeinima i kazeinatima je gubitak mase određen opisanom metodom.

3. Princip

Masa ostatka uzorka za ispitivanje određuje se nakon sušenja pri atmosferskom pritisku u sušioniku pri 102 ± 1 °C do konstantne mase. Gubitak mase izražava se kao postotak mase uzorka.

4. Oprema

4.1. Analitička vaga

- 4.2. Posudice s ravnim dnom, izrađene od materijala koji ne korodira u uslovima ispitivanja npr. nikla, aluminija, nehrđajućeg čelika ili stakla. Posudice moraju imati poklopce koji se mogu čvrsto zatvoriti, ali i lako ukloniti. Primjerene dimenzije su promjer 60 do 80 mm i dubina približno 25 mm.
- 4.3. Sušionik za sušenje pri atmosferskom pritisku s odgovarajućom ventilacijom i termostatski reguliranom temperaturom od 102 ± 1 °C. Temperatura mora biti jednaka u cijelom sušioniku.
- 4.4. Eksikator s aktivnim silikagelom s indikatorom prisustva vode ili odgovarajućim sredstvom za sušenje.
- 4.5. Odgovarajući pribor za rukovanje posudicama, npr. laboratorijska kliješta.

5. Postupak

5.1. Priprema uzorka

Postupiti kako je opisano u tački 1.2. ovog dijela.

5.2. Priprema posudica

Otvorene posudice i poklopce (4.2.) zagrijavati u sušioniku (4.3.) pri temperaturi 102 ± 1 °C, najmanje jedan sat.

5.2.2. Zatvorene posudice ostaviti da se ohlade u eksikatoru (4.4.) do sobne temperature i zatim izvagati s tačnošću od 0,1 mg (m_0).

5.3. Uzorak za analizu

Staviti 3 do 5 g uzorka (5.1.) u posudicu. Posudicu zatvoriti poklopcem i izvagati s tačnošću od 0,1 mg (m_1).

5.4. Određivanje

5.4.1. Otvorenu posudicu s poklopcem staviti u sušionik (4.3.) na temperaturu 102 ± 1 °C, četiri sata.

5.4.2. Zatvorenu posudicu ostaviti da se ohladi u eksikatoru (4.4.) do sobne temperature i zatim izvagati s tačnošću od 0,1 mg.

5.4.3. Otvorenu posudicu s poklopcem zagrijavati u sušioniku jedan sat. Zatim ponoviti postupak opisan u tački 5.4.2.

5.4.4. Ako je masa iz tačke 5.4.3. manja od mase iz tačke 5.4.2. za više od 1 mg, ponoviti postupak opisan u tački 5.4.3.

Ako se masa poveća, pri izračunavanju (6.1.) upotrijebiti najmanju zabilježenu masu.

Konačna zabilježena masa je m_2 (g). Ukupno vrijeme sušenja ne smije biti duže od šest sati.

6. Izražavanje rezultata

6.1. Metoda izračunavanja

Gubitak mase sušenjem, izražen kao postotak mase uzorka, izračunava se na sljedeći način:

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

pri čemu je:

m_0 = masa posudice i poklopca nakon postupka opisanog u tački 5.2., u gramima

m_1 = masa posudice, poklopca i uzorka prije sušenja (postupak opisan u tački 5.3.), u gramima

m_2 = masa posudice, poklopca i uzorka nakon sušenja (postupak opisan u tački 5.4.3. ili 5.4.4.), u gramima

Izračunati gubitak mase sušenjem s tačnošću od 0,01%.

6.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja koja provodi isti analitičar, istovremeno ili neposredno jedno za drugim, na istom uzorku te pod istim uslovima, ne smije biti veća od 0,1 g vode na 100 g proizvoda.

Ova dozvoljena razlika između dva rezultata trebalo bi da bude postignuta u 95% slučajeva kada je metoda ispravno izvedena.

METODA 2.

ODREĐIVANJE UDJELA BJELANČEVINA

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se udio bjelančevina u:

- kiselim kazeinima,
- slatkim kazeinima,
- kazeinatima.

osim onih koji sadrže amonijev kazeinat ili druge amonijeve ili dušikove neproteinske spojeve.

2. Definicija

Udio bjelančevina je umnožak udjela dušika, određenog opisanom metodom, s faktorom 6,38 i izražen u postotku.

3. Princip

Uzorak razgraditi mješavinom kalijevog sulfata i sumporne kiseline, uz bakrov (II) sulfat kao katalizator, kako bi se organski dušik pretvorio u amonijev jon. Amonijak se destilira i apsorbira u rastvor borne kiseline i zatim titrira standardnim rastvorom hloridne kiseline. Množenjem udjela dušika s faktorom 6,38 dobiva se udio bjelančevina.

4. Reagensi

- 4.1. Sumporna kiselina, koncentrirana, gustoće 1,84 g/ml.
- 4.2. Bezvodni kalijev sulfat (K_2SO_4).
- 4.3. Bakarni (II) sulfat pentahidrat ($CuSO_4 \times 5H_2O$).
- 4.4. Saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$).
- 4.5. Borna kiselina, rastvor 40 g/l.
- 4.6. Natrijev hidroksid, koncentrirani vodeni rastvor 30% (m/m), bez karbonata.
- 4.7. Hloridna kiselina (HCl), 0,1 mol/l.
- 4.8. Miješani indikator

Pomiješati jednaki volumen 2 g/l metilnog crvenila otopljenog u najmanje 95%-tnom(V/V) etanolu i 1 g/l rastvora metilenskog modrila u najmanje 95%- tnom (V/V) etanolu.

5. Oprema

- 5.1. Analitička vaga
- 5.2. Kjeldahova tikvica, 500 ml.
- 5.3. Uređaj za digestiju s Kjeldahovom tikvicom (5.2.) u nagnutom položaju te uređajem za zagrijavanje kojim se ne zagrijava dio tikvice iznad površine tekućeg sadržaja.
- 5.4. Hladilo s ravnom unutrašnjom cijevi.
- 5.5. Odvodna cijev sa sigurnosnim ventilom povezana s donjim dijelom hladila (5.4.) spojkom od brušenog stakla ili gumenom cjevčicom. Ako se upotrebljava gumena cjevčica, stakleni krajevi moraju biti blizu jedan drugome.
- 5.6. Glava za unos, povezana s Kjeldahovom tikvicom (5.2.) i hladilom (5.4.) pomoću mekane, čvrsto prijanjajuće gume ili drugih odgovarajućih čepova.
- 5.7. Erlenmajerova tikvica, 500 ml.
- 5.8. Graduirane menzure, 50 i 100 ml.
- 5.9. Bireta, 50 ml, graduirana na 0,1 ml.
- 5.10. Pomagala za vrenje
- 5.10.1. Za digestiju: komadići tvrdog porculana ili staklene kuglice.
- 5.10.2. Za destilaciju: svježe žareni kamenčići za vrenje.

6. Postupak

6.1. Priprema uzorka

Postupiti kako je opisano u tački 1.2. ovog dijela.

6.2. Ispitivanje prisustva amonijevog jona

Ako postoji sumnja da je prisutan amonijev kazeinat ili drugi amonijev spoj, potrebno je provesti sljedeću probu.

U Erlenmajerovu tikvicu odvagati 1 g uzorka, a zatim dodati 10 ml vode i 100 mg magnezijevog oksida. Sa zidova isprati magnezijev oksid i tikvicu zatvoriti plutanim čepom. Između plutanog čepa i vrata tikvice staviti komadić navlaženog

crvenog lakmus papira. Pažljivo promiješati sadržaj tikvice i zagrijati tikvicu u vodenom kupatilu pri temperaturi 60 do 65 °C. Ako se boja lakmus papira promijeni u plavu unutar 15 minuta, prisutan je amonijak i metodu nije moguće primijeniti (vidjeti tačku 1.).

6.3. Slijepa proba

Paralelno s određivanjem udjela dušika u uzorku, provesti slijepu probu sa 0,5 g saharoze (4.4.) umjesto uzorka, koristeći isti uređaj, iste količine svih reagensa i isti postupak kako je opisano u tački 6.5. Ako je utrošak 0,1 mol/l kiseline pri titraciji veći od 0,5 ml, provjeriti reagense te nečisti reagens ili reagense očistiti ili zamijeniti.

6.4. Uzorak za analizu

U Kjeldahovu tikvicu (5.2.) prenijeti 0,3 do 0,4 g uzorka (6.1.), izvaganog s tačnošću od 0,1 mg.

6.5. Određivanje

6.5.1. U tikvicu staviti nekoliko komadića porculana ili staklenih kuglica (5.10.1.) i približno 10 g bezvodnog kalijevog sulfata. Dodati 0,2 g bakarnog(II) sulfata (4.3.) i isprati vrat tikvice s malo vode. Dodati 20 ml koncentrirane sumporne kiseline (4.1.). Promiješati sadržaj tikvice. Lagano zagrijavati u uređaju za digestiju (5.3.) dok pjenjenje ne prestane, ostaviti da lagano vrije dok se rastvor ne razbistri i pojavi stabilna blijeda zeleno-plava boja. Tokom zagrijavanja povremeno okretati tikvicu. Nastaviti vrenje i regulirati zagrijavanje tako da se pare kondenziraju na sredini vrata tikvice. Nastaviti zagrijavanje još 90 minuta tako da ne dođe do lokalnog pregrijavanja. Ostaviti da se ohladi do sobne temperature i pažljivo dodati približno 200 ml vode i nekoliko kamenčića za vrenje (5.10.2.). Promiješati i ponovo ohladiti.

6.5.2. U Erlenmajerovu tikvicu (5.7.) prenijeti 50 ml borne kiseline (4.5.) i četiri kapi indikatora (4.8.). Promiješati i staviti tikvicu ispod hladila (5.4.) tako da vrh odvodne cijevi (5.5.) bude uronjen u bornu kiselinu. Pomoću graduirane menzure (5.8.) u Kjeldahovu tikvicu dodati 80 ml rastvora natrijevog hidroksida (4.6.) Tokom tog postupka držati tikvicu u nagnutom položaju kako bi rastvor natrijevog hidroksida tekao uz zid tikvice i formirao donji sloj. Odmah povezati Kjeldahovu tikvicu s hladilom pomoću glave za unos (5.6.).

Lagano rotirati Kjeldahovu tikvicu kako bi se promiješao sadržaj. Na početku lagano zagrijavati do vrenja pazeći da ne dođe do pjenjenja. Nastaviti s destilacijom tako da se 150 ml destilata sakupi za približno 30 minuta. Temperatura destilata ne smije biti veća od 25 °C. Približno dvije minute prije završetka destilacije spustiti Erlenmajerovu tikvicu tako da vrh odvodne cijevi ne bude uronjen u rastvor kiseline i isprati vrh s malo vode. Prekinuti zagrijavanje, ukloniti odvodnu cijev i isprati unutrašnje i vanjske zidove s malo vode, sakupljajući vodu u Erlenmajerovu tikvicu.

6.5.3. Titrirati destilat u Erlenmajerovoj tikvici standardnom volumetrijskim rastvorom hlorne kiseline (4.7.).

7. Izražavanje rezultata

7.1. Formula i metoda izračunavanja

Količina bjelančevina u uzorku, izražena kao postotak mase uzorka, izračunava se na sljedeći način:

$$\frac{(V_1 - V_2) \times T \times 14 \times 100 \times 6,38}{m \times 1\,000} = \frac{8,932 (V_1 - V_2) \times T}{m}$$

pri čemu je:

V_1 = volumen standardnog volumetrijskog rastvora hloridne kiseline (4.7.) utrošene pri određivanju, u ml

V_2 = volumen standardnog volumetrijskog rastvora hloridne kiseline (4.7.) utrošene za slijepu probu (6.3.), u ml

T = koncentracija standardnog volumetrijskog rastvora hloridne kiseline (4.7.), u mol/l

m = masa ispitivanog uzorka, u gramima

Izračunati udio bjelančevina s tačnošću od 0,1%.

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja koja provodi isti analitičar, istovremeno ili neposredno jedno za drugim, na istom uzorku te pod istim uslovima, ne smije biti veća od 0,5 g bjelančevina na 100 g proizvoda.

Ova dozvoljena razlika između dva rezultata trebalo bi da bude postignuta u 95 % slučajeva kada je metoda ispravno izvedena.

METODA 3.

TITRIMETRIJSKO ODREĐIVANJE KISELOSTI

1. Obim i oblast primjene

Titrimetrijskom metodom određuje se kiselost kiselih kazeina.

2. Definicija

Titracijska kiselost kiselih kazeina je volumen (ml) 0,1 mol/l standardnog rastvora natrijevog hidroksida potrebnog za neutralizaciju vodenog ekstrakta 1 g proizvoda.

3. Princip

Vodeni ekstrakt uzorka dobiva se i filtrira pri 60 °C. Filtrat se titrira standardnim rastvorom natrijevog hidroksida koristeći fenolftalein kao indikator.

4. Reagensi

Iz vode koja se koristi u postupku ili za pripremu reagensa prije upotrebe mora biti uklonjen ugljikov dioksid zagrijavanjem do vrenja 10 minuta.

4.1. Rastvor natrijevog hidroksida, 0,1 mol/l.

4.2. Rastvor indikatora fenolftaleina, 10 g/l u etanolu (95% V/V), neutraliziranom u odnosu na indikator.

5. Oprema

5.1. Analitička vaga

5.2. Erlenmajerova tikvica, 500 ml, s brušenim vratom i staklenim čepom od brušenog stakla.

5.3. Trbušasta pipeta, 100 ml.

5.4. Pipeta, primjerena za mjerenje 0,5 ml rastvora indikatora iz tačke 4.2. ove metode.

5.5. Erlenmajerova tikvica, 250 ml.

5.6. Menzura, 250 ml.

5.7. Bireta, građirana na 0,1 ml.

5.8. Vodeno kupatilo, s mogućnošću reguliranja temperature na 60 ± 2 °C.

5.9. Odgovarajući filter.

6. Postupak

6.1. Priprema uzorka za ispitivanje
Postupiti kako je opisano u tački 1.2. ovog dijela.

6.2. Uzorak za analizu

U Erlenmajerovu tikvicu (5.2.) odvagati približno 10 g uzorka za analizu (6.1.) s tačnošću od 10 mg.

6.3. Određivanje

Pomoću menzure (5.6.) dodati 200 ml svježe prokuhane i ohlađene vode, prethodno zagrijane na 60 °C. Tikvicu zatvoriti čepom, okretanjem promiješati sadržaj i staviti u vodeno kupatilo na 60 °C (5.8.) 30 minuta. Približno svakih 10 minuta protresti tikvicu. Filtrirati i ohladiti filtrat na približno 20 °C. Filtrat mora biti bistar.

Pipetom (5.3.) prebaciti 100 ml ohlađenog filtrata u Erlenmajerovu tikvicu (5.5.). Pipetom (5.4.) dodati 0,5 ml rastvora indikatora fenolftaleina (4.2.). Titrirati standardnim volumetrijskim rastvorom natrijevog hidroksida do pojave blijede

ružičaste boje koja se zadržava najmanje 30 sekundi. Odrediti i zapisati volumen s tačnošću 0,01 ml.

7. Izražavanje rezultata

7.1. Formula i metoda izračunavanja

Titracijska kiselost kiselih kazeina izračunava se na sljedeći način:

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

pri čemu je:

V = volumen utrošenog standardnog volumetrijskog rastvora natrijevog hidroksida (4.1.), u ml

T = koncentracija utrošenog standardnog volumetrijskog rastvora natrijevog hidroksida (4.1.), u mol/l

m = masa uzorka za analizu, u gramima

Rezultat se izražava na dva decimalna mjesta.

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja koja provodi isti analitičar, istovremeno ili neposredno jedno za drugim, na istom uzorku te pod istim uslovima, ne smije biti veća od 0,02 ml 0,1 mol/l natrijevog hidroksida na 1 g proizvoda.

Ova dozvoljena razlika između dva rezultata trebalo bi da bude postignuta u 95% slučajeva kada je metoda ispravno izvedena.

METODA 4.

ODREĐIVANJE PEPELA

(uključujući P_2O_5)

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se udio pepela (uključujući P_2O_5) u kiselim kazeinima.

2. Definicija

Udio pepela (uključujući P_2O_5) je udio pepela određen opisanom metodom.

3. Princip

Uzorak se spaljuje pri 825 ± 25 °C u prisustvu magnezijevog acetata kako bi se vezao sav fosfor organskog porijekla. Konačni udio pepela izračuna se nakon vaganja ostatka i oduzimanja mase pepela koji potiče od magnezijevog acetata.

4. Reagensi

4.1. Rastvor magnezijevog acetata tetrahidrata, 120 g/l.

Rastvoriti 120 g magnezijevog acetata tetrahidrata [$Mg(CH_3CO_2)_2 \times 4H_2O$] u vodi i dopuniti vodom do 1 litra.

5. Oprema

5.1. Analitička vaga

5.2. Trbušasta pipeta, 5 ml.

5.3. Posudice od kvarca ili platine, promjera približno 70 mm i dubine 25 do 50 mm.

5.4. Sušionik, s mogućnošću reguliranja temperature na 102 ± 1 °C.

5.5. Mufolna peć, s mogućnošću reguliranja temperature na 825 ± 25 °C.

5.6. Vodeno kupatilo.

5.7. Eksikator s aktivnim silikagelom s indikatorom prisustva vode ili odgovarajućim sredstvom za sušenje.

6. Postupak

6.1. Priprema uzorka

Vidjeti tačku 1.2. ovog dijela.

6.2. Priprema posudica

Zagrijavati dvije posudice (A, B) (5.3.) u mufolnoj peći na temperaturi 825 ± 25 °C, 30 minuta. Pričekati da se posudice

malo ohlade, a zatim ih staviti u eksikator (5.7.) da se ohlade na sobnu temperaturu. Izvagati posudice s tačnošću 0,1 mg.

6.3. Uzorak za analizu

Odvagati približno 3 g uzorka (6.1.) s tačnošću 0,1 mg u jednu od pripremljenih posudica (A).

6.4. Određivanje

Pipetom (5.2.) dodati tačno 5 ml rastvora magnezijevog acetata (4.1.) u posudicu (A) tako da sav uzorak bude natopljen i ostaviti da stoji 20 minuta. U drugu posudicu (B) pipetom (5.2.) dodati tačno 5 ml rastvora magnezijevog acetata (4.1.). Ispariti sadržaj obje posudice (A i B) do suhoga u kipućem vodenom kupatilu (5.6.). Zatim obje posudice staviti u sušionik (5.4.) na temperaturu 102 ± 1 °C, 30 minuta.

Zagrijavati posudicu A na slabom plamenu, vrućoj ploči ili pod infracrvenom lampom dok uzorak potpuno ne pougljeni, pazeći pri tome da se ne zapali.

Obje posudice (A i B) prenijeti u mufolnu peć (5.5.) i zagrijavati na temperaturu 825 ± 25 °C najmanje jedan sat, dok sav ugalj iz posudice A ne nestane. Pričekati da se posudice malo ohlade, a zatim ih staviti u eksikator (5.7.) da se ohlade na sobnu temperaturu. Izvagati posudice s tačnošću 0,1 mg.

Ponavljati postupak zagrijavanja približno 30 minuta, u mufolnoj peći (5.5.), hlađenja i vaganja do konstantne mase (u granicama 1 mg) ili do početka povećavanja mase. Zapisati najnižu masu.

7. Izražavanje rezultata

7.1. Metoda izračunavanja

Udio pepela, uključujući P_2O_5 , izražen kao postotak mase, izračunava se na sljedeći način:

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

pri čemu je:

m_0 = masa uzorka, u gramima

m_1 = masa posudice A i ostatka, u gramima

m_2 = masa pripremljene posudice A, u gramima

m_3 = masa posudice B i ostatka, u gramima

m_4 = masa pripremljene posudice B, u gramima

Konačni rezultat izračunati s tačnošću 0,01 %

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja koja provodi isti analitičar, istovremeno ili neposredno jedno za drugim, na istom uzorku te pod istim uslovima, ne smije biti veća od 0,1 g na 100 g proizvoda.

Ova dozvoljena razlika između dva rezultata trebalo bi da bude postignuta u 95% slučajeva kada je metoda ispravno izvedena.

METODA 5.

ODREĐIVANJE PEPELA

(uključujući P_2O_5)

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se udio pepela (uključujući P_2O_5) u slatkim kazeinima.

2. Definicija

Udio pepela (uključujući P_2O_5) je udio pepela određen opisanom metodom.

3. Princip

Uzorak se spaljuje pri temperaturi 825 ± 25 °C do konstantne mase. Ostatak se vaga i izražava kao postotak mase uzorka.

4. Oprema

4.1. Analitička vaga

4.2. Posudica od kvarca ili platine, promjera približno 70 mm i dubine 25 do 50 mm.

4.3. Mufolna peć, s ventilacijom i mogućnošću reguliranja temperature na 825 ± 25 °C.

4.4. Eksikator s aktivnim silikagelom s indikatorom prisustva vode ili odgovarajućim sredstvom za sušenje.

5. Postupak

5.1. Priprema uzorka

Postupiti kako je opisano u tački 1.2. ovog dijela.

5.2. Priprema posudice

Zagrijavati posudicu (4.2.) u mufolnoj peći iz tačke 4.3. ove metode, na temperaturi 825 ± 25 °C, 30 minuta. Pričekati da se posudica malo ohladi, a zatim ju staviti u eksikator iz tačke 4.4. ove metode, da se ohladi na sobnu temperaturu. Izvagati posudicu s tačnošću 0,1 mg.

5.3. Uzorak za analizu

U posudicu odvagati približno 3 g uzorka (5.1.) s tačnošću 0,1 mg.

5.4. Određivanje

Zagrijavati posudicu na slabom plamenu, vrućoj ploči ili pod infracrvenom lampom dok uzorak potpuno ne pougljeni, pazeći pri tome da se ne zapali.

Posudicu prenijeti u mufolnu peć (4.3.) na temperaturu 825 ± 25 °C i zagrijavati najmanje 1 sat, dok sav ugalj iz posudice ne nestane. Pričekati da se posudica malo ohladi, a zatim ju staviti u eksikator (4.4.) da se ohladi na sobnu temperaturu. Izvagati posudicu s tačnošću 0,1 mg.

Ponavljati postupak zagrijavanja približno 30 minuta, u mufolnoj peći (4.3.), hlađenja i vaganja do konstantne mase (u granicama 1 mg) ili do početka povećavanja mase. Zapisati najnižu masu.

6. Izražavanje rezultata

6.1. Metoda izračunavanja i formula

Udio pepela, uključujući P_2O_5 , izražen kao postotak mase, izračunava se na sljedeći način:

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

pri čemu je:

m_0 = masa uzorka, u gramima

m_1 = masa posudice i ostatka, u gramima

m_2 = masa pripremljene posudice, u gramima

Konačni rezultat izračunati s tačnošću 0,01%.

6.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja koja provodi isti analitičar, istovremeno ili neposredno jedno za drugim, na istom uzorku te pod istim uslovima, ne smije biti veća od 0,15 g na 100 g proizvoda.

Ova dozvoljena razlika između dva rezultata trebalo bi da bude postignuta u 95% slučajeva kada je metoda ispravno izvedena.

METODA 6.

ODREĐIVANJE pH VRIJEDNOSTI

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se pH vrijednost kazeinata.

2. Definicija

pH vrijednost kazeinata je pH vodenog rastvora kazeinata pri 20°C određen opisanom metodom.

3. Princip

Elektrometrijsko određivanje pH vrijednosti vodenog rastvora kazeinata pomoću pH metra.

4. Reagensi

Voda koja se koristi za pripremu reagensa ili u postupku (6.) mora biti svježe destilirana, bez apsorbiranog ugljikovog dioksida.

4.1. Puferski rastvori, za baždarenje pH metra (5.2.)

Dva standardna puferska rastvora s pH vrijednostima pri 20 °C, izraženim na dva decimalna mjesta, kojima se tačno određuje pH vrijednost ispitivanog uzorka, npr. fталatni puferski rastvor s pH vrijednosti približno 4 i boraksov puferski rastvor s pH vrijednosti približno 9.

5. Oprema

- 5.1. Vaga, s tačnošću 0,1 g.
- 5.2. pH metar, najmanje osjetljivosti 0,05 pH jedinica, s odgovarajućom baždarenom elektrodom, npr. staklenom elektrodom i kalomel elektrodom ili drugom referentnom elektrodom.
- 5.3. Termometar, s tačnošću 0,5 °C.
- 5.4. Erlenmajerova tikvica, 100 ml, s čepom od brušenog stakla.
- 5.5. Čaša, 50 ml.
- 5.6. Miješalica.
- 5.7. Čaša, za miješalicu (5.6.), 250 ml.

6. Postupak

- 6.1. Priprema uzorka
Postupiti kako je opisano u tački 1.2. ovog dijela.
- 6.2. Određivanje
6.2.1. Baždarenje pH metra
Podesiti temperaturu puferskih rastvora (4.1.) na 20 °C i baždariti pH metar u skladu s uputstvima proizvođača.

Napomene:

1. Baždarenje treba provesti za vrijeme 20 minuta stajanja rastvora (vidjeti tačku 6.2.2.).
2. Pri ispitivanju serije uzoraka provjeravati baždarenost pH metra jednom ili više standardnih rastvora najmanje svakih 30 minuta.

6.2.2. Priprema rastvora za ispitivanje

U čašu (5.7.) odvagati 5 g uzorka (6.1.), dodati 95 ml vode i miješati miješalicom (5.6.) 30 sekundi. Rastvor pustiti da stoji 20 minuta pri temperaturi približno 20 °C, pokriven satnim stakalcem.

6.2.3. Mjerenje pH

- 6.2.3.1. U čašu (5.5.) uliti približno 20 mL rastvora i odmah očitati pH vrijednost tekućine pomoću pH metra (5.2.). Prije mjerenja potrebno je staklenu elektrodu pažljivo isprati vodom.

6.2.3.2. Izmjeriti pH.

7. Izražavanje rezultata

7.1. Zapisivanje pH vrijednosti

Kao pH vrijednost rastvora kazeinata očitati vrijednost na pokazatelju pH metra na najmanje dva decimalna mjesta.

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja koja provodi isti analitičar, istovremeno ili neposredno jedno za drugim, na istom uzorku te pod istim uslovima, ne smije biti veća od 0,05 pH jedinica.

Ova dozvoljena razlika između dva rezultata trebalo bi da bude postignuta u 95% slučajeva kada je metoda ispravno izvedena.