

Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza radi kontrole kvaliteta proizvoda od voća i povrća

("Sl. list SFRJ", br. 29/83)

Sadržaj

1. ODREĐIVANJE RASTVORLJIVE SUVE MATERIJE (Refraktometrijska metoda)
2. ODREĐIVANJE UKUPNE SUVE MATERIJE
3. ODREĐIVANJE DIREKTNO REDUKUJUĆIH I UKUPNIH ŠEĆERA – LUFFOVIM RASTVOROM
4. ODREĐIVANJE MINERALNIH NEČISTOĆA
5. ODREĐIVANJE PEPELA NERASTVORLJIVOG U HLOROVODONIČNOJ KISELINI
6. ODREĐIVANJE VREDNOSTI pH
7. ODREĐIVANJE BENZOJEVE KISELINE (Spektrofotometrijska metoda)
8. ODREĐIVANJE SORBINSKE KISELINE (Spektrofotometrijska metoda)
9. ODREĐIVANJE ETANOLA
10. ODREĐIVANJE HLORIDA U POVRĆU
11. ODREĐIVANJE PEKTINA KOLORIMETRIJSKOM METODOM
12. ODREĐIVANJE ALKALITETA UKUPNOG I U VODI RASTVORLJIVOG PEPELA
13. ODREĐIVANJE ETARSKIH ULJA
14. ODREĐIVANJE ETARSKOG EKSTRAKTA ZAČINSKE PAPRIKE
15. ODREĐIVANJE L-ASKORBINSKE KISELINE
16. ODREĐIVANJE UKUPNOG SUMPOR-DIOKSIDA

Prilog A

Prilog B

17. ODREĐIVANJE ISPARLJIVIH KISELINA
18. ODREĐIVANJE UKUPNE KISELOSTI
19. ODREĐIVANJE SINTETSKIH BOJA
20. ODREĐIVANJE PRIRODNIH BOJA
21. ODREĐIVANJE MRAVLJE KISELINE
22. ODREĐIVANJE MATERIJA NERASTVORLJIVIH U ETANOLU

1. ODREĐIVANJE RASTVORLJIVE SUVE MATERIJE (Refraktometrijska metoda) 4
2. ODREĐIVANJE UKUPNE SUVE MATERIJE 7
3. ODREĐIVANJE DIREKTNO REDUKUJUĆIH I UKUPNIH ŠEĆERA – LUFFOVIM RASTVOROM 10
4. ODREĐIVANJE MINERALNIH NEČISTOĆA 14
5. ODREĐIVANJE PEPELA NERASTVORLJIVOG U HLOROVODONIČNOJ KISELINI 15
6. ODREĐIVANJE VREDNOSTI pH 16
7. ODREĐIVANJE BENZOEVE KISELINE (Spektrofotometrijska metoda) 17
8. ODREĐIVANJE SORBINSKE KISELINE (Spektrofotometrijska metoda) 20
9. ODREĐIVANJE ETANOLA 23
10. ODREĐIVANJE HLORIDA U POVRĆU 25
11. ODREĐIVANJE PEKTINA KOLORIMETRIJSKOM METODOM 26
12. ODREĐIVANJE ALKALITETA UKUPNOG I U VODI RASTVORLJIVOG PEPELA 29
13. ODREĐIVANJE ETARSKIH ULJA 31
14. ODREĐIVANJE ETARSKOG EKSTRAKTA ZAČINSKE PAPRIKE 32
15. ODREĐIVANJE L-ASKORBINSKE KISELINE 33
16. ODREĐIVANJE UKUPNOG SUMPOR-DIOKSIDA 35
17. ODREĐIVANJE ISPARLJIVIH KISELINA 39
18. ODREĐIVANJE UKUPNE KISELOSTI 42
19. ODREĐIVANJE SINTETSKIH BOJA 45
20. ODREĐIVANJE PRIRODNIH BOJA 48
21. ODREĐIVANJE MRAVLJE KISELINE 49
22. ODREĐIVANJE MATERIJA NERASTVORLJIVIH U ETANOLU 51

Član 1

Kontrola kvaliteta proizvoda od voća i povrća, u smislu ovog pravilnika, vrši se na uzorcima uzetim za ispitivanje, po metodama koje su propisane ovim pravilnikom.

Član 2

Pod metodama kojima se vrši kontrola kvaliteta proizvoda od voća i povrća podrazumevaju se:

- 1) metode uzimanja uzoraka proizvoda od voća i povrća;
- 2) metode hemijskih i fizičkih analiza.

Metode iz stava 1 tačka 2 ovog člana propisane su kao obavezne, odštampane uz ovaj pravilnik i čine njegov sastavni deo.

Član 3

Metodama uzimanja uzoraka proizvoda od voća i povrća utvrđuju se postupak i način uzimanja uzoraka na kojima se vrši kontrola kvaliteta ovih proizvoda.

Član 4

Metodama hemijskih i fizičkih analiza utvrđuju se uslovi i postupci za vršenje hemijskih i fizičkih ispitivanja na uzorcima proizvoda od voća i povrća radi proveravanja hemijskih i fizičkih svojstava proizvoda.

Član 5

Svi reagensi koji se upotrebljavaju za vršenje hemijskih analiza proizvoda na koje se odnose odredbe ovog pravilnika moraju biti analitičke čistoće p.a., a voda mora biti destilovana.

Član 6

U izveštaju o izvršenom hemijskom i fizičkom ispitivanju moraju biti prikazani rezultati utvrđeni primenom propisanih hemijskih i fizičkih metoda analize, obuhvaćenih ovim pravilnikom.

Član 7

Preciznost određivanja hemijskim metodama analize, shodno ovom pravilniku, utvrđuje se prema principima savremene analitičke prakse, a izražava se kao apsolutno ili relativno odstupanje od proseka dobijenog na osnovu rezultata najmanje dva paralelna određivanja.

Dozvoljena razlika rezultata dva pojedinačna određivanja, koja su izvršena paralelno ili ubrzo jedno za drugim na istom uzorku za ispitivanje, istom metodom, u istim uslovima, od istog analitičara i u istoj laboratoriji, mora biti u granicama propisane metode, ako je to utvrđeno ovim pravilnikom.

1. Metode uzimanja uzoraka proizvoda od voća i povrća

Član 8

Uzorke proizvoda od voća i povrća, shodno ovom pravilniku, mora da uzima stručno lice.

Član 9

Uzorci proizvoda od voća i povrća uzimaju se:

- u proizvodnji, na proizvodnim partijama;
- u prometu, na ambalažnim jedinicama.

Član 10

Uzorci proizvoda od voća i povrća u proizvodnji moraju se uzimati tako da je svaku ambalažnu jedinicu proizvodne partije podjednako moguće izabrati kao uzorak za ispitivanje.

Uzorci proizvoda od voća i povrća u prometu moraju se uzimati tako da je svaku ambalažnu jedinicu koja je stavljena u promet podjednako moguće izabrati kao uzorak za ispitivanje.

Način na koji se uzima uzorak mora biti isti u proizvodnji i prometu.

Član 11

Uzorak proizvoda od voća i povrća koji se uzima za ispitivanje mora da predstavlja prosečan sastav celokupne količine proizvoda od koje se uzima uzorak.

Član 12

Pod proizvodnom partijom (serijom) proizvoda od voća i povrća, u smislu ovog pravilnika, podrazumeva se odgovarajuća količina proizvoda iste vrste, proizvedena istom tehnologijom u istim uslovima, upakovana u ambalažne jedinice odgovarajuće mase ili zapremine, sa obaveznom oznakom za identifikaciju.

Pod ambalažnim jedinicama proizvoda od voća i povrća podrazumevaju se utvrđene količine proizvoda iste vrste, upakovane u pojedinačna ambalažna pakovanja odgovarajuće mase ili zapremine, sa obaveznom oznakom za identifikaciju.

Član 13

Uzorak proizvoda od voća i povrća mora da sadrži najmanje dva primerka uzeta pojedinačno, s tim što oni moraju biti identični po sastavu i jednaki po masi, odnosno zapremini koja je potrebna za fizičke i hemijske analize.

Broj uzoraka proizvoda od voća i povrća zavisi od vrste proizvoda, mase ili zapremine proizvoda u

ambalažnoj jedinici, kao i od količine proizvoda od koje se uzima uzorak, a utvrđuje se na osnovu tabele iz ovog pravilnika.

Član 14

Ako su za uzorak uzeta više od dva pojedinačna primerka, formira se jedan uzorak, s tim što svaki primerak može biti izdvojen za uzorak.

Uzorak mora da sadrži najmanje dva identična primerka. Jedan primerak stručno lice odmah dostavlja na analizu, a drugi služi za superanalizu.

Na zahtev predstavnika organizacije udruženog rada, mora se uzeti i treći identičan primerak, koji se stavlja na raspolaganje tom predstavniku.

Član 15

Prilikom uzimanja uzorka proizvoda od voća i povrća stručno lice koje uzima uzorak za ispitivanje mora da sačini zapisnik, u koji unosi podatke značajne za rezultat ispitivanja: mesto, uslove čuvanja, datum i vreme uzimanja uzorka, vrstu i količinu proizvoda od koga se uzima uzorak, broj uzetih uzoraka i količinu uzetog uzorka, oznake za identifikaciju uzorka i količinu uzorka koja se dostavlja na ispitivanje.

Zapisnik potpisuje stručno lice koje uzima uzorak, kao i predstavnik organizacije udruženog rada.

Tabela

Proizvodi od voća i povrća	Količina od koje se uzima uzorak	Broj uzoraka za ispitivanje
1	2	3
a) ambalažne jedinice do 1 kg	- do 3000 ambalažnih jedinica	najmanje 1 uzorak
	- za svakih daljih 1000 ambalažnih jedinica	najmanje 1 uzorak
b) ambalažne jedinice od 1 kg do 5 kg	- do 6000 ambalažnih jedinica	najmanje 1 uzorak
	- za svakih daljih 6000 ambalažnih jedinica	najmanje 1 uzorak
v) ambalažne jedinice preko 5 kg	- do 15000 ambalažnih jedinica	najmanje 1 uzorak
	- za svakih daljih 15000 ambalažnih jedinica	najmanje 1 uzorak

Član 16

Uzorci se označavaju oznakom koja se ne može lako skinuti ili izbrisati, a zatim se utiskuje službeni pečat ili se stavlja plomba.

Uzorci proizvoda od voća i povrća moraju se pakovati tako da se obezbede uslovi čuvanja propisani odredbama o normama kvaliteta proizvoda od voća, povrća, pečurki i pektinskih preparata.

2. Metode hemijskih i fizičkih analiza za kontrolu kvaliteta proizvoda od voća i povrća

Član 17

Metodama hemijskih i fizičkih analiza kojima se vrši kontrola kvaliteta proizvoda od voća i povrća obuhvata se:

1. određivanje rastvorljive suve materije;
2. određivanje ukupne suve materije;
3. određivanje direktno redukujućih i ukupnih šećera;
4. određivanje mineralnih nečistoća;
5. određivanje pepela nerastvorljivog u hlorovodoničnoj kiselini;
6. određivanje vrednosti pH;
7. određivanje benzoeve kiseline;
8. određivanje sorbinske kiseline;
9. određivanje etanola (etil-alkohola);
10. određivanje hlorida;
11. određivanje pektina;
12. određivanje alkaliteta ukupnog pepela i u vodi rastvorljivog pepela;
13. određivanje etarskih ulja;
14. određivanje etarskog ekstrakta začinske paprike;
15. određivanje L-askorbinske kiseline;
16. određivanje ukupnog sumpor-dioksida;
17. određivanje isparljivih kiselina;
18. određivanje ukupne kiselosti;
19. određivanje sintetskih boja;
20. određivanje prirodnih boja;
21. određivanje materija nerastvorljivih u etanolu (etil-alkoholu);
22. određivanje mravlje kiseline.

Član 18

Ovaj pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objavljivanja u "Službenom listu SFRJ", a primenivaće se po isteku šest meseci od dana objavljivanja.

METODE

VRŠENJA HEMIJSKIH I FIZIČKIH ANALIZA

RADI KONTROLE KVALITETA PROIZVODA

OD VOĆA I POVRĆA

1. ODREĐIVANJE RASTVORLJIVE SUVE MATERIJE (Refraktometrijska metoda)

Princip i primena

Određivanje rastvorljive suve materije u proizvodima od voća i povrća zasniva se na očitavanju rastvorljive suve materije direktno na skali refraktometra ili na merenju indeksa refrakcije ispitivanog rastvora na 20°C refraktometrom, na osnovu kog se, pomoću tabele, izračunava količina rastvorljive suve materije.

Ova metoda se primenjuje prvenstveno na tečne i poluguste (kašaste) proizvode od voća i povrća, kao i na proizvode sa celim plodovima i delovima plodova.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, potrebni su:

- 1) refraktometar sa skalom za merenje indeksa refrakcije graduisanom na 0,001, sa mogućnošću procene do 0,0002, koji mora biti podešen tako da na 20oC pokazuje indeks refrakcije destilovane vode 1,3330;
- 2) refraktometar sa skalom za direktno očitavanje suve materije (mase saharoze) u procentima, graduisan na 0,5%, sa mogućnošću procene 0,25%, koji mora biti podešen tako da na 20oC pokazuje za destilovanu vodu 0% suve materije;
- 3) uređaj za cirkulaciju vode koji održava konstantnu temperaturu prizmi refraktometra na 20oC, sa tačnošću 0,5oC.

Pripremanje uzoraka za ispitivanje

- Tečni proizvodi. – Laboratorijski uzorak se dobro izmeša i direktno koristi za određivanje.
- Polugusti proizvodi. – Uzorak se homogenizuje i jedan deo protisne kroz četvorostruku gazu. Prvih nekoliko kapi se odbaci, a ostatak tečnosti služi za određivanje.
- Gusti i čvrsti proizvodi. – U tariranu čašu unese se 40 g uzorka, mereno sa tačnošću 0,01 g, i doda se 100 do 150 ml destilovane vode. Čaša sa sadržajem zagreva se na toplom kupatilu i ostavi da ključa 2 do 3 minuta, a zatim se sadržaj dobro izmeša staklenim štapićem. Posle 20 minuta izmeri se sa tačnošću 0,01 g i filtrira kroz naborani filtrir-papir i suv sud. Ovaj filtrat služi za određivanje.
- Smrznuti proizvodi. – Posle odmrzavanja uzorka, ako je potrebno, odstrane se semenke i semene lože, proizvod se izmeša zajedno sa tečnošću koja se obrazuje pri odmrzavanju i postupi, zavisno od konzistencije, kako je propisano za poluguste ili guste proizvode.
- Dehidrisani proizvodi. – Deo laboratorijskog uzorka se iseče na komadiće, ako je potrebno izvade se semenke i semene lože i sadržaj brižljivo izmeša. U tariranu čašu unese se 10 do 20 g uzorka, mereno sa tačnošću 0,01 g, a zatim se doda 5 do 10 puta veća masa destilovane vode. Čaša, sa sadržajem, stavi se na toplo ili ključalo vodeno kupatilo 30 minuta, uz povremeno mešanje staklenim štapićem. Ako je potrebno, vreme zagrevanja se produži do dobijanja homogene smeše. Smeša se ohladi i dobro promeša. Posle 20 minuta, izmeri se sadržaj sa tačnošću 0,01 g i filtrira se kroz naborani filtrir-papir. Ovaj filtrat služi za određivanje.

Određivanje

Ispitivani rastvor dovede se na zahtevanu temperaturu merenja i stavi mala količina (2-3 kapi) na donju učvršćenu prizmu refraktometra. Preko nje se odmah stavi gornja pokretna prizma. Izvor svetlosti se podesi tako da dobro osvetli vidno polje, a pokretna skala se podesi tako da granična linija svetlog i tamnog polja bude oštra.

Očitava se, zavisno od vrste refraktometra, indeks refrakcije ili procent saharoze.

Određivanje se vrši dva puta na istom pripremljenom uzorku za ispitivanje.

Korekcija

Ako je određivanje izvršeno na temperaturi različitoj od 20oC 0,5oC, vrši se sledeća korekcija:

a) za refraktometar sa skalom za očitavanje indeksa refrakcije $n_{20D} = n_t D + 0,00013(t-20)(1)$ gde je t = temperatura merenja u Celzijusovim stepenima;

b) za refraktometar sa skalom koja označava procent mase saharoze korekcija rezultata vrši se u skladu sa tabelom 1.

Izračunavanje

Za refraktometar sa skalom za očitavanje indeksa refrakcije izračunavanje se vrši na sledeći način: na tabeli 2 očitava se procent saharoze koji odgovara očitanoj vrednosti indeksa refrakcije, a koja je

korigovana, ako je potrebno, u skladu sa formulom (1).

Ako je proizvod tečan ili polugust, količina rastvorljivih suvih materija se izračunava:

$$P \times m_1$$

----- (2)

$$m_0$$

gde je: P – procent mase rastvorljive suve materije u razblaženom rastvoru;

m₀ – masa uzorka pre razblaženja, u g;

m₁ – masa uzorka posle razblaženja, u g.

Kao rezultat uzima se aritmetička sredina dobijena od dva paralelna merenja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Rezultat se izražava jednom decimalom.

Za refraktometar sa skalom koja označava procent mase saharoze kod tečnih i polugustih proizvoda količina rastvorljive suve materije jednaka je očitanoj vrednosti, a ako je potrebno, koriguje se prema tabeli 1.

Ako se uzorak razblažuje, sadržaj rastvorljivih suvih materija izračunava se prema formuli (2).

Ako su zadovoljeni zahtevi u pogledu ponovljivosti, za rezultat se uzima aritmetička sredina dva ponavljanja.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 0,5 g rastvorljive suve materije na 100 g proizvoda.

TAČNOST OČITAVANJA REFRAKTOMETRA SA SKALOM KOJA POKAZUJE SAHAROZU ZA TEMPERATURU RAZLIČITU OD 20 0,5oC

Tabela 1

Ocitavanje sa skale kolicine rastvorljive suve materije, u procentima (m/m)										
Temperatura oC	5	10	15	20	25	30	40	50	60	70
Vrednost korekcije koja se oduzima										
15	0,29	0,31	0,33	0,34	0,34	0,35	0,37	0,38	0,39	0,4
16	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,28	0,3	0,3	0,31	0,32
17	0,18	0,19	0,2	0,21	0,21	0,21	0,22	0,23	0,23	0,24
18	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,16	0,16

19	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08
Vrednost korekcije koja se dodaje										
21	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
22	0,13	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16
23	0,2	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24
24	0,27	0,28	0,29	0,3	0,3	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32
25	0,35	0,36	0,37	0,38	0,38	0,39	0,4	0,4	0,4	0,4

INDEKS REFRAKCIJE I ODGOVARAJUĆI PROCENT RASTVORLJIVE SUVE MATERIJE (SAHAROZA)

Tabela 2

Indeks refrakcije Količina rastvorljive suve materije (saharoza) Indeks refrakcije Količina rastvorljive suve materije (saharoza) Indeks refrakcije Količina rastvorljive suve materije (saharoza) Indeks refrakcije Količina rastvorljive suve materije (saharoza)

n20 D	%(m/m)	n20 D	%(m/m)	n20 D	%(m/m)	n20 D	%(m/m)
1,333 0	0	1,367 2	22	1,407 6	44	1,455 8	66
1,334 4	1	1,368 9	23	1,409 6	45	1,458 2	67
1,335 9	2	1,370 6	24	1,411 7	46	1,460 6	68
1,337 3	3	1,372 3	25	1,413 7	47	1,463 0	69
1,338 8	4	1,374 0	26	1,415 8	48	1,465 4	70
1,340 3	5	1,375 8	27	1,417 9	49	1,467 9	71
1,341 8	6	1,377 5	28	1,420 1	50	1,470 3	72
1,343 3	7	1,379 3	29	1,422 2	51	1,472 8	73
1,344 8	8	1,381 1	30	1,424 3	52	1,475 3	74
1,346 3	9	1,382 9	31	1,426 5	53	1,477 8	75
1,347 8	10	1,384 7	32	1,428 6	54	1,480 3	76

1,349 4	11	1,386 5	33	1,430 8	55	1,482 9	77
1,350 9	12	1,388 3	34	1,433 0	56	1,485 4	78
1,352 5	13	1,390 2	35	1,435 2	57	1,488 0	79
1,354 1	14	1,392 0	36	1,437 4	58	1,490 6	80
1,355 7	15	1,393 9	37	1,439 7	59	1,493 3	81
1,357 3	16	1,395 8	38	1,441 9	60	1,495 9	82
1,358 9	17	1,397 8	39	1,444 2	61	1,498 5	83
1,360 5	18	1,399 7	40	1,446 5	62	1,501 2	84
1,362 2	19	1,401 6	41	1,448 8	63	1,503 9	85
1,363 8	20	1,403 6	42	1,451 1	64		
1,365 5	21	1,405 6	43	1,453 5	65		

2. ODREĐIVANJE UKUPNE SUVE MATERIJE

Princip i primena

Ukupnu suhu materiju sačinjava celokupna količina materije iz sastava proizvoda, koja ne isparava pod definisanim uslovima.

Zavisno od sastava proizvoda, za određivanje ukupne suve materije primenjuju se tri postupka:

- sušenje na 105oC – za sve proizvode od voća i povrća, osim za proizvode sa velikom količinom šećera, odnosno etarskih ulja;
- sušenje u vakuumu – za proizvode čiji se sastav menja dugim sušenjem, kao i za proizvode u kojima sadržaj vode iznosi najmanje 10%;
- destilacija (rekuperacija) – za proizvode sa znatno sniženom količinom vode i velikom količinom isparljivih sastojaka, kao i za proizvode u kojima je količina vode manja od 10% (sušeno voće i povrće i praškasti proizvodi od voća i povrća).
- Sušenje na 105oC

Princip

Ovim postupkom određuje se ostatak posle sušenja na 105oC do konstantne mase.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) laboratorijska sušnica;

- 2) eksikator sa sredstvom za sušenje;
- 3) sudovi od aluminijuma ili nerđajućeg čelika ili stakleni sudovi sa ravnim dnom, prečnika 60 mm, dubine 25 mm, s poklopcem kojim se sud hermetički zatvara, a koji se lako skida;
- 4) analitička vaga;
- 5) stakleni štapić odgovarajuće dužine, zavisno od veličine suda;
- 6) naborani filtrir-papir koji sagoreva bez pepela;
- 7) pesak koji se koristi za guste proizvode i koji treba da bude tretiran sa 5%-nom hlorovodoničnom kiselinom, ispran od ostataka HCl, osušen i prosejan kroz sito, tako da čestice budu veličine 100 do 400 m, a posle toga žaren.

Pripremanje uzorka za sušenje

- Tečni ili polutečni proizvodi. – Uzorak se homogenizuje mešanjem.
- Gusti, kašasti ili heterogeni proizvodi. – Uzorci se izmešaju i odvoji se količina koja je dovoljna za najmanje dva određivanja (uzorak se homogenizuje mešanjem ili drobljenjem u tarioniku).

Količina uzorka za ispitivanje

Tečni i polutečni proizvodi

Metalni sud sa trakom naboranog filtrir-papira suši se u sušnici, zajedno sa skinutim poklopcem, pod definisanim uslovima, zatim se poklopac stavi na sud, sud se izvadi iz sušnice i hladi u eksikatoru, a potom meri sa tačnošću 0,0002 g.

Iz pripremljenog uzorka pipetom se izdvoji 10 ml za tečan, a nekoliko mililitara za polutečan proizvod, brzo nanese na filtrir-papir u izmerenom sudu i odmah stavi poklopac. Sud, zajedno sa uzorkom, meri se sa tačnošću 0,0002 g.

Gusti (kašasti) ili heterogeni proizvodi

U metalni, osušeni i izmereni sud stavi se 10 g do 20 g peska i stakleni štapić, a potom se suši u sušnici pod određenim uslovima, zajedno sa skinutim poklopcem. Poklopac se stavi na sud, sud se izvadi iz sušnice i hladi u eksikatoru, a zatim meri sa tačnošću 0,0002 g.

U ohlađeni i izmereni sud sa peskom unese se 2 g do 5 g pripremljenog uzorka, dobro izmeša staklenim štapićem i sve zajedno izmeri sa tačnošću 0,002 g (ako je mešanje otežano, posle merenja suda doda se malo destilovane vode).

Sušenje u sušnici na 105oC 0,5oC

Metalni sud u kome se nalazi filtrir-papir i ispitivana količina uzorka stavi se u laboratorijsku sušnicu zagrejanu na 105o C 0,5oC, zagreva se pri atmosferskom pritisku, sa skinutim poklopcem, u trajanju od 1 časa. Posle merenja, sušenje se nastavlja sve dok se posle dva uzastopno izvedena sušenja u intervalu od 0,5 časa, posle hlađenja i merenja, ne pokaže razlika manja od 0,001 g. Merenja se vrše sa tačnošću 0,0002 g.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

b) Sušenje u vakuum-sušnici

Princip

Ovim postupkom određuje se ostatak posle sušenja do konstantne mase pod sniženim pritiskom od 30 mbar u struji suvog vazduha protoka 40 l/h, na temperaturi 70oC.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme koristi se:

1) laboratorijska sušnica u kojoj je moguće sušenje na temperaturi 70o C pod sniženim pritiskom 2 KPa (30 mbar) u struji suvog vazduha (10 ili 40 l/h) čiji je protok meren pre ulaska u sušnicu pod normalnim pritiskom. Vazduh se suši prolaskom kroz bocu za ispiranje u kojoj se nalazi koncentrisana sumporna kiselina.

Temperatura sušnice mora biti ista na svakom mestu prostora za sušenje.

Pripremanje uzorka za sušenje

Tečni i polutečni proizvodi

Osušen i izmeren metalni sud sa filtrir-papirom i ispitivanim uzorkom stavi se u vakuum-sušnicu na 70o C i suši pod sniženim pritiskom 30 mbar u struji suvog vazduha sa protokom od 40 l/h, tačno 3 časa. Posle hlađenja u eksikatoru i merenja sa tačnošću 0,0002 g, sušenje se nastavlja u istim uslovima, sve dok razlika dva uzastopna merenja, u razmaku od 1 časa, bude manja od 0,001 g.

Gusti, kašasti i heterogeni proizvodi

Osušena i izmerena metalna posuda sa peskom, staklenim štapićem i ispitivanim uzorkom stavi se u vakuum-sušnicu na 70o C. Suši se pod sniženim pritiskom (30 mbar) u struji suvog vazduha protoka 10 l/h, 3 časa sa skinutim poklopcem. Zatim se poklopac stavi na sud, sud se izvadi iz sušnice, ohladi u eksikatoru i posle toga meri sa tačnošću 0,0002 g, sušenje se nastavlja u istim uslovima, sve dok razlika dva uzastopna merenja, u razmaku od 4 časa, bude manja od 0,001 g.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje za postupke a) i b)

Procent mase ukupne suve materije je jednak.

$M_2 - M_0$

(—————) " 100

$M_1 - M_0$

gde je:

M_0 – masa suda i pomoćnog materijala (filtrir-papir, pesak, stakleni štapić, poklopac), u g;

M_1 – masa istog suda sa ispitivanim uzorkom pre sušenja, u g;

M_2 – masa istog suda sa ostatkom posle sušenja, u g.

Kao rezultat uzima se prosečno utvrđena vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Rezultat se izražava jednom decimalom.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 1% za rezultate ukupne suve materije koji su veći od 10 g u 100 g proizvoda, odnosno 2% za rezultate ukupne suve materije koji su manji od 10 g u 100 g proizvoda, od prosečno utvrđene vrednosti.

Napomena:

Ako proizvod sadrži malu količinu vode, rezultat se može izraziti kao procent mase vode.

v) Određivanje vode destilacijom – po Dean-Starku

Princip

Voda iz ispitivanog uzorka se predestiliše u specijalnoj aparaturi pomoću organskog rastvarača koji se ne meša sa vodom, a zatim se izmeri predestilisana količina u graduisanoj cevi.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) aparat po Dean-Starku (slika 1), baždaren pre prve upotrebe;
- 2) električni aparat za zagrevanje, snabdeven uređajem za kontrolu temperature ili vodeno kupatilo;
- 3) analitička vaga.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- benzen;
- toluen.

Napomena:

Da bi se iz graduisane epruvete i unutrašnjosti kondenzatora odstranio svaki trag masnoće, aparaturu treba očistiti mešavinom hrom-sumporne kiseline i isprati destilisanom vodom, a zatim acetonom. Aparatura se zatim osuši u struji vazduha bez zagrevanja.

Pripremanje uzorka

Laboratorijski uzorak se dobro izmeša.

Količina uzorka za ispitivanje

Odmeri se 5 g do 100 g pripremljenog uzorka za ispitivanje (na aluminijumskom listiću), sa tačnošću 0,01 g (količina uzorka za ispitivanje zavisi od količine vode).

Određivanje

Odmerena količina uzorka za ispitivanje stavi se u tikvicu za destilisane i prelije potrebnom količinom organskog rastvarača, čija zapremina ne sme biti veća od 2/3 zapremine tikvice za destilisane.

Zatim se aparatura sastavi, pusti se voda kroz hladnjak i pristupi se destilaciji.

Prilikom destilacije vodena para i para organskog rastvarača prelaze u graduisanu cev u kojoj se kondenzuju i skupljaju, dok se višak rastvarača vraća natrag. Destilacija se vrši sve dok prelazi voda, a to se poznaje po tome što je kondenzovana tečnost mutna i što se kapi vode odvajaju i skupljaju u graduisanoj cevi.

Kad voda u graduisanoj epruveti prestane da se skuplja i kad prelazi potpuno bistar bezvodni kondenzat organskog rastvarača, destilacija se produži još 15 minuta. Tada se prekida zagrevanje i ostavi izvesno vreme da se voda potpuno odeli. Pri destilaciji zaostaju kapljice vode u cevi kondenzatora i na zidovima posude u koju se hvata destilat. Ove kapljice treba na odgovarajući način pridružiti predestilisanom vodi (pomoću staklenog štapića sa gumom i sl.).

Kada se graduisana cev potpuno ohladi, očitava se zapremina vode u njoj.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Ukupna suva materija izražava se kao broj grama suve materije u 100 g proizvoda, prema tome:

100 – V

gde je:

V – količina vode u proizvodu izražena u gramima na 100 g uzetog materijala, odnosno procent vode.

Procent vode izračunava se formulom:

$v = \frac{V}{100}$

$V = \frac{v \cdot 100}{100}$

gde je:

v – zapremina očitane vode;

odvaga, u g.

3. ODREĐIVANJE DIREKTNO REDUKUJUĆIH I UKUPNIH ŠEĆERA – LUFFOVIM RASTVOROM

Princip

Ova metoda se zasniva na principu da u određenim uslovima redukujući šećeri (prirodni invert) prevode kupri-sulfat (CuSO_4) iz Luffovog rastvora u bakar-oksikul (Cu_2O). Neutrošena količina kupri-jona retitrira se rastvorom tiosulfata. Iz razlike utroška za slepu probu i probu očitava se količina šećera iz tabele.

Neredukujući disaharid (saharoza) mora se prethodno invertovati, odnosno hidrolizovati na redukujuće monosaharide pomoću kiseline, a zatim se određuje pomoću Luffovog rastvora. Na taj način se dobija podatak o ukupnoj količini šećera u ispitivanom uzorku (ukupni invert).

Razlika između dobijenog ukupnog inverta i prirodnog inverta daje količinu redukujućih šećera nastalih inverzijom saharoze.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koriste se:

- 1) pipete od 10 ml i od 25 ml;
- 2) konusna tikvica (erlenmajer) od 300 ml;
- 3) odmerne tikvice od 100 ml, 200 ml i 500 ml.

Reagensi

1) Luffov reagens:

- rastvor bakar-sulfata: rastvori se 25 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ u 100 ml vode;
- rastvor limunske kiseline: rastvori se 50 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ u 50 ml vode;
- rastvor natrijum-karbonata: rastvori se 143 g bezvodnog Na_2CO_3 u približno 300 ml tople vode i ohladi.

U odmernu tikvicu od 1000 ml unese se rastvor natrijum-karbonata i, uz oprezno mešanje, doda rastvor limunske kiseline. Meša se do nestanka ugljen-dioksida, a zatim se doda rastvor bakar-sulfata i dopuni do 1 litra. Ostavi se preko noći i, ako je potrebno, filtrira. Kontrolise se molaritet:

1

$c[\text{Cu}] = 0,1 \text{ mol/l}$; $c[\text{Na}_2\text{CO}_3] = 2 \text{ mol/l}$;

2

2) rastvor natrijum-tiosulfata $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$;

3) rastvor skroba: u litar ključale vode doda se 5 g rastvorljivog skroba izmešanog sa 30 ml vode, kuva se 3 minuta, ohladi i eventualno doda 10 mg merkuri-jodida kao konzervansa;

1

4) sumporna kiselina $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 6 \text{ mol/l}$;

2

- 5) rastvor kalijum-jodida, 30% (m/V);
- 6) plovuša, iskuvan u hlorovodoničnoj kiselini, ispran i osušen;
- 7) izopentanol (nije neophodno potreban);
- 8) natrijum-hidroksid, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;
- 9) hlorovodonična kiselina $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$;
- 10) 1%-ni rastvor fenolftaleina u etanolu;
- 11) rastvor Carrez I: rastvori se 21,95 g cink-acetata $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ ili 24 g cink-acetata $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ i 3 g glacijalne sirćetne kiseline, i dopuni do 100 ml vodom;
- 12) rastvor Carrez II: rastvori se 10,6 g kalijum-heksacijanoferata $[\text{K}_4\text{F}(\text{CH})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$, rastvori se i dopuni vodom do 100 ml;
- 13) hlorovodonična kiselina, koncentrovana $\rho_{20} = 1,19 \text{ g/cm}^3$;
- 14) rastvor natrijum-hidroksida, $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$.

Kontrola reagensa po Luffu

a) Otpipetira se 25 ml reagensa po Luffu, doda se 3 g kalijum-jodida i 25 ml 6 mol/l sumporne kiseline. Titrira se 0,1 mol/l rastvorom natrijum-tiosulfata, uz prisustvo skroba koji se dodaje pri kraju titracije.

Količina utrošenog 0,1 mol/l natrijum-tiosulfata mora da iznosi 25 ml (ako ne iznosi 25 ml, treba dodati CuSO_4).

b) U odmernu tikvicu od 100 ml otpipetira se 10 ml reagensa po Luffu i dopuni se vodom do oznake. U konusnoj tikvici pomeša se 10 ml razređenog reagensa sa 25 ml 0,1 mol/l hlorovodonične kiseline i zagreva 10 minuta na ključalom vodenom kupatilu. Rastvor se zatim ohladi i dopuni sveže prokuvanom vodom do početne zapremine, a zatim se titrira 0,1 mol/l rastvorom natrijum-hidroksida uz fenol-ftalein. Količina utrošenog 0,1 mol/l rastvora natrijum-hidroksida mora da iznosi između 5,5 ml i 6,5 ml.

v) Otpipetira se 10 ml razređenog reagensa i titrira sa 0,1 mol/l rastvorom hlorovodonične kiseline, uz fenolftalein, do nestanka ljubičaste boje. Količina utrošenog rastvora hlorovodonične kiseline mora iznositi od 6 ml do 7,5 ml.

g) pH Luffovog reagensa iznosi 9,3 do 9,4 na temperaturi 20°C.

Pripremanje uzorka

Laboratorijski uzorak se pažljivo izmeša i profiltrira preko vate ili filtrir-papira.

Količina uzorka za ispitivanje

Odmeri se 5 g pripremljenog uzorka, sa tačnošću 0,001 g, u čaši od 400 ml i doda se 200 ml vode. Ako je potrebno, balastne materije se odstrane dodatkom 5 ml rastvora Carrez I i 5 ml rastvora Carrez II. Posle svakog dodavanja sadržaj se dobro promeša. Celokupna količina se prenese u odmernu tikvicu zapremine 250 ml, dopuni do oznake, promeša i filtrira. To je filtrat I.

Određivanje prirodnog inverta

U odmernu tikvicu zapremine 100 ml otpipetira se 25 ml filtrata I i dopuni vodom do oznake. U konusnu tikvicu (erlenmajer) zapremine 300 ml otpipetira se 25 ml Luffovog rastvora, doda 25 ml razređenog filtrata I (treba da sadrži 15 do 60 mg šećera) i doda plovuša.

Konusna tikvica se zagreva direktno na plameniku, do ključanja, koje treba da započne posle 2 minuta. Ključanje se nastavlja na azbestnoj mrežici sa okruglim otvorom 6 cm do 7 cm, a konusna tikvica se, pomoću gumenog zapušača, spoji sa povratnim hladnjakom. Od momenta ključanja kuva se tačno 10 minuta, posle čega se sadržaj tikvice hladi pod vodenim mlazom, a posle 5 minuta se

doda 10 ml rastvora kalijum-jodida i postupno 25 ml 6 mol/l rastvora sumporne kiseline. Rastvor sumporne kiseline mora se dodavati oprezno, zbog mogućnosti stvaranja pene, a zatim se titrira 0,1 mol/l rastvorom natrijum-tiosulfata, uz neprekidno mešanje, sve dok boja ne postane žuta. Tome se doda nekoliko mililitara rastvora skroba i nastavi titriranje natrijum-tiosulfatom, kap po kap, do potpunog nestanka plave boje.

U istim uslovima mora se izvršiti i slepa proba sa istom količinom Luffovog reagensa, s tim što se umesto razređenog filtrata I dodaje 25 ml vode.

Izračunavanje prirodnog inverta

U postupak je uzeto 5 g uzorka, a razređivanje je vršeno na sledeći način:

- 5 g razređeno je do 250 ml;
- 25 ml razređeno je do 100 ml.

Ako je za titraciju slepe probe (Sp) utrošeno 24,9 ml 0,1 mol/l rastvora $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, a za titraciju probe (P) 20,9 ml istog rastvora $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, izračuna se razlika $(\text{Sp} - \text{P}) = 4,0$ ml, što odgovara očitanoj vrednosti iz tabele 3, od 9,7 mg prirodnog inverta.

Procent prirodnog inverta =

$$\frac{250 \times 100 \times 9,7 \times 100}{5 \times 25 \times 25 \times 100} = 7,76$$

Određivanje ukupnog inverta

U odmernu tikvicu zapremine 100 ml otpipetira se 10 ml filtrata I, razredi se sa približno 30 ml vode i doda 0,5 ml koncentrovane HCl. Odmerna tikvica sa sadržajem stavi se na ključalo vodeno kupatilo da invertuje 30 minuta, a zatim neutrališe sa 1 mol/l rastvorom NaOH i dopuni vodom do oznake.

Dalji postupak je isti kao kod prirodnog inverta.

Izračunavanje ukupnog inverta

U postupku je izmereno 5 g uzorka, a razređivanje je vršeno na sledeći način: 5 g razređeno je do 250 ml, od toga je otpipetirano 10 ml i razređeno do 100 ml. Za konačni postupak otpipetirano je 25 ml. Za titraciju slepe probe (Sp) utrošeno je 24,9 ml 0,1 mol/l rastvora $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, a za titraciju probe (P) utrošeno je 9,9 ml istog rastvora, tako da razlika iznosi $(\text{Sp} - \text{P}) = 15$ ml, što odgovara vrednosti od 38,5 mg ukupnog inverta očitanoj iz tabele 3.

Procent ukupnog inverta =

$$\frac{250 \times 100 \times 38,5 \times 100}{5 \times 10 \times 25 \times 1000} = 77,0$$

Izračunavanje procenta saharoze

Procent saharoze izračunava se po sledećoj formuli: % saharoze = $(b - a) \times 0,95$

a = % prirodnog inverta

b = % ukupnog inverta

Napomena:

Posebno se mora voditi računa o količini šećera.

Na 25 ml Luffovog rastvora dodaje se 25 ml razređenog filtrata I, koji sme da sadrži najmanje 15 mg, a najviše 62 mg redukujućih šećera izraženih kao glukoza.

Da bi se sprečilo stvaranje pene, preporučljivo je pre zakiseljavanja sumpornom kiselinom dodati 1 ml izopentanol.

TABLICA ZA ODREĐIVANJE KOLIČINE ŠEĆERA SA 25 ml LUFFOVOG RASTVORA

Tabela 3

Rastvor natrijum-tiosulfata	Glukoza, fruktoza ili invertni šećer	
c (Na ₂ S ₂ O ₃) = 0,1 mol/l u ml		
mg	razlika	
1	2	3
1	2,4	-
2	4,8	2,4
3	7,2	2,4
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,5
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25	2,6
11	27,6	2,6
12	30,2	2,7
13	33	2,7
14	35,7	2,7
15	38,5	2,8
16	41,3	2,8
17	44,2	2,9

18	47,1	2,9
19	50	2,9
20	53	2,9
21	56	2,9
22	59,1	3,1
23	62,2	3,1

Ponovljivost

Razlika rezultata između dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 0,5% relativne vrednosti.

.

4. ODREĐIVANJE MINERALNIH NEČISTOĆA

Princip i primena

Ova metoda se zasniva na odstranjivanju organskih primesa dobijenih ispiranjem i taloženjem, kao i na spaljivanju na 600oC 10oC, a zatim na merenju dobivenog ostatka.

Metoda se primenjuje za određivanje mineralnih nečistoća u proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) peć za spaljivanje sa uređajem za regulaciju temperature od 600oC 10oC;
- 2) analitička vaga;
- 3) homogenizator;
- 4) eksikator sa sredstvom za sušenje;
- 5) čaše zapremine 250 ml, 800 ml i 2000 ml;
- 6) sud za spaljivanje, od kvarca, porculana ili platine;
- 7) filtrir-papir koji sagoreva bez pepela;
- 8) levak;
- 9) Bunzenov plamenik.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) rastvor natrijum-hlorida (NaCl), 15%-ni (m/m);
- 2) hlorovodonična kiselina (HCl), koncentrovana;
- 3) rastvor srebro-nitrata s (AgNO₃) = 0,1 mol/l.

Pripremanje uzorka i količina uzorka za ispitivanje

Laboratorijski uzorak ili originalno pakovanje proizvoda od voća i povrća čija neto-masa ne sme biti manja od 500 g, homogenizuje se u pastu i odmeri 500 g kao količina uzorka za ispitivanje.

Napomena:

Smrznuti proizvod se odmrzne u zatvorenom sudu i, zajedno sa izdvojenom tečnošću, smatra uzorkom za ispitivanje.

Prilikom ispitivanja sušenih proizvoda od voća i povrća odmeri se 100 g uzorka za ispitivanje, prenese

u čašu zapremine 800 ml i doda 400 ml vode. Smeša se zagreje do ključanja i ostavi se noću na sobnoj temperaturi da se proizvod rehidriše.

Pre određivanja nečistoća sadržaj se dobro izmeša.

Postupak za odvajanje nečistoća

Pripremljena količina uzorka za ispitivanje prenese se u čašu zapremine 2000 ml, dopuni vodom i izmeša staklenim štapićem. Ostavi se 10 minuta i dekantira u drugu čašu zapremine 2000 ml. Ponovo se napuni prva čaša vodom, izmeša i ostavi da stoji 10 minuta. Potom se sadržaj iz druge čaše dekantira u treću čašu zapremine 2000 ml i, posle 10 minuta stajanja, sadržaj treće čaše dekantira se u slivnik.

Isti postupak ponavlja se tako što se sadržaj prve čaše dekantira u drugu čašu, dopuni vodom i, posle 10 minuta stajanja, dekantira u treću čašu, a iz nje dekantira u slivnik. Operacija se ponavlja sve dok se iz uzorka za ispitivanje ne izdvoji celokupna pulpa. Tada se ostatak iz prve i druge čaše prenese u treću čašu.

Semenke i voćna pulpa koje mogu biti nataložene zajedno sa ostatkom eliminišu se tretiranjem vrelim rastvorom natrijum-hlorida, koji se zatim odstrani ispiranjem vrućom vodom. Provera odsustva jona hlora utvrđuje se pomoću rastvora srebro-nitrata.

Ostatak se kvantitativno prenese preko levka sa filtrir-papirom, dobro ispere vodom i, zajedno sa filtrir-papirom, unese u prethodno izaren i tariran sud za spaljivanje.

Spaljivanje

Sud za spaljivanje, zajedno sa filtrir-papirom i ostatkom, zagreva se na slabom plamenu nekoliko minuta, a zatim spaljuje u peći za spaljivanje na 600oC 10oC oko 1 čas. Zatim se sud hladi u eksikatoru i meri, sa tačnošću 0,0002 g.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Količina mineralnih nečistoća izražena kao procent mase izračunava se formulom:

100

$(M_2 - M_1) \cdot \frac{100}{M_0}$

M₀

gde je:

M₀ – masa količine uzorka za ispitivanje, u g,

M₁ – masa suda za spaljivanje, u g,

M₂ – masa suda za spaljivanje i pepela, u g.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koje je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 3% relativne vrednosti.

5. ODREĐIVANJE PEPELA NERASTVORLJIVOG U HLOROVODONIČNOJ KISELINI

Princip i primena

Ova metoda se zasniva na postupku spaljivanja uzorka na 525oC 25oC i na odvajanju mineralnih nečistoća koje su nerastvorljive u razblaženom rastvoru hlorovodonične kiseline.

Metoda se primenjuje za određivanje količine silicijumovih jedinjenja koja potiču iz tla i onih koja se nalaze u proizvodima od voća i povrća.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) rastvor hlorovodonične kiseline koji sadrži 10% (m/m) hlorovodonika;
- 2) rastvor srebro-nitrata, oko 17 g/l.

Aparatura i pribor

Koristi se sledeći pribor:

- 1) peć za spaljivanje sa uređajem za regulaciju temperature na 525oC 25oC;
- 2) analitička vaga;
- 3) vodeno kupatilo;
- 4) sušnica sa automatskom regulacijom temperature na 103oC 2oC;
- 5) eksikator sa sredstvom za sušenje;
- 6) sud za spaljivanje uzorka, od kvarca ili platine;
- 7) kvantitativni filtrir-papir koji sagoreva bez pepela.

Pripremanje uzorka. – Laboratorijski uzorak se pažljivo isitni i homogenizuje. Smrznut proizvod se odmrzne i izmeša sa tečnošću koja se obrazuje pri odmrzavanju.

Količina uzorka za ispitivanje. – Prazan sud za spaljivanje se žari, ohladi se u eksikatoru do sobne temperature i meri sa tačnošću 0,0002 g. Zatim se u taj sud, sa tačnošću 0,01 g, odmeri 4 g do 25 g pripremljenog laboratorijskog uzorka, zavisno od količine vode u uzorku.

Sušenje i spaljivanje uzorka

Sud za spaljivanje, sa odmerenom količinom uzorka za ispitivanje, stavi se na ključalo vodeno kupatilo da ispari voda, a zatim u sušnicu na 103oC 2oC. Sušenje nije potrebno kad su u pitanju sušeni proizvodi. Zatim se sud unese u peć za spaljivanje. Spaljivanje se vrši na temperaturi 525oC 25oC. Pepeo mora biti beo. Sud se zatim izvadi, ohladi u eksikatoru i u njega doda 10 ml do 25 ml rastvora hlorovodonične kiseline.

Sud se prekrije sahatnim staklom i zagreva 15 minuta na toplom kupatilu. Potom se sadržaj suda prelije preko filtrir-papira koji je postavljen preko levka za filtriranje. Sud se ispere destilovanom vodom koja se takođe prelije preko filtrir-papira. Postupak se ponavlja sve dok se iz rastvora koji ističe iz levka ne odstrane svi tragovi jona hlora, a proba se kontroliše rastvorom srebro-nitrata.

Filtrir-papir, sa talogom, stavlja se ponovo u ižaren i izmeren sud za spaljivanje, koji se suši na temperaturi 103oC 2oC, zatim se unosi u peć za spaljivanje i spaljuje 30 minuta na 525oC 25oC.

Posle hlađenja u eksikatoru, sud sa pepelom se meri, sa tačnošću 0,0002 g.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Količina pepela nerastvorljivog u hlorovodoničnoj kiselinu izražava se u procentima po masi:

procent pepela

$(m_2 - m_1)$

nerastvorljivog u HCl = $\frac{m_2 - m_1}{m_0 - m_1} \cdot 100$

$(m_0 - m_1)$

gde je:

m_0 – masa uzorka i suda za spaljivanje, u g;

m_1 – masa suda za spaljivanje, u g;

m_2 – masa suda za spaljivanje i pepela, u g.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Rezultat se izražava sa dva decimala.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izveo isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme biti veća od 0,01 g pepela nerastvorljivog u hlorovodoničnoj kiselini za 100 g uzorka.

6. ODREĐIVANJE VREDNOSTI pH

Princip

Metoda se zasniva na merenju razlike potencijala između dve elektrode uronjene u ispitivanu tečnost.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se sledeći pribor:

1) pH-metar, čija je skala podeljena na 0,1 ili još manje jedinice.

Ako pH-metar nije opremljen sistemom za korekciju temperature, merenje se vrši na 20°C;

2) staklene elektrode, koje mogu biti različitog geometrijskog oblika i koje se čuvaju u vodi;

3) kalomel-elektrode, koje sadrže zasićen rastvor kalijum-hlorida i koje se čuvaju u tom rastvoru. Obe elektrode mogu se čuvati u vodi, ali tada nivo kalijum-hlorida u kalomel-elektrodi mora biti viši od nivoa vode;

4) vodeno kupatilo.

Pripremanje uzorka za određivanje pH

Tečni proizvodi i proizvodi koji se lako filtriraju (sokovi, tečnosti iz kompota ili iz turšije, slani nalivi, fermentisane tečnosti i sl.). – Laboratorijski uzorak se, pažljivim mešanjem, homogenizuje.

Gusti ili polugusti proizvodi i proizvodi kod kojih je izdvajanje tečnosti otežano (sirupi, džemovi, pirei, želei i sl.). – Laboratorijski uzorak se izmeša, a zatim usitni u homogenizatoru ili avanu.

Smrznuti proizvodi. – Posle odmrzavanja proizvoda i izdvajanja koštica, semenki i semenih loža, postupa se kao što je opisano za tečne i poluguste proizvode.

Sušeni proizvodi. – Laboratorijski uzorak se isitni na komadiće i odstrane se koštice i semene lože.

Isitnjeni komadići se stave u čašu i doda 2 do 3 puta veća masa vode (ako je potrebno, dodaje se i više da bi se dobila odgovarajuća konzistencija). Sadržaj se zagreva 30 minuta na ključalom vodenom kupatilu, uz povremeno mešanje staklenim štapićem. Posle toga se uzorak izmeša i homogenizuje mlevenjem ili u tarioniku.

Sveže pripremljeni proizvodi koji sadrže čvrstu i tečnu fazu. – Postupa se kao što je opisano za tečne i poluguste proizvode.

Količina uzorka za ispitivanje

Za ispitivanje se uzima količina uzorka koja je dovoljna da se elektrode mogu uroniti, što zavisi od primenjene aparature.

Baždarenje pH-metra

Za baždarenje pH-metra koristi se puferni rastvor poznatog pH na određenoj temperaturi i, po mogućnosti, približne vrednosti pH onom rastvoru koji se određuje.

Ako pH-metar nema uređaj za korekciju temperature, temperatura pufernog rastvora mora biti podešena na 20°C ± 2°C.

Određivanje pH

Elektrode se urone u ispitivanu količinu uzorka koji se ispituje i podesi se sistem za korekciju temperature pH-metra na temperaturu merenja. Ako ne postoji sistem za korekciju temperature, temperatura ispitivane količine uzorka mora se dovesti na 20°C ± 2°C.

Dalje merenje se vrši prema uputstvu pH-metra koji se koristi.

Očitavanje pH vrši se direktno na skali instrumenta, sa tačnošću 0,05 pH jedinica do konstantne

vrednosti.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Kao rezultat uzima se aritmetička sredina dva određivanja, ako su zadovoljeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Rezultat se izražava sa tačnošću 0,05 pH jedinica.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koje je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme da pređe 0,1 pH jedinice (apsolutna razlika).

Primerbe na postupak

Za baždarenje se mogu koristiti sledeći puferni rastvori:

- puferni rastvor pH 3,57 na 20oC priprema se na sledeći način: uzme se zasićen rastvor kiselog kalijum-tartarata ($\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) koji na 25oC ima pH 3,56, a na 30oC pH tog rastvora iznosi 3,50;
- puferni rastvor pH 6,88 na 25oC priprema se na sledeći način: odmeri se 3,402 g kiselog kalijum-ortofofata (KH_2PO_4), mereno sa tačnošću 0,001 g, i 3,549 g kiselog dinatrijum-ortofofata (Na_2HPO_4), mereno sa istom tačnošću, i rastvori se u 1000 ml destilovane vode temperature 20oC; pH ovog rastvora je na 10oC 6,92, a na 30oC pH tog rastvora iznosi 6,85;
- puferni rastvor pH 4,00 na 20oC priprema se na sledeći način: odmeri se 10,211 g kiselog kalijum-ftalata [$\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$] koji je sušen 1 čas na 105oC i rastvori u 1000 ml destilovane vode, temperature 20oC. pH ovog rastvora je na 10oC 4,00, a na 30oC pH tog rastvora iznosi 4,01;
- puferni rastvor pH 5,00 na 20oC: koristi se rastvor kiselog dinatrijum-citrata $c(\text{Na}_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7) = 0,1 \text{ mol/l}$.

7. ODREĐIVANJE BENZOEEVE KISELINE (Spektrofotometrijska metoda)

Princip i primena

Uzorak se homogenizuje, razredi i zakiseli, a zatim se vrši ekstrakcija benzoeeve kiseline pomoću dietil-etra. Posle ponovne ekstrakcije sa alkalijama i prečišćavanja oksidacijom pomoću kalijum-hromata u kiseloj sredini, benzoeva kiselina rastvorena u dietil-etru određuje se spektrofotometrijski.

Metoda se primenjuje za određivanje benzoeeve kiseline u proizvodima od voća i povrća, sa izuzetkom proizvoda koji sadrže r-hlorbenzoevu kiselinu (jer je ona otporna na oksidaciju), kao i proizvoda koji sadrže cimetnu kiselinu (jer se ona pri oksidaciji hrom-sumpornom kiselinom transformiše u benzoevu kiselinu).

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme koristi se sledeći pribor:

1. odmerne tikvice od 50 ml;
2. čaše, zapremine 50 ml i 100 ml;
3. pipete, zapremine 20 ml;
4. graduisane pipete;
5. boce od bor-silikatnog stakla, sa brušenim zapušačima, zapremine 250 ml, sa ravnim dnom;
6. levak za odvajanje, zapremine 500 ml;
7. vodeno kupatilo pogodno za kontrolu temperature od 70oC do 80oC;
8. homogenizator;
9. sepktofotometar za određivanje u ultraljubičastom delu spektra, opremljen monohromatorom

koji dopušta merenje sa tačnošću od 0,5 nm, sa kivetama od silicijuma, debljine optičkog sloja 10 mm ili 20 mm (bolje 20 mm zbog povećavanja osetljivosti), sa poklopcem od brušenog stakla;
10. analitička vaga.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

2. vinska kiselina, kristalizovana;
3. natrijum-hidroksid, približno s (NaOH) = 1 mol/l;
4. kalijum-dihromat, rastvor 33 do 34 g/l;
5. sumporna kiselina, rastvor dobijen razblaženjem 2 zapremine koncentrovane sumporne kiseline ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/cm}^3$) sa jednom zapreminom vode;
6. dietil-etar, destilovan neposredno pre upotrebe;
7. benzoeva kiselina, standardni rastvor 0,100 g/l u dietil-etru.

Pripremanje uzorka za ispitivanje

- Tečni i gusti proizvodi (sokovi, kašasti i bistri proizvodi, sirupi, marmelade i džemovi). – Posle pažljivog mešanja, laboratorijski uzorak se homogenizuje.
- Čvrsti proizvodi (voće, povrće). – Laboratorijski uzorak se iseče u sitne komade, odstrane se semenke i semene lože, ako je potrebno, i pažljivo se homogenizuje oko 40 g uzorka.
- Smrznuti ili brzo smrznuti proizvodi. – Laboratorijski uzorak se odmrzne u zatvorenom sudu, a tečnost koja nastane odmrzavanjem doda se proizvodu pre homogenizacije.

Količina uzorka za ispitivanje

- Tečni proizvodi. – Otpipetira se 20 ml pripremljenog uzorka, razblaži se sa približno 50 ml vode i prenese u levak za odvajanje (levak za odvajanje A).

Napomena:

Količina uzorka za ispitivanje može se uzeti i po masi, merenjem približno 20 g pripremljenog uzorka, sa tačnošću 0,01 g.

- Kašasti proizvodi. – Otpipetira se 20 ml pripremljenog uzorka, stavi se u tarionik i razredi sa 20 ml vode. Posle dekantiranja tečnost se filtrira.

Postupak se ponovi dva puta jedan za drugim, sa po 20 ml vode i posle dekantiranja tečnost se filtrira.

Filtrat se skuplja direktno u levak za odvajanje zapremine 500 ml (levak za odvajanje A).

Napomena:

Količina uzorka za ispitivanje može se uzeti i po masi, merenjem oko 20 g pripremljenog uzorka, sa tačnošću 0,01 g.

- Gusti ili čvrsti proizvodi. – Izmeri se oko 10 g pripremljenog uzorka, sa tačnošću od 0,01 g, i sa 30 ml do 40 ml vode kvantitativno prenese u bocu zapremine 250 ml. Doda se oko 50 mg natrijum-hidrogen-karbonata, promućka i stavi na vodeno kupatilo temperature 70°C do 80°C i ostavi 15 do 30 minuta. Sadržaj boce se filtrira i ispere dva puta sa po 15 ml do 20 ml vode.

Celokupan filtrat se sakuplja u levak za odvajanje, zapremine 500 ml (levak za odvajanje A) i ostavi da se ohladi.

Napomena:

Natrijum-hidrogenkarbonat se dodaje da bi se neutralisala benzoeva kiselina, čiji bi se tragovi mogli izgubiti tokom isparavanja.

Ekstrakcija benzoeeve kiseline

U levak za odvajanje (A) koji sadrži probu unese se 1 g vinske kiseline i doda 60 ml dietil-etra, a zatim se pažljivo promućka. Ostavi se da stoji dok se slojevi razdvoje, a zatim se etarski sloj prebaci u drugi levak za odvajanje, zapremine 500 ml (levak za odvajanje V). Vodena faza iz levka za odvajanje (A) ispere se sa 60 ml dietil-etra, ostavi da stoji dok se slojevi razdvoje i etarski sloj ponovo sakuplja u levak za odvajanje (V).

Isto se postupa i pri trećem odvajanju, kad se ispiranje vrši sa 30 ml dietil-etra. Taj etarski sloj se prebaci u levak za odvajanje V.

Ekstrahovanje benzoeeve kiseline iz etarskog rastvora vrši se pomoću uzastopnog dodavanja najpre 10 ml, a zatim 5 ml rastvora natrijum-hidroksida, a potom dva puta po 10 ml vode. Posle svakog dodavanja, sadržaj se promućka i ostavi dok se izvrši odvajanje. Vodena faza se sakuplja u zdelicu, a zatim stavi na vodeno kupatilo na temperaturu 70oC do 80oC i zagreva dok se zapremina alkalnog rastvora ne svede približno na polovinu, pri čemu se uklone tragovi rastvorenog dietil-etra.

Prečišćavanje benzoeeve kiseline

Posle hlađenja, sadržaj suda se ulije u bocu od 250 ml, u kojoj se nalazi mešavina od 20 ml rastvora sumporne kiseline i 20 ml rastvora kalijum-dihromata. Boca se zatvori, promućka i ostavi da stoji najmanje 1 čas.

Napomena:

U probi mogu biti zastupljeni i drugi konzervansi kao derivati benzoeeve kiseline. U tom slučaju boca se ostavi najmanje 3 časa da se izvrši potpuna oksidacija trihidroksibenzoeeve kiseline i spreči svaka interferencija pri određivanju. Produžetak vremena u kome se izvrši reakcija neće uticati na rezultat, jer je benzoeva kiselina otporna na ovu mešavinu. Ako polazni proizvod sadrži i sorbinsku kiselinu, potrebno je produžiti oksidaciju na 24 časa, tako da se ona potpuno razori.

Ekstrakcija prečišćene benzoeeve kiseline

Ekstrahovanje benzoeeve kiseline vrši se tretiranjem navedenog rastvora, i to dvaput, sa 20 ml do 25 ml dietil-etra, pri čemu se sakuplja etarski rastvor. Ovaj etarski rastvor se dvaput ispere sa nekoliko mililitara vode. Posle dekantiranja, koje se mora brižljivo obaviti, vrši se filtriranje kroz suvi filtrir-papir i filtrat se sakuplja u odmernu tikvicu zapremine 50 ml.

Posle toga se filtrir-papir ispere sa nekoliko mililitara dietil-etra, uz dodavanje dovoljne količine rastvora za ispiranje da se filtrat može razblažiti i da se dopuni do oznake.

Određivanje benzoeeve kiseline

Korišćenjem spektrofotometra meri se apsorbencija etarskog rastvora u odnosu na apsorbenciju čistog dietil-etra na 267,5 nm do 272 nm i 276,5 nm (videti napomenu). Apsorbencija koja pripada benzoeevoj kiselini izražena je formulom:

gde je:

A1 – apsorbencija na 267,5 nm;

A2 – apsorbencija na 272 nm;

A3 – apsorbencija na 276,5 nm.

Napomena:

Ispitivanje spektra apsorbencije etarskog rastvora prečišćene benzoeeve kiseline vrši se pomoću dva apsorpciona maksimuma, i to kod 272 nm i kod 279 nm.

Ekstrahovana benzoeva kiselina dietil-etrom određuje se merenjem relativne visine vrha na 272 nm s

obzirom na pravac koji spaja tačke (minimume) na apscisi kod 267,5 nm i kod 276,5 nm.
Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Priprema baždarne krive

U šest odmernih tikvica zapremine 50 ml unosi se po 5 – 7,5 – 10 – 12,5 – 15 i 20 ml rastvora standardne benzoeeve kiseline. Razblaži se dietil-etrom i dopuni do oznake.

Dobijeni rastvori sadrže:

10 – 15 – 20 – 25 – 30 – 40 mg benzoeeve kiseline u 1 litru.

Posle toga se izvrše diferencijalna merenja tih rastvora, prema postupku koji je propisan u poglavlju
Određivanje benzoeeve kiseline.

Nacrtana kriva prikazuje diferencijalna merenja (ordinata) u odnosu na broj miligrama benzoeeve kiseline po litru, koji su gore označeni (apscisa).

Izračunavanje

a) Količina uzorka za ispitivanje uzeta pipetiranjem

Količina benzoeeve kiseline, u miligramima po litru proizvoda, izražena je formulom:

gde je:

m₂ – masa benzoeeve kiseline u miligramima, očitana na baždarnoj krivoj.

b) Količina uzorka za ispitivanje uzeta po masi (merenjem)

Količina benzoeeve kiseline, izražena u miligramima po kilogramu proizvoda, izračunava se formulom:

gde je:

m₁ – masa količine uzorka za ispitivanje, u g;

m₂ – masa benzoeeve kiseline očitana na baždarnoj krivoj, u mg.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 10 mg benzoeeve kiseline po litru ili po kilogramu proizvoda.

Napomena:

Metoda dozvoljava određivanje benzoeeve kiseline sa tačnošću približno 2 mg ako proizvod sadrži manje od 50 mg benzoeeve kiseline u litru ili u kilogramu.

8. ODREĐIVANJE SORBINSKE KISELINE (Spektrofotometrijska metoda)

Princip i primena

Posle homogenizacije uzorka od voća i povrća, sorbinska kiselina se izdvaja destilacijom vodenom parom. Zatim se vrši oksidacija hrom-sumpornom kiselinom i tretira sa tiobarbiturnom kiselinom, pri čemu nastaje ružičastocrveno obojenje, koje se može meriti spektrofotometrijski kod 532 nm. Ovom metodom određuje se sorbinska kiselina u voću i povrću i u proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Koristi se sledeći pribor:

2) pipete, zapremine 1, 2, 5 i 50 ml;

3) aparatura za destilaciju vodenom parom (slika 2);

- 4) odmerne tikvice, zapremine 100, 500 i 1000 ml;
- 5) konusne tikvice (erlenmajer), zapremine 500 ml;
- 6) vodeno kupatilo;
- 7) homogenizator;
- 8) spektrofotometar.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) vinska kiselina, kristalizovana;
- 2) standardni rastvor sorbinske kiseline (0,010 g/l), koji se priprema na dva načina, i to:
 - a) rastvori se 0,100 g sorbinske kiseline u 10 do 12 ml 0,1 mol/l rastvora natrijum-hidroksida i kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 1000 ml, a zatim dopuni vodom do oznake. U odmernu tikvicu zapremine 1000 ml otpipetira se 100 ml ovog rastvora i dopuni vodom do oznake;
 - b) rastvori se 134 mg kalijum-sorbata u 1000 ml vode, a 100 ml ovog rastvora otpipetira se u odmernu tikvicu zapremine 1000 ml i dopuni vodom do oznake;
- 3) rastvor kalcijum-hidroksida oko

1

$c(\text{--- Ca(OH)}_2) = 0,04 \text{ mol/l};$

2

- 4) rastvor hrom-sumporne kiseline: 0,050 g kalijum-dihromata rastvori se u oko 90 ml vode i zatim kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 200 ml. Tome se doda 100 ml

1

$c(\text{--- H}_2\text{SO}_4) =$

2

0,3 mol/l rastvora sumporne kiseline i dopuni vodom do oznake.

1

(1 l rastvora sumporne kiseline $c(\text{--- H}_2\text{SO}_4) =$

2

$= 0,3 \text{ mol/l}$ sadrži 14,7 g sumporne kiseline, odnosno 8,4 ml sumporne kiseline $d_{20} = 1,84 \text{ g/cm}^3$);

- 5) rastvor tiobarbiturne kiseline: rastvori se 0,500 g tiobarbiturne kiseline u 50 ml vode i doda 10 ml 1 mol/l rastvora natrijum-hidroksida. Sadržaj se kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 100 ml i doda 11 ml 1 mol/l rastvora hlorovodonične kiseline i dopuni do oznake.

Ovaj rastvor nije postojan i mora se upotrebiti u toku 5 časova posle pripreme.

Pripremanje uzorka

Čvrsti proizvodi (voće i povrće). – Deo laboratorijskog uzorka se iseče u komadiće, odstrane od semenke, a zatim se odmeri oko 40 g uzorka i homogenizuje.

Smrznuti ili brzo smrznuti proizvodi moraju se prethodno odmrznuti, a tečnost koja se stvara odmrzavanjem mora se dodati proizvodu pre homogenizacije.

Tečni i gusti proizvodi (sokovi, kašasti proizvodi i sirupi, marmelada, džem). – Laboratorijski uzorak se homogenizuje.

Određivanje

Otpipetira se 10 ml voćnog soka ili 10 g uzorka pripremljenog za ispitivanje (mereno sa tačnošću 0,01 g) i sa najmanjom mogućom količinom vode kvantitativno prenese u tikvicu za destilaciju (barboter), a zatim se doda 0,5 g vinske kiseline. Tikvica za destilaciju se preko nastavka spoji sa aparaturom za destilaciju vodenom parom i započinje simultano grejanje tikvice za destilaciju i tikvice za razvijanje vodene pare, pri čemu se mora paziti da zapremine tečnosti u barboteru bude konstantna (5 ml).

Kod čvrstih i gustih proizvoda destilat se mora skupljati u tikvicu zapremine 500 ml dok se ne postigne zapremina oko 20 puta veća od zapremine u tikvici za destilaciju. Kad se destilacija završi, količina dobijenog destilata izmeri se pomoću graduisanog cilindra. Kod tečnih proizvoda destilat se skuplja u odmernu tikvicu zapremine 200 ml i destilacija se prekida kada destilat dođe do oznake. Ako ispitivani uzorak sadrži etanol, potrebno ga je odstraniti sledećim postupkom: otpipetira se 25 ml destilata u čašu od 100 ml i sa 1,5 ml do 2 ml rastvora kalcijum-hidroksida učini alkalnim do alkalne reakcije. Zatim se posuda stavi na ključalo vodeno kupatilo i uparava do polovine zapremine (oko 30 minuta). Ostatak se kvantitativno prenese u odmernu tikvicu od 25 ml i dopuni vodom do oznake.

Ako ispitivani uzorak sadrži etarska ulja (kao kod sokova od plodova citrusa), potrebno ih je odstraniti na isti način kao što je opisano za etanol, s tim da se uparavanje produži dok zapremina u čaši bude 1 ml do 2 ml. Ostatak se kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 25 ml i dopuni do oznake.

Ako se u uzorku nalaze etarska ulja belog i crnog luka i praziluka, postupak je isti, s tim što se destilat upari do suvog, a zatim vodom ponovo razređuje do početne zapremine. Za dalji postupak otpipetira se 10 ml destilata, odnosno ponovo razređenog rastvora posle uparavanja, i to u odmernu tikvicu zapremine 25 ml.

Zapremina 10 ml predviđena je za uzorke koji sadrže najviše 200 mg/l ili kg sorbinske kiseline. Za uzorke koji sadrže više od 200 mg/l ili kg sorbinske kiseline, otpipetira se 2 ml ili 5 ml uzorka i dopuni vodom do 10 ml. Doda se 4 ml rastvora hrom-sumporne kiseline, pa se odmernu tikvicu stavi na ključalo vodeno kupatilo da stoji 10 minuta. Zatim se doda 4 ml sveže pripremljenog 0,5%-nog rastvora tiobarbiturne kiseline, pa se tikvicu stavi na vodeno kupatilo da stoji još 20 minuta. Sadržaj tikvice se ohladi u vodenom kupatilu, u kome se nalazi led, a zatim dopuni vodom do oznake. Posle 30 minuta, meri se intenzitet nastale ružičaste boje očitavanjem apsorbencije na spektrofotometru na talasnoj dužini od 532 nm. Slepa proba se vrši na isti način i sa istim reagensima, samo se umesto 10 ml destilata stavi 10 ml destilisane vode.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Pripremanje baždarnih kriva

Standardni rastvor koji sadrži 10 mg sorbinske kiseline po litru ili kilogramu razredi se na taj način što se na jednu zapreminu standardnog rastvora doda četiri zapremine vode. To razređenje sadrži 2 mg/1 sorbinske kiseline. Zatim se u seriju od šest odmernih tikvica zapremine 50 ml otpipetira: 0-2-4-6-8 i 10 ml razređenog rastvora graduisanom pipetom i svaka tikvicu dopuni vodom do 10 ml, uz dodavanje: 10-8-6-4-2 i 0 ml vode. Dobijeni rastvori sadrže po litru: 0-0, 4-0, 8-1, 2-1, 6 i 2 mg sorbinske kiseline.

U svaku odmernu tikvicu doda se po 4 ml rastvora hrom-sumporne kiseline, a zatim se stave na ključalo vodeno kupatilo da stoje 10 minuta. Posle toga se u svaku tikvicu unese po 4 ml tiobarbiturne kiseline i ponovo se stave na ključalo vodeno kupatilo da stoje još 20 minuta. Sadržaj tikvice se ohladi u vodenom kupatilu koje ima leda, a zatim se tikvice dopune vodom do oznake. Posle 30 minuta meri se intenzitet nastale ružičaste boje očitavanjem apsorbencije na spektrofotometru, na talasnoj dužini od 532 nm.

Baždarna kriva se konstruiše tako što se na apscisu nanose miligrami sorbinske kiseline po litru, a na ordinatu – odgovarajuće apsorbencije.

Izračunavanje

a) Kad je uzorak uzet po zapremini količina sorbinske kiseline

m1 200

u mg/l = ———

V1

gde je:

m1 – masa sorbinske kiseline u mg/l, očitano iz baždarne krive;

V1 – zapremina uzetog uzorka u mililitrima (najčešće je 10 ml ali može biti i 5 ml, odnosno 2 ml);

b) Kad je uzorak uzet po masi količina sorbinske kiseline u

m1 " V " 10

mg/kg = ———

m0 " V1

gde je:

m0 – masa uzetog uzorka, u g;

m1 – masa sorbinske kiseline u litru destilata, očitano na standardnoj krivoj, u mg;

V – zapremina destilata, u ml;

V1 – alikvotni udeo destilata (najčešće je 10 ml, ali može biti i 5 ml, odnosno 2 ml).

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 5% (relativne vrednosti) od njihove srednje vrednosti.

9. ODREĐIVANJE ETANOLA

Princip i primena

Etanol izdvojen destilacijom oksidiše se kalijum-bihromatom u prisustvu sumporne kiseline, a višak kalijum-bihromata retitrira se amonijum-fero-sulfatom u prisustvu indikatora gvožđe-orto-fenantrolina.

Metoda se primenjuje za određivanje etanola u proizvodima od voća i povrća kod kojih količina etanola ne prelazi 5% (m/m).

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme koristi se:

1) aparat za destilaciju koji se sastoji od balona za destilaciju zapremine 500 ml, rektifikacione kolone i kondenzatora sa nastavkom. Kondenzat se prihvata, preko nastavka, u odmernu tikvicu zapremine 100 ml.

Svi ostali modeli aparata za destilaciju vodenom parom mogu se primeniti pod uslovom da odgovaraju sledećim zahtevima: pri destilaciji 200 ml 10%-nog etanola u vodi posle pet uzastopnih destilacija krajnji destilat mora sadržavati najmanje 9,9% etanola, odnosno gubitak etanola tokom destilacije ne sme biti veći od 0,02%;

2) odmerni tikvica, zapremine 100 ml;

3) pipete, zapremine 5 ml, 10 ml i 20 ml;

4) konusna tikvica (erlenmajer) sa širokim grlicem i brušenim zapušačem koji hermetički zatvara tikvicu koja mora biti čista, nemasna;

5) bireta od 50 ml, sa pipkom.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

1) sumporna kiselina, relativne zapreminske mase 1,836 g/cm³ ;

2) rastvor sumporne kiseline relativne zapreminske mase 1,488 g/cm³ – rastvor sa 500 ml koncentrovane sumporne kiseline (r₂₀ = 1,836 g/cm³) u 1 l rastvora;

3) kalcijum-hidroksid, Ca(OH)_2 , suspenzija dobijena gašenjem 110 g do 112 g CaO u 1 l vode, koja se pre upotrebe dobro promućka;

4) rastvor kalijum-bihromata: 42,572 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ po litru (1 ml ovog rastvora odgovara 0,01 g etanola);

5) rastvor amonijum-fero-sulfat-heksahidrata $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe(SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$: rastvori se 170,2 g/l fero-sulfata u malo vode, doda 20 ml sumporne kiseline ($1,836 \text{ g/cm}^3$) i dopuni destilisanom vodom do 1 l.

Rastvor se stabilizuje dodavanjem aluminijuma, 2 ml ovog rastvora odgovara 1 ml rastvora kalijum-bihromata;

6) indikator gvožđe-O-fenantrolin: rastvori se 0,695 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ u 100 ml vode i doda 1,485 g ortofenantrolina. Zagreva se da se ubrza rastvaranje. Ovaj rastvor je stabilan.

Pripremanje uzorka

Gusti i čvrsti proizvodi (marmelada, voće i povrće). – Laboratorijski uzorak se homogenizuje, vodeći računa o tome da se ne poveća temperatura uzorka.

Tečni proizvodi (sokovi, pulpa, sirupi i sl.). – Uzorak se dobro izmeša i homogenizuje.

Određivanje

Izmerena količina uzorka za ispitivanje, mereno sa tačnošću 0,01 g, mora da bude takva da količina etanola u 100 ml destilata bude manja od 1 g.

Odmerena količina uzorka se razredi sa oko 50 ml vode i kvantitativno prenese u balon za destilaciju, pri čemu se koristi destilovana voda (najviše 120 ml).

Pomoću suspenzije Ca(OH)_2 uzorak se neutrališe do pH 8. Da bi vrenje bilo ravnomerno doda se nekoliko staklenih kuglica. Destilacija se podesi tako da destilat izlazi iz kondenzatora temperature 15°C do 20°C u odmernu tikvicu, u kojoj se nalazi 10 ml vode. Destilacija se vrši dok se sakupi 80 ml do 85 ml destilata. Kondenzator i nastavak se isperu sa nekoliko kapi vode, a zatim odmernu tikvicu dopuni do oznake (100 ml).

U erlenmajer zapremine 250 ml, sa brušenim zapušačem, otpipetira se 20 ml rastvora kalijum-bihromata (V_1) i 20 ml sumporne kiseline ($r_{20} = 1,836 \text{ g/cm}^3$). Posle hlađenja, ovoj smesi se doda 10 ml destilata (V_0) (sud se pri tom spolja hladi). Tikvica se zatvori zapušačem na čiji se brušeni deo kapne kap sumporne kiseline. Sadržaj se dobro promućka i sačeka najmanje 30 minuta, uz povremeno mućkanje.

Pri dodavanju destilata, smesa ne sme da dobije zelenu boju, tj. u njoj mora biti višak bihromata.

Ako smesa dobije zelenu boju, potrebno je ponoviti oksidaciju sa manjom količinom destilata (npr. 5 ml), a ako je potrebno, destilacija se mora ponoviti i sa manjom količinom uzorka za ispitivanje.

Svaka promena u količini destilata i uzorka uzima se u obzir pri izračunavanju količine etanola.

Posle stajanja od 30 minuta u zatvorenom erlenmajeru, smeša se titrira rastvorom amonijum-fero-sulfata, u toku čega smesa postaje sve zelenija dok ne dobije zelenoplavičastu boju. Tada se iz boce kapalicom doda 4 kapi indikatora gvožđe-O-fenantrolina i nastavi titracija sve dok zelenoplava boja ne postane crvenosmeđa. Ova poslednja promena je nagla (jedna kap) i označava kraj titracije (V_2). Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Slepa proba

Slepa proba se vrši pod istim uslovima kao i proba, samo što se umesto probe dodaje destilisana voda. Retitrirana količina amonijum-fero-sulfata označava se kao V_3 .

Napomena:

Ako uzorak sadrži suviše malu količinu etanola, za oksidaciju se koristi manja količina kalijum-bihromata (npr. 5 ml ili 10 ml), s tim što se doda 15 ml, odnosno 10 ml vode, što se pri izračunavanju

mora uzeti u obzir.

Izračunavanje

a) Količina etanola kod čvrstih proizvoda

Količina etanola

$V_3 - V_2$ 100 100

u procentima = $0,01 \times V_1 \times \text{-----} \times \text{----} \times \text{----}$

V_3 V_0 m

gde je:

m – masa uzorka, u g;

V_0 – zapremina destilata, u ml;

V_1 – zapremina rastvora kalijum-bihromata utrošenog za oksidaciju, u ml;

V_2 – zapremina rastvora amonijum-fero-sulfata utrošenog za retitraciju bihromata, u ml;

V_3 – zapremina rastvora amonijum-fero-sulfata utrošenog za titraciju slepe probe, u ml.

b) Količina etanola kod tečnih proizvoda

Količina etanola

$V_3 - V_2$ 100 100

u g/100 ml = $0,01 \times V_1 \times \text{-----} \times \text{---} \times \text{----}$

V_3 V_0 V_4

gde

V_0 , V_1 , V_2 i V_3 imaju isto značenje kao u prethodnom izračunavanju i gde je V_4 – zapremina probe, u ml.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 1% relativne vrednosti od prosečno utvrđene vrednosti.

Napomena:

Ako se u destilatu nalaze etarska ulja, destilat je mutan, s kapljicama ulja po površini. U tom slučaju destilat se prebaci u odmernu tikvicu zapremine 100 ml i ostavi da stoji dva časa. Zatim se dopuni vodom tako da se oznaka nalazi između oba sloja i ostavi još dva časa. Sakupljena količina ulja odbaci se isisivanjem pomoću pipete ili filtriranjem preko filtrir-papira, pri čemu se levak prekrije sahatnim staklom. Filtrat, koji je još mutan, stavi se u erlenmajer zajedno sa 10 g granuliranog polistirena (zrnca 1 – 2 mm), promeša i mučka u zapušenom erlenmajeru 15 minuta, a zatim procedi kroz gazu u pokrivenom levku. Rastvor mora da bude bistar i da je skoro potpuno bez mirisa. Određivanje se nastavlja prema već iznetom postupku u ovoj metodi.

.

10. ODREĐIVANJE HLORIDA U POVRĆU

Princip i primena

Ukupni hloridi određuju se dodavanjem u višku standardnog rastvora srebro-nitrata poznatog titra.

Višak srebro-nitrata se retitrira rastvorom kalijum-tiocijanata poznatog titra.

Količina hlorida izražava se u procentima, po masi natrijum-hlorida.

Metoda se primenjuje za određivanje ukupnih hlorida u proizvodima od povrća.

Ako proizvod sadrži prirodne pigmente – antocijane, metoda se primenjuje uz opisanu modifikaciju.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) homogenizator ili tarionik (avan);
- 2) čaša, zapremine 250 ml;
- 3) odmerni tikvica, zapremine 100 ml i 250 ml;
- 4) trbušaste pipete, zapremine 1,5, 20 i 25 ml;
- 5) erlenmajer, zapremine 250 ml;
- 6) bireta, zapremine 25 ml.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) rastvor srebro-nitrata $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$: srebro-nitrat se suši 2 časa na temperaturi 150°C i ostavi da se ohladi u eksikatoru. Rastvori se 16,9875 g srebro-nitrata u vodi i dopuni vodom do oznake u odmernoj tikvici od 1000 ml;
- 2) feri-amonijum-sulfat $[(\text{NH}_4)_2 \text{ " SO}_4 \text{ " Fe}_2 (\text{SO}_4)_3 \text{ " } 24\text{H}_2\text{O}]$: koristi se zasićen rastvor zakiseljen sa 5 ml azotne kiseline ($r_{20} = 1,39 \text{ do } 1,42 \text{ g/cm}^3$) za 100 ml rastvora;
- 3) rastvor kalijum-tiocijanata $c(\text{KSCN}) = 0,1 \text{ mol/l}$: u odmernoj tikvici zapremine 1000 ml rastvori se u vodi 9,72 g kalijum-tiocijanata i dopuni vodom do oznake. Ovaj rastvor se standardizuje rastvorom srebro-nitrata (1) u prisustvu rastvora feri-amonijum-sulfata (2);
- 4) nitrobenzen;
- 5) rastvor azotne kiseline: rastvori se jedan zapreminski deo azotne kiseline ($r_{20} = 1,39 \text{ do } 1,42 \text{ g/cm}^3$) sa tri zapreminska dela vode.

Pripremanje uzorka

Proizvodi koji sadrže jasno izraženu tečnu i čvrstu fazu: ako postoji specifikacija, određivanje se vrši u fazi koja je navedena u specifikaciji. Ako ne postoji specifikacija, promeša se celokupan laboratorijski uzorak i određivanje se vrši na homogenizovanom uzorku.

Tečni proizvodi: uzorak se dobro izmeša.

Gusti, kašasti i čvrsti proizvodi: uzorak se samelje ili homogenizuje u homogenizatoru ili tarioniku i dobro izmeša.

Određivanje

Odmeri se 25 g pripremljenog uzorka, sa tačnošću od 0,01 g, u čašu zapremine 250 ml i uz mešanje doda 100 ml tople vode. Mešanje se nastavlja dok sadržaj ne postane homogen, a zatim zagreva do ključanja, koje mora da traje jedan minut. Sadržaj u čaši se ohladi i kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 250 ml, a zatim dopuni vodom do oznake. Dobro se izmeša, ostavi 15 minuta, a zatim filtrira kroz naborani filtrir-papir u čist i suv erlenmajer. To je filtrat F.

Titracija

U erlenmajer se otpipetira 20 ml filtrata F i doda 5 ml rastvora azotne kiseline i 5 ml rastvora feri-amonijum-sulfata. Zatim se pomoću birete doda određena zapremina (V_1) rastvora srebro-nitrata koja je dovoljna da istaloži jone hlora i da se nalazi u višku 5 ml do 10 ml. Doda se 3 ml nitrobenzena i dobro promućka da bi se koagulisao talog.

Napomena:

Pri radu sa nitrobenzenom, koji je toksičan, treba biti oprezan.

Višak srebro-nitrata se retitrira kalijum-tiocijanatom do crvenosmeđe boje, koja mora biti postojana u toku 5 minuta. Označi se zapremina utrošenog rastvora kalijum-tiocijanata (V_2).

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Količina hlorida, izražena kao procent natrijum-hlorida, izražena je formulom

$$0,5845 (V1 - V2) \times V3$$

m x V4

gde je:

V1 – zapremina utrošenog srebro-nitrata, u ml;

V2 – zapremina utrošenog kalijum-tiocijanata, u ml;

V3 – zapremina na koju je razređen filtrat, u ml;

V4 – zapremina alikvotnog dela razređenog filtrata koji je uzet za titraciju, u ml;

m – masa uzetog uzorka, u g.

Napomena:

1) Ako rastvor kalijum-tiocijanata nije tačno 0,1 mol/l, za V2 se uzima odgovarajuća korekcija.

2) Ako je V3 = 250 ml a V4 = 20 ml, može se koristiti jednostavnija formula:

$$7,30625 (V1 - V2)$$

m

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti. Rezultat se izražava sa dve decimale.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 0,05 g natrijum-hlorida na 100 g proizvoda.

Napomena:

Ako su u proizvodu zastupljeni antocijani, pri određivanju hlorida primenjuje se modifikovana metoda po kojoj se uklanjaju antocijani pre titracije, i to na sledeći način:

Reagensi

Pored reagensa navedenih u metodi 10, koristi se:

1) zasićen rastvor kalijum-permanganata (KMnO₄): oko 6,5 g kalijum-permanganata rastvori se u 100 ml vode;

2) natrijum-nitrit ili kalijum-nitrit, kristalizovan.

Postupak

U erlenmajer se otpipetira 20 ml filtrata F (dobijen u opisanom postupku metode za određivanje hlorida), zatim se doda 20 ml azotne kiseline i tačno 20 ml rastvora srebro-nitrata (V1). Smeša se zagreje do vrenja i ostavi da ključa dva do tri minuta. Zagrevanje se nastavlja uz postepeno dodavanje 0,5 ml do 1 ml KMnO₄, dok ukupni dodatak bude 5 ml do 10 ml. Rastvor mora da postane bezbojan, a ako ne postane bezbojan, doda se nekoliko kristalića natrijum-nitrita ili kalijum-nitrita da bi postao bezbojan. Posle toga rastvor se ostavi da ključa još 5 minuta, ohladi se, unese 5 ml zakiseljenog rastvora feriamonijum-sulfata [(NH₄)₂ " SO₄ Fe₂(SO₄)₃ " 24 H₂O] i postupak određivanja nastavi kao što je opisano u odeljku titracija, s tim što dodavanje nitrobenzena nije potrebno.

11. ODREĐIVANJE PEKTINA KOLORIMETRIJSKOM METODOM

Princip i primena

Ukupne pektinske materije se talože etanolom. Posle dodavanja karbazola, javlja se crvena boja koja

se meri spektrofotometrijski na 535 nm.

Služi za određivanje pektinskih materija u proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Pored uobičajenog laboratorijskog pribora, koristi se:

- 1) fotometar ili spektrofotometar za rad u vidljivom delu spektra;
- 2) centrifuga s 3.000 obrtaja u minutu, snabdevena graduisanim epruvetama za centrifugiranje, zapremine 50 ml;
- 3) homogenizator;
- 4) vodeno kupatilo s termoregulatorom;
- 5) tikvice s okruglim dnom, zapremine 1 ili 2 l, sa brušenim grlicem, povratni hladnjak sa brušenim nastavkom;
- 6) stakleni štapić s gumenim završetkom;
- 7) boca s komprimovanim vazduhom ili azotom, snabdevena ventilom za redukciju;
- 8) led;
- 9) bireta od 50 ml, s pipkom;
- 10) epruvete debelih zidova, sa staklenim brušenim zapušačima, bakarni držač sa 4 epruvete koji može da služi za termostatiranje i drveni stalak za epruvete;
- 11) odmerne tikvice od 100 ml;
- 12) pipete graduisane, zapremine 1 ml i 5 ml;
- 13) pipete trbušaste, zapremine 1 ml, 10 ml i 15 ml;
- 14) analitička vaga;
- 15) filtrir-papir.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) etanol, apsolutni;
- 2) etanol, 96%-ni;
- 3) etanol 63%-ni: promešati 100 ml destilisane vode s 200 ml 96%-nog etanola.
Prečišćavanje 96%-nog etanola: kuvati jedan litar 96%-nog etanola sa 4 g cinka u prahu i 2 ml koncentrisane sumporne kiseline u tikvici sa okruglim dnom, spojenoj sa povratnim hladnjakom, tokom 24 sata, destilovati, a zatim dodati 4 g cinka u prahu i 4 g kalijum-hidroksida;
- 4) rastvor natrijum-hidroksida c (NaOH) = 1 mol/l;
- 5) sumporna kiselina, koncentrisana, $r_{20} = 1,83$ g/ml, dodatak karbazola ne daje obojenje;
- 6) rastvor boraksa: rastvori se 0,250 g boraksa ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$) u 100 ml H_2SO_4 . Zagreva se do pojave sumpor-dioksida (SO_2), a zatim doda 0,15 g karbamida [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$]. Ohladi se i prenese u odmernu tikvicu zapremine 100 ml, a zatim dopuni sumpornom kiselinom do oznake ($r_{20} = 1,839$ g/cm³);
- 7) rastvor 0,15%-nog karbazola ($\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_4\text{C}_6\text{H}_4$) u etanolu: u odmernoj tikvici zapremine 100 ml rastvori se u etanolu 0,15 g karbazola, prethodno prekrystalisanog u toluenu i dopuni etanolom (apsolutni) do oznake. Mešanjem 0,2 ml rastvora karbazola, 6 ml sumporne kiseline i 1 ml destilisane vode mora se dobiti rastvor približno bistar kao voda.
(Rastvor karbazola čuva se u tamnoj staklenoj boci, na temperaturi 40°C. Rastvor je stabilan 12 nedelja);
- 8) fosfor-pentoksid;
- 9) galakturonska kiselina monohidrat [HOCH/CHOH]₃ " CH (COOH) " O " H₂O] molekularna masa 212,16. Proveriti čistoću kiseline titracijom 0,500 g kiseline sa 0,1 mol/l natrijum-hidroksidom do pH

8;

10) standardni rastvor: odmeriti 0,1205 g galakturonske kiseline, osušene preko P₂O₅ na 200°C u vakuumu u toku 5 časova i kvantitativno preneti u odmernu tikvicu zapremine 1000 ml. Dodati 0,5 ml rastvora natrijum-hidroksida i dopuniti destilovanom vodom do oznake. Promućkati i ostaviti preko noći.

1 ml ovog rastvora sadrži 100 mg anhidrida galakturonske kiseline.

U 7 odmernih tikvica zapremine 100 ml otpipetira se po: 10, 20, 30, 40, 50, 60 i 70 ml standardnog rastvora. Dopuni se, do oznake, destilovanom vodom i promućka. Dobijeni rastvor sadrži 10, 20, 30, 40, 50, 60 i 70 mg/ml anhidrida galakturonske kiseline.

Postupak određivanja

Taloženje ukupnih pektina

Pripremanje uzorka

Posle pranja i sušenja voća i povrća izvrši se homogenizacija laboratorijskog uzorka, 3 minuta, u homogenizatoru.

Odmeri se 0,5 g do 15 g uzorka pripremljenog za ispitivanje, zavisno od količine zastupljenih pektinskih materija u proizvodu i unese u epruvetu za centrifugiranje (uzima se 10 g svežeg voća ili povrća, 15 ml soka, 4 g koncentrisanog voćnog soka ili cit-baze, odnosno voćne baze, 2 g koncentrata od paradajza, odnosno 0,5 g do 1 g proizvoda obogaćenih pektinom).

Gusti i pastozni proizvodi se razrede sa 12 ml destilovane vode. Epruveta se dopuni do 40 ml 96%-nim etanolom, koji je prethodno zagrejan do 75°C na vodenom kupatilu, uz povremeno mešanje staklenim štapićem. Zatim se stakleni štapić ispere sa 5 ml 96%-nog etanola.

Epruveta se uravnoteži i sadržaj se centrifugira 15 minuta na 3.000 obrtaja u minuti. Dekantiranjem se ukloni etanol od taloga. Zatim se ispere talog ukupnih pektina zamenjujući 96%-ni etanol 63%-nim etanolom.

Talog se ispira sve dok se utvrdi da nema šećera u dekantiranom etanolu (reakcija Fehlingovim rastvorom).

Sav talog se kvantitativno prenese pomoću destilovane vode u odmernu tikvicu zapremine 100 ml. Doda se 5 ml 1 mol/l rastvora natrijum-hidroksida i dopuni, do oznake, destilovanom vodom. Sadržaj se promeša i ostavi 15 minuta, uz povremeno mešanje. Zatim se tečnost filtrira i uzme alikvotni deo filtrata za kolorimetrijsko određivanje.

Kolorimetrijsko određivanje pektinskih materija

U tri epruvete sa staklenim brušenim zapušačima otpipetira se po 6 ml koncentrisane sumporne kiseline ohlađene na 0°C. Doda se, kap po kap, 1 ml rastvora koji se ispituje i dobro promućka na temperaturi nižoj od 40°C.

Epruvete se zatim zagrevaju na vrućem vodenom kupatilu tačno 6 minuta, a zatim hlade u ledu 15 minuta. U dve od ovih epruveta doda se po 0,2 ml rastvora karbazola (15%), a u treću se unese 0,2 ml apsolutnog etanola i dobro promeša.

Sve tri epruvete ostave se 30 minuta na 25°C (u termostatu), a zatim se izmeri optička gustina crveno obojenog rastvora na talasnoj dužini od 535 nm, u kiveti zapremine 10 mm, u odnosu na slepu probu.

Priprema baždarne krive

Uzme se po 1 ml standardnog rastvora i postupa kao što je opisano kod kolorimetrijskog određivanja. Pripremi se baždarna kriva $A = f(c)$. Na apscisi se označe koncentracije anhidrida galakturonske kiseline izražene u mg/ml, a na ordinatu se nanese optička gustina (A).

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Količina anhidrida galakturonske kiseline (x), izražena u mg po kilogramu ili litru proizvoda, jednaka je:

$A \cdot 100$

$x = \frac{A \cdot 100}{V}$

gde je:

A – količina pektinske materije očitane na baždarnoj krivoj;

– odmerena količina uzorka uzeta za ispitivanje, u g ili ml.

Izračunata vrednost, pomnožena koeficijentom 1,37, pretvara se u miligrame pektina/kg proizvoda.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme biti veća od 6% prosečno utvrđene vrednosti.

12. ODREĐIVANJE ALKALITETA UKUPNOG I U VODI RASTVORLJIVOG PEPELA

Definicija

Pod alkalitetom ukupnog pepela podrazumevaju se miliekvivalenti kiseline potrebni za neutralizaciju pepela iz 100 g uzorka.

Alkalitet ukupnog pepela takođe može biti definisan kao alkalitetni broj. Pod alkalitetnim brojem podrazumeva se broj mililitara jednomolarne monobazne kiseline za neutralizaciju 1 g pepela iz uzorka.

Pod alkalitetom u vodi rastvorljivog pepela podrazumeva se broj mililitara jednomolarne monobazne kiseline potrebnih za neutralizaciju vodenog ekstrakta pepela iz 100 g uzorka.

Princip i primena

Ukupni pepeo

Uzorak se spali na temperaturi 525 250C, zatim se količina alkalija u pepelu neutrališe sumpornom kiselinom poznatog titra, uz metil-oranž kao indikator.

Pepeo rastvorljiv u vodi

Uzorak se spali na temperaturi 525 250C, zatim se pepeo ekstrahuje vrućom vodom. Vodeni ekstrakt pepela se neutrališe sumpornom kiselinom poznatog titra, uz metil-oranž kao indikator.

Metoda se koristi za određivanje alkaliteta ukupnog i u vodi rastvorljivog pepela u proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) sud za spaljivanje, od kvarca ili drugog materijala otpornog na koroziju;
- 2) električna mufolna peć sa termoregulacijom 525 250C;
- 3) eksikator sa sredstvom za sušenje;
- 4) bireta;
- 5) analitička vaga.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) rastvor sumporne kiseline poznatog titra

1

$c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$;

2

2) rastvor natrijum-hidroksida poznatog titra $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ (za ukupni pepeo);

3) indikator: doda se 4 ml rastvora metilen-plavog (koncentracije 10 g/l) na 100 ml rastvora metil-oranža (koncentracije 1 g/l), poznat kao indikator Toshio.

a) Određivanje alkaliteta ukupnog pepela

Pripremanje uzorka

Laboratorijski uzorak se dobro izmeša i homogenizuje. Smrznuti uzorak se prethodno odmrzne, a tečnost obrazovana odmrzavanjem doda se u uzorak pre homogenizacije.

Količina uzorka za ispitivanje

U posudi za spaljivanje koja je prethodno izarena i izmerena sa tačnošću $0,1 \text{ mg}$, odmeri se 5 g do 10 g pripremljenog uzorka, mereno sa tačnošću 1 mg .

Napomena:

Ako je proizvod tečan, količina uzorka za ispitivanje uzima se zapreminski pomoću pipete od 5 ml do 10 ml , što se uzima u obzir pri izračunavanju na 100 ml uzetog uzorka.

Spaljivanje

Sud sa uzorkom, ako je potrebno, prethodno se upari, spaljuje se u mufolnoj peći na $525 \text{ }^{\circ}\text{C}$ dok pepeo dobije sivobelu boju. Sud sa pepelom se ohladi u eksikatoru i meri, sa tačnošću $0,1 \text{ mg}$.

U pepeo se doda 10 ml do 15 ml sumporne kiseline poznatog titra. To je zapremina V . Dobijeni rastvor se pomoću tople vode kvantitativno prenese u erlenmajer zapremine 200 ml i zagreva do ključanja. Sadržaj se ohladi, dodaju se dve kapi indikatora i titrira sa $0,1 \text{ mol/l}$ rastvorom natrijum-hidroksida do promene boje. To je zapremina V_1 . Sa rastvorom $0,1 \text{ mol/l}$ H_2SO_4 titrira se do neutralne nijanse (V_2).

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

b) Određivanje alkaliteta pepela rastvorljivog u vodi

Pripremanje uzorka

Uzorak se priprema na isti način kao i uzorak za određivanje alkaliteta ukupnog pepela.

Postupak određivanja

U sud za spaljivanje, koji je prethodno izaren u mufolnoj peći na $525 \text{ }^{\circ}\text{C}$, ohlađena i izmerena sa tačnošću $0,1 \text{ mg}$, unese se 5 g do 10 g pripremljenog uzorka (mereno sa tačnošću 1 mg).

Napomena:

Ako je proizvod tečan, količina uzorka za ispitivanje uzima se zapreminski pomoću pipete od 5 ml do 10 ml , a uzima se u obzir pri izračunavanju na 100 ml uzetog uzorka.

Spaljivanje

Sud sa uzorkom se spaljuje u mufolnoj peći na $525 \text{ }^{\circ}\text{C}$ dok pepeo ne dobije sivobelu boju. Sud sa pepelom se ohladi u eksikatoru i meri, sa tačnošću $0,1 \text{ mg}$.

Ekstrakcija toplom vodom

U pepeo se doda 20 ml vruće vode i filtrira preko filtrir-papira, uz ispiranje vrućom vodom nekoliko puta. Dobijeni filtrat se ohladi, dodaju se dve do tri kapi indikatora i titrira rastvorom sumporne kiseline $0,1 \text{ mol/l}$. To je zapremina V_1 .

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

a) Alkalitet ukupnog pepela

Alkalitet ukupnog pepela izražen u milimolovima u 100 g uzorka izračunava se formulom:

$(V - V_1 + V_2) \cdot 100$

----- x -----

Alkalitetni broj ukupnog pepela u uzorku izražen kao mililitri jednomolarne monobazne kiseline za 1 g pepela izračunava se formulom:

$$(V - V_1 + V_2) 100$$

-----X-----

10 m1

gde je:

V – zapremina dodatog rastvora sumporne kiseline

1

$$c(\text{---H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l, u ml;}$$

2

V1 – zapremina rastvora natrijum-hidroksida c (NaOH) = 0,1 mol/l utrošenog za titraciju, u ml;

V2 – zapremina rastvora sumporne kiseline

1

$$c(\text{---H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l, u ml;}$$

2

m – masa uzorka, u g;

m1 – masa pepela, u g.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti.

b) Alkalitet pepela rastvorljivog u vodi

Alkalitet pepela rastvorljivog u vodi izražen u milimolovima u 100 g uzorka izračunava se formulom:

$V'1\ 100$

— — — X — — —

10 m'

Alkalitetni broj izražen u mililitrima jednomolarnog rastvora monobazne kiseline po gramu pepela izračunava se formulom:

V'_{11}

_____ X _____

10 m'1

gde je:

V'1 – zapremina rastvora sumporne kiseline

1

$c(\text{---H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$ utrošena za titraciju pepela

2

rastvorljivog u vodi, u ml;

m' – masa uzetog uzorka za određivanje pepela rastvorljivog u vodi, u g;

$m'1$ – masa pepela dobijenog spaljivanjem pri određivanju pepela rastvorljivog u vodi, u g.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika rezultata između dva određivanja, koja su izvršena paralelno ili ubrzo jedno za drugim, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 0,1 miliekvivalent u 100 g uzorka ili za 1 g pepela.

13. ODREĐIVANJE ETARSKIH ULJA

Princip i primena

Ova metoda se zasniva na izdvajanju etarskih ulja pri produženom ključanju ispitivanog uzorka, pomoću vodene pare koja se, kao destilat, kondenzuje i skuplja u graduisanoj cevi. Uzorak može biti razređen ili nerazređen. Posle hlađenja, direktno se očitava zapremina etarskih ulja koja su izdvojena iz destilata.

Metoda se primenjuje pri određivanju etarskih ulja u proizvodima od citrus-voća (sokovi, koncentrisani voćni sokovi, citrus-baze, sirupi i dr.).

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) aparat koji omogućava izdvajanje etarskih ulja i njihovu kondenzaciju, kao i hvatanje kondenzata u graduisanoj cevi, zapremine 4 ml, sa podeocima od po 0,05 ml (slika 3).
- 2) balon zapremine 3 l, sa brušenim grlićem, podesan za priključivanje na aparaturu.

Pripremanje uzorka

Uzorak se priprema na sledeći način:

- 1) za proizvode siromašne etarskim uljima (sa manje od 0,1 ml na 100 g ili 100 ml proizvoda), i to:
 - tečne proizvode (sokovi od citrus-voća) – uzorak se dobro izmeša;
 - guste proizvode (sirup, pulpa i dr.) – odmeri se količina laboratorijskog uzorka i izmeša sa istom količinom vode;
- 2) za proizvode bogate etarskim uljima (koncentrisani sokovi od citrus-voća) – uzorak se razredi vodom da rastvor sadrži manje od 0,1 ml etarskog ulja u 100 g ili 100 ml proizvoda;
- 3) za proizvode veoma bogate etarskim uljem (citrus-baze za osvežavajuća pića) – izmerena količina uzorka se pažljivo homogenizuje, a zatim razredi vodom da ne sadrži više od 0,1 ml etarskog ulja u 100 g ili 100 ml proizvoda. Zatim se, pomoću mehaničke mešalice velike brzine, uzorak izmeša da se izbegne odvajanje faza;
- 4) za plodove citrus-voća – oljušten plod se iseče na male komade i dalje postupa kao što je propisano za pripremanje uzorka za proizvode bogate etarskim uljima, što je sastavni deo ove metode.

Količina uzorka za ispitivanje

Uzorak se mora uzeti u količini koja je dovoljna da obezbedi 2 l uzorka za ispitivanje.

Pripremanje aparature

Kroz hladnjak se propusti voda, a ako konstrukcija aparature to dozvoljava, hladnjak se sa unutrašnje strane navlaži sredstvom za smanjivanje površinskog napona, odnosno sekundarnim natrijum-alkil-sulfatom. U graduisanu epruvetu unese se malo destilovane vode, a epruveta uroni, u toku postupka, u veću čašu sa hladnom vodom.

Određivanje

U balon se unese 2 l uzorka za ispitivanje, balon se spoji sa aparaturom i otpočne zagrevanje. Kad rastvor počne da ključa, grejanje se podesi tako da se kondenzuje po jedna kap u sekundi.

Rastvor se ostavi da ključa od 1 do 3 časa, pri čemu se etarska ulja sakupljaju u graduisanoj cevi.

Kada zapremina etarskog ulja u graduisanoj epruveti prestane da se povećava, obično posle 15 do 30 minuta, zagrevanje se prekida, a etarsko ulje u graduisanoj cevi ostavi da se ohladi.

Posle toga hladnjak se ispere, a voda postepeno ispušta kroz slavinu da se donja granica etarskih ulja dovede na nulu, a zatim očitava zapremina etarskih ulja u mililitrima na temperaturi od 20o C.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

a) Uzorak uzet po zapremini

Količina etarskih ulja izražena u zapreminskim procentima izračunava se formulom:

$$\frac{V_1}{V_0} \times 100$$

gde je:

V0 – zapremina uzorka u 2 l uzorka za ispitivanje, u ml;

V1 – zapremina etarskih ulja koja se određuju, u ml.

b) Uzorak uzet merenjem po masi

Količina etarskih ulja izražena u mililitrima u 100 g proizvoda izračunava se formulom:

$$\frac{V_1}{m} \times 100$$

gde je:

V1 – zapremina etarskog ulja, u ml;

m – masa uzorka, u g.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je istovremeno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 5,0% relativne vrednosti od prosečno utvrđene vrednosti.

14. ODREĐIVANJE ETARSKOG EKSTRAKTA ZAČINSKE PAPRIKE

Princip i primena

Iz osušenog uzorka vrši se ekstrakcija materija rastvorljivih u etil-eteru.

Primenjuje se za proizvode od mlevene paprike koji se koriste kao začini.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koriste se:

1) čahura za ekstrakciju;

2) sušnica sa automatskom regulacijom temperature na 95 °C;

3) vodeno kupatilo;

4) sokslet-aparat;

5) eksikator sa sredstvom za sušenje;

6) pipete, zapremine 25 ml;

7) analitička vaga.

Reagensi

Kao reagens koristi se etil-eter.

Postupak određivanja

Odmeri se oko 5 g mlevene začinske paprike, sa tačnošću 0,1 g, i suši u sušnici 5 časova na temperaturi od 95 °C. Od osušenog uzorka odmeri se oko 5 g sa tačnošću od 0,0001 g u cilindar sok slet-aparata i ekstrahuje 8 časova etil-etrom.

Izvrši se destilacija etil-etera, a ostatak u tikvici sokslet-aparata suši se u sušnici na temperaturi od 95 °C; do konstantne mase. Posuda sa osušenim ekstraktom hladi se u eksikatoru, a zatim se meri, sa tačnošću od 0,0001 g.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Procent etarskog ekstrakta izračunava se formulom:

masa ekstrakta

procent etarskog ekstrakta = ————— " 100

masa uzorka

Etarski ekstrakt se izražava u procentima po masi, računato na neto-masu proizvoda.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

15. ODREĐIVANJE L-ASKORBINSKE KISELINE

Princip i primena

2,6-r-dihlorfenolindofenol oksidiše askorbinsku kiselinu u dehidroaskorbinsku, dok boja reagensa ne pređe u bezbojnu leukobazu, pa služi ujedno i kao indikator ove redoks-reakcije.

Služi za određivanje askorbinske kiseline u proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koriste se:

- 1) čaše, zapremine 100 ml i 250 ml;
- 2) odmerni cilindri, zapremine 100 ml i 200 ml;
- 3) trbušaste pipete, zapremine 1, 2, 5, 10, 20 i 25 ml;
- 4) graduisane pipete, zapremine 2,5 ml i 10 ml;
- 5) odmerne tikvice, zapremine 100, 200 i 250 ml;
- 6) bireta, zapremine 50 ml;
- 7) erlenmajer tikvice, zapremine 50 ml, 200 ml i 250 ml.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

1) metafosforna kiselina – sirćetna kiselina ($\text{HPO}_3 - \text{HOAc}$) : odmeri se 15 g sveže pulverizovanog HPO_3 i rastvori, uz mešanje, u 40 ml HOAc i 200 ml H_2O ; razredi se vodom na 500 ml i brzo filtrira kroz naborani filtrir-papir u staklenu bocu (reagens 1).

HPO_3 se polako menja u H_3PO_4 , ali ako se čuva u frižideru, rastvor ostaje stabilan 7 do 10 dana;

2) metafosforna kiselina – sirćetna kiselina – sumporna kiselina ($\text{HPO}_3\text{-HOAc-H}_2\text{SO}_4$) : postupak pripremanja je isti kao i za reagens 1, samo se umesto vode upotrebi rastvor sumporne kiseline

1

c (— H_2SO_4) = 0,3 mol/l (reagens 2);

2

3) standardni rastvor askorbinske kiseline 1 mg/ml: neposredno pre upotrebe odmeri se tačno 50 mg askorbinske kiseline (koja se čuva u eksikatoru zaštićenom od dnevnog svetla) i prenese u odmernu tikvicu zapremine 50 ml, a zatim se dopuni, do oznake, reagensom 1 ($\text{HPO}_3 - \text{HOAc}$);

4) standardni rastvor indofenola: rastvori se 50 mg 2,6 dihlorindofenol Na-soli (koji se čuva u eksikatoru iznad natrijum-karbonata) u 50 ml H_2O , u koju je dodato 42 mg NaHCO_3 . Snažno se mućka i, kad se boja rastvori, razblaži se vodom do 200 ml. Filtrira se kroz naborani filtrir-papir u tamnu staklenu bocu (štiti se od dnevnog svetla i čuva u frižideru). Produkti raspadanja koji se vremenom pojavljuju u nekim uzorcima indofenola dobijenog sušenjem mogu se pojaviti i u krajnjem rastvoru indofenola i čine kraj titracije nejasnim.

Kontrola ispravnosti dihlorindofenola vrši se tako što se doda tačno 5 ml ekstrahovanog rastvora koji

sadrži višak askorbinske kiseline u 15 ml reagensa indofenola i, ako redukujući rastvor nije bezbojan, odbaci se i napravi nov osnovni rastvor. Ako je greška u sušenoj supstanciji (indofenolu), uzme se nova hemikalija.

Za titraciju s dihlorfenolom uzme se tri puta po 2 ml standardnog rastvora askorbinske kiseline i prenese u erlenmajer-tikvice zapremine 50 ml, u kojima se nalazi po 5 ml HPO_3 -HOAc (reagens 1) i brzo titrira rastvorom indofenola (iz birete od 50 ml), dok jasno vidljiva, ružičasta boja bude postojana – 5 sekundi. Za svaku titraciju je potrebno oko 15 ml rastvora indofenola, a razlika između pojedinih titracija ne sme biti veća od 0,1 ml.

Slepa proba

Pripremi se za tri uzorka slepe probe po 7 ml HPO_3 – HOAc i oko 15 ml vode (tako da zapremina bude približno ista kao prilikom titracije standardnog rastvora indofenolom). Utrošak rastvora indofenola za slepu probu, (obično je oko 0,1 ml) oduzme se od utroška standardnog rastvora upotrebljenog za titraciju.

Titlar indofenol-rastvora izražava se kao broj miligrama askorbinske kiseline ekvivalentne 1 ml reagensa.

Standardizacija rastvora indofenola vrši se svakodnevno sa sveže pripremljenim rastvorom askorbinske kiseline:

5) timol-plavo 0,04%-no, koje je pH indikator: rastvori se 0,1 g indikatora timol-plavog, trenjem u homogenizatoru, sa 10,75 ml rastvora natrijum-hidroksida c (NaOH) = 0,02 mol/l. Dobijeni rastvor se razredi vodom do 250 ml. Granica prelaza kod pH 1,2 je crvena, a kod pH 2,8 – žuta.

Proveravanje količine alkalnih supstancija

Određenoj količini pripremljenog homogenizovanog uzorka doda se 25 ml rastvora HPO_3 -HOAc (reagens 1). Zatim se ispita pH pomoću indikatora timol-plavog, primenom kapi na sahatnom staklu (pH veće od 1,2 ukazuje na znatne količine alkalnih supstancija). Tečni uzorci se prethodno razrede približno dvostrukom količinom HPO_3 -HOAc rastvora (reagens 1) pre proveravanja s indikatorom timol-plavim.

Pripremanje uzorka za određivanje

a) Praškasti uzorak koji ne sadrži znatnije količine alkalnih supstancija priprema se tako što se homogenizuje pomoću reagensa 1 HPO_3 -HOAc i razredi istim reagensom 1 na određenu zapreminu, tako da količina uzorka za ispitivanje sadrži 10 mg do 100 mg askorbinske kiseline u 100 ml. Ova zapremina se označi kao V ml. Za ekstrakciju se uzima 10 ml rastvora na 1 g uzorka.

Tečni i bistri uzorci pripremaju se tako da alikvot sadrži približno 100 mg askorbinske kiseline u uzorku.

b) Praškasti uzorak koji sadrži znatne količine lužnatih supstancija: pH pripremljenog uzorka se podesi na približno pH = 1,2, i to pomoću HPO_3 -HOAc- H_2SO_4 (reagens 2), razredi se sa HPO_3 -HOAc (reagens 1) tako da 100 ml uzorka sadrži 10 mg do 100 mg askorbinske kiseline. Ova zapremina se označi kao V ml.

Određivanje titracijom

Tri uzorka, od kojih svaki sadrži približno 2 mg askorbinske kiseline i slepa proba titrira se kao pri određivanju standardnog rastvora. Ako je zapremina alikvotnog dela (koji sadrži približno 2 mg askorbinske kiseline) manja od 7 ml, treba dodati rastvora HPO_3 -HOAc (reagens 1) tako da zapremina za titraciju bude 7 ml

Izračunavanje

Količina askorbinske kiseline

u 1 g ili 1 ml uzorka.

F V

$= (X-B) \times \left(\frac{10}{V} \right) \times \left(\frac{10}{Y} \right)$

E Y

gde je:

X – prosečni mililitri za titraciju;

B – prosečni mililitri za titraciju slepe probe;

F – mg askorbinske kiseline ekvivalentni 1,0 ml standardnog rastvora dihlorfenolindofenola;

E – količina uzorka uzetog u postupak, u g ili ml;

V – zapremina početnog analiziranog rastvora;

Y – zapremina alikvotnog dela titriranog uzorka.

Napomena:

Proizvodi koji sadrže gvožđe (Fe), kalaj (Sn) i bakar (Cu) daju po ovoj metodi povišene rezultate askorbinske kiseline. Pomoću jednostavne probe može se odrediti da li su redukujući joni prisutni u količinama u kojima ometaju ovo određivanje.

Proba za određivanje prisustva jona Fe, Cu i Sn: dodaju se 2 kapi 0,05%-nog vodenog rastvora metilen-plavog u 10 ml sveže pripremljene smeše (1+1) rastvora uzorka i HPO_3 -HOAc (reagens 1) i meša. Nestanak boje indikatora metilen-plavog u trajanju od 5 do 10 sekundi ukazuje na prisustvo jona Fe ili Cu. Kalaj (Sn) ne daje ovu reakciju, pa se proveravanje vrši na sledeći način: u 10 ml uzorka izmešanog sa 10 ml HCl (1+3) doda se 5 kapi 0,05%-nog vodenog rastvora indigo-karmina i meša se. Nestanak boje u trajanju od 5 do 10 sekundi ukazuje na prisustvo kalaja (Sn) ili druge interferirajuće supstancije.

16. ODREĐIVANJE UKUPNOG SUMPOR-DIOKSIDA

Princip i primena

Uzorak za ispitivanje se zakiseli i zagreva, a zatim u struji azota odvodi oslobođeni sumpor-dioksid. Apsorpcija i oksidacija sumpor-dioksida vrše se barbotiranjem u neutralnom rastvoru razblaženog vodonik-superoksida. Količina tako nastale sumporne kiseline određuje se titracijom pomoću rastvora natrijum-hidroksida.

Količina se utvrđuje na osnovu istaloženog barijum-sulfata iz rastvora, prema sadržaju sumpor-dioksida, i to:

– merenjem mase barijum-sulfata (Prilog A);

– nefelometrijskim utvrđivanjem (Prilog B).

Metoda se primenjuje pri određivanju količine ukupnog sumpor-dioksida u proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koriste se:

1) graduisane epruvete;

2) pipete, zapremine 10 ml;

3) semimikrobirete, zapremine 10 ml;

4) bireta, zapremine 25 ml;

5) homogenizator;

6) eksikator sa sredstvom za sušenje;

7) aparatura za određivanje količine sumpor-dioksida (slika 4), sa delovima:

A – balon sa okruglim dnom, zapremine 250 ml ili veće;

B – povratni hladnjak, prilagođen balonu A;

C – ampula montirana na balon A;

D – slavina za dovod azota;

E i E' – barboteri, pogodni da se pričvrste na hladnjak V;

F – azbestna ploča, prečnika 150 mm, sa centralnim otvorom od 40 mm (da se izbegne pregrevanje naročito ekstraktivnih materija)

Napomena:

Ako je prethodno određivanje bilo postepeno i umereno, mora se oprati samo balon A.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

1) azot, bez kiseonika;

2) vodonik-superoksid bez sulfatnih jona, rastvor 9,1 g/l;

3) hlorovodonična kiselina, rastvor 100 g/l: razblaži se jedna zapremina koncentrovane hlorovodonične kiseline $r_{20} = 1,19$ g/ml sa 3 zapremine vode;

4) indikator, rastvor: rastvori se 100 mg bromfenol-plavog u 100 ml 20%-nog etanola (V/V);

5) natrijum-hidroksid bez sulfatnih jona, rastvor $c(\text{NaOH}) = 0,01$ mol/l, ili

6) natrijum-hidroksid bez sulfatnih jona, rastvor $c(\text{NaOH}) = 0,1$ mol/l;

1

7) rastvor joda $c(\text{--- J}_2) = 0,02$ mol/l;

2

8) skrobni štirak, rastvor 5 g/l, koji sadrži natrijum-hlorid kao konzervans, koncentracije 200 g/l (skrobni štirak se priprema tako što navedeni rastvor mora da ključa 10 minuta);

9) kalijum-metabisulfit, rastvor: rastvori se u malo vode 1,20 g kalijum-metabisulfita ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) i 0,20 g dinatrijum-kiselog etilen-diaminotetraacetata. Rastvor se kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 1000 ml, dopuni vodom do oznake i promućka;

10) saharoza, rastvor 100 g/l.

Provera aparature

Aparatura prikazana na slici 4 mora da zadovolji tri sledeće provere:

a) u balon (A) stavi se 100 ml vode i 5 ml rastvora hlorovodonične kiseline. Balon se zagreva uz povratni hladnjak jedan čas, uz propuštanje struje azota.

Barboteri (E) i (E') sadrže po 5 ml vode i 0,1 ml rastvora bojenog indikatora, pri čemu sadržaj u oba barbotera mora ostati neutralan;

b) u balon (A) stavi se 20 ml rastvora saharoze. Balon se zagreva u toku 1 časa, uz propuštanje struje azota. Rastvor saharoze treba da ostane bezbojan, a na zidovima balona ne sme da se stvori talog karamela (ova proba se izvodi zbog kontrole intenziteta zagrevanja);

v) ova proba se sastoji iz dve operacije, i to:

v1) u balon (A) stavi se 20 ml rastvora kalijum-metabisulfita i 5 ml rastvora hlorovodonične kiseline. Izvrši se odvajanje i određivanje količine sumpor-dioksida (u istim uslovima kao i pri postupku određivanja), bez dodavanja hlorovodonične kiseline;

v2) u konusnu tikvicu zapremine 100 ml stavi se 20 ml rastvora kalijum-metabisulfita i doda 5 ml rastvora hlorovodonične kiseline i 1 ml rastvora skrobnog štirka. Titrira se rastvorom joda do pojave plave boje. Količina sumpor-dioksida, dobijena u (v1), treba otprilike da iznosi 1 procent vrednosti koja je dobijena u (v2).

Postupak određivanja

Pripremanje uzorka za ispitivanje

Iz uzorka se izdvoje koštice i semenke i uzorak pažljivo homogenizuje. Smrznut ili brzo smrznut

proizvod se prethodno odmrzne u zatvorenom sudu, a tečnost obrazovana tokom odmrzavanja doda se proizvodu pre homogenizacije.

Količina uzorka za ispitivanje

Izmeri se 10 g do 100 g pripremljenog uzorka, sa tačnošću od 0,01 g, zavisno od količine sumpor-dioksida, tako da količina uzorka sadrži najviše 10 mg sumpor-dioksida. Izmerena količina se unese u balon (A).

U ampulu (C) aparature stavi se 100 ml vode i 5 ml rastvora hlorovodonične kiseline.

U barbotere (E) i (E') stavi se po 3 ml rastvora vodonik-superoksida i po 0,1 ml rastvora indikatora brom-fenol-plavog. Rastvor vodonik-superoksida se neutrališe sa rastvorom natrijum-hidroksida, 0,01 mol/l.

Ampula (C) hladnjak (B) i barboteri (E) i (E') podese se i propusti se da cirkuliše struja azota da bi se istisnuo vazduh, kako iz balona (A) tako i celog uređaja.

U balon (A) pusti se da protiče razblaženi rastvor hlorovodonične kiseline koji se nalazi u ampuli (C) (ako je potrebno, za momenat se može prekinuti proticanje struje azota).

Sadržaj balona se lagano dovede do ključanja, a zatim ključanje održava tako da azot prelazi ravnomerno (1 do 2 mehura u sekundi) u trajanju oko 30 minuta.

Titracija

Sadržaj drugog barbotera (E') prenese se u prvi barboter (E) i titrira nastala sumporna kiselina pomoću rastvora natrijum-hidroksida 0,01 mol/l, ili rastvora natrijum-hidroksida 0,1 mol/l, zavisno od očekivane količine nastale sumporne kiseline.

Proveravanje

Ako je zapremina (V) rastvora natrijum-hidroksida 0,01 mol/l veća od 10 ml vrši se gravimetrijska provera, kao što je propisano u prilogu (A) ove metode.

Ako je zapremina (V) rastvora natrijum-hidroksida 0,01 mol/l manja od 10 ml, treba izvršiti nefelometrijsku proveru, kao što je propisano u Prilogu B.

Ako je zapremina navedenog rastvora natrijum-hidroksida manja od 5 ml, vrši se samo nefelometrijska provera (prilog B). Za uzorak od 100 g granica od 5 ml odgovara količini sumpor-dioksida od 16 mg/kg.

Iznad ove granice dovoljno je acidimetrijsko određivanje.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Količina sumpor-dioksida izražena u mg/kg proizvoda izračunava se formulom:

$$V \quad V$$

$$0,32 \times \frac{m}{m} \times 103 = 320 \times \frac{m}{m}$$

m m

gde je:

m – masa ispitivanog uzorka, u g;

V – zapremina rastvora natrijum-hidroksida 0,01 mol/l utrošena za titraciju, u ml;

0,32 – masa sumpor-dioksida koja odgovara jednom mililitru rastvora natrijum-hidroksida 0,01 mol/l, u mg.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 5% relativne vrednosti od prosečno dobijene vrednosti.

.

Prilog A

GRAVIMETRIJSKO PROVERAVANJE ACIDIMETRIJSKI FORMIRANIH SULFATNIH JONA

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) barijum-hlorid, rastvor 100 g/l;
- 2) hlorovodonična kiselina, koncentrovana $\rho_{20} = 1,19$ g/ml;
- 3) rastvor za ispiranje taloga barijum-sulfata: u odmernoj tikvici zapremine 1000 ml rastvori se 26 mg barijum-hlorida dihidrata ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), doda se 1 ml koncentrovane hlorovodonične kiseline i dopuni vodom do oznake.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koriste se:

- 1) konusne boce, zapremine 50 ml;
- 2) pipete;
- 3) filtrir-papir koji sagoreva bez pepela;
- 4) peć za spaljivanje, sa termoregulatorom na 800 $\pm$ 25°C;
- 5) posude za spaljivanje;
- 6) eksikator sa sredstvom za sušenje (koje nije sumporna kiselina);
- 7) analitička vaga.

Postupak proveravanja

Posle titracije, u konusnu bocu zapremine 50 ml uspe se sadržaj barbotera (E) i doda voda koja je korišćena za njegovo ispiranje. Ukupna zapremina mora da iznosi 25 ml, zatim se doda 1 ml koncentrovane hlorovodonične kiseline i sadržaj stavi da proključa.

Dodaje se, kap po kap, 2 ml rastvora barijum-hlorida, uz mešanje, ostavi da se ohladi i miruje 12 časova. Formirani talog barijum-sulfata se kvantitativno prenese na filtrir-papir, koji je prethodno navlažen ključalom vodom. Talog se ispere sa 20 ml tople vode, a zatim pet puta sa po 20 ml rastvora za ispiranje taloga barijum-sulfata. Ocedi se i osuši.

U porculanski sud za spaljivanje, prethodno izaren do konstantne mase i izmeren sa tačnošću 1 mg, stavi se filtrir-papir sa talogom i žari u peći za spaljivanje na 800 $\pm$ 25°C u toku 2 časa. Potom se izvadi iz peći, ohladi u eksikatoru i meri, sa tačnošću 1 mg. Na osnovu razlike u masi utvrdi se količina barijum-sulfata.

Gravimetrijsko proveravanje izvrši se paralelno na dva uzorka predviđena za određivanje.

Izračunavanje

Količina sumpor-dioksida izražena u mg/kg proizvoda izračunava se formulom:

$0,2745 \cdot m_1$

————— x 103

m

gde je:

m_1 – masa dobijenog barijum-sulfata, u mg;

m – masa uzorka, u g;

0,2745 – masa sumpor-dioksida koja odgovara 1 mg barijum-sulfata, u mg.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti

analitičar, ne sme da pređe 5% relativne vrednosti od prosečno dobijene vrednosti.

Dobijeni rezultat po ovoj metodi ne sme da pokazuje razliku veću od 5%-ne vrednosti koja je dobijena acidimetrijskom metodom.

Ako razlika između rezultata dobijenih acidimetrijskom i gravimetrijskom metodom iznosi više od 5%, kao rezultat se uzima vrednost dobijena gravimetrijskom metodom.

Prilog B

NEFELOMETRIJSKO PROVERAVANJE ACIDIMETRIJSKI FORMIRANIH SULFATNIH JONA

Reagensi

Pored reagensa navedenih u ovoj metodi, koriste se i sledeći reagensi:

1) sumporna kiselina, standardni rastvor: u odmernu tikvicu zapremine 1000 ml unese se 31,2 ml rastvora sumporne kiseline

1

$c(\text{--- H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$

2

i dopuni vodom do oznake (1 ml ovog rastvora odgovara 0,1 mg SO₂);

2) polivinilpirolidon rastvor 50 g/l, bez sulfatnih jona (relativne molekulske mase prosečno 85000);

3) barijum-hlorid i polivinilpirolidon, mešavina rastvora: pomeša se 80 ml rastvora barijum-hlorida 100 g/l i 20 ml rastvora polivinilpirolidona;

4) hlorovodonična kiselina, rastvor 100 g/l: razblaži se jedna zapremina koncentrovane hlorovodonične kiseline $r_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$ sa 3 zapremine vode;

5) indikator, rastvor: rastvori se 100 mg brom-fenolplavog u 100 ml 20%-nog etanola.

Aparatura i pribor

Koristi se sledeći pribor:

1) odmerni tikvica, zapremine 50 ml;

2) graduirane pipete ili bireta za odmeravanje 2, 4, 8, 12, 16 i 25 ml;

3) spektrofotometar za merenje na talasnoj dužini od 650 nm.

Postupak određivanja

Pripremanje baždarnih kriva

U šest odmernih tikvica zapremine 50 ml unosi se redom 0 — 2 — 4 — 8 — 12 i 16 ml standardnog rastvora sumporne kiseline, 20 ml vode, 0,1 ml indikatora, 1 ml rastvora hlorovodonične kiseline (100 g/l) i 5 ml mešavine rastvora barijum-hlorida i polivinilpirolidona. Dopuni se vodom do oznake i promućka. Dobijeni rastvori odgovaraju srazmeri od: 0 — 0,2 — 0,4 — 0,8 — 1,2 i 1,6 mg sumpordioksida.

Petnaest do dvadeset minuta posle dodavanja mešavine rastvora izmeri se apsorbencija spektrofotometrijski na 650 nm.

Formira se baždarna kriva, nanošenjem izmerene apsorbencije kao funkcije koncentracije sumpordioksida, u mg/l.

Nefelometrijsko proveravanje

a) Za slučajeve kad je zapremina rastvora natrijum-hidroksida 0,01 mol/l, utrošenog za neutralizaciju sumporne kiseline, manja od 5 ml

Posle titracije, u odmernu tikvicu zapremine 50 ml prenese se sadržaj barbotera (E) zajedno sa vodom koja je služila za njegovo ispiranje. Doda se 1 ml rastvora hlorovodonične kiseline (100 g/l) i 5 ml mešavine rastvora, dopuni se do oznake i promućka.

Kad prođe 15 do 20 minuta posle dodavanja mešavine rastvora, izmeri se apsorbencija

spektrofotometrijski, na 650 nm.

b) Za slučajeve kad je zapremina rastvora natrijum-hidroksida 0,01 mol/l, utrošenog za neutralizaciju sumporne kiseline, između 5 i 10 ml.

Posle titracije, u odmernu tikvicu zapremine 50 ml prenese se sadržaj barbotera (E) zajedno sa vodom koja je služila za njegovo ispiranje. Dopuni se vodom do oznake i promućka.

U novu odmernu tikvicu zapremine 50 ml unese se 25 ml ovog rastvora, a zatim doda 1 ml rastvora hlorovodonične kiseline (100 g/l) i 5 ml mešavine rastvora. Dopuni se vodom do oznake i promućka. Kad prođe 15 do 20 minuta posle dodavanja mešavine rastvora, izmeri se apsorbencija spektrofotometrijski, na 650 nm.

Nefelometrijsko proveravanje vrši se paralelno na dva uzorka predviđena za određivanje.

Izračunavanje

Ako je proveravanje izvršeno prema slučaju a), za nefelometrijsko proveravanje propisano ovom metodom količina sumpor-dioksida u mg/kg iznosi:

1000

$C \times \frac{1000}{m}$

m

gde je:

C – koncentracija sumpor-dioksida izražena u mg/l očitana na baždarnoj krivoj i odgovara izmerenoj apsorbenciji;

m – masa uzorka, u g.

Ako je proveravanje izvršeno prema slučaju b), za nefelometrijsko proveravanje propisano ovom metodom, količina sumpor-dioksida u mg/kg proizvoda iznosi:

1000

$C \times \frac{1000}{m} \times 2$

m

gde je:

C – koncentracija sumpor-dioksida u mg/l, očitana na baždarnoj krivoj koja odgovara izmerenoj apsorbenciji;

m – masa uzorka, u g.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti propisane za ovu metodu.

Dobijeni rezultat po ovoj metodi ne sme da pokazuje veću razliku od 5% vrednosti koja je dobijena acidimetrijskom metodom.

U slučaju da razlika između rezultata dobijenih acidimetrijskom i nefelometrijskom metodom iznosi više od 5%, kao rezultat se uzima vrednost dobijena nefelometrijskom metodom.

17. ODREĐIVANJE ISPARLJIVIH KISELINA

Princip i primena

Uzorak se zakiseli vinskom kiselinom, isparljive kiseline se predestilišu vodenom parom, a, destilat titrira rastvorom natrijum-hidroksida u prisustvu fenolftaleina kao indikatora.

Primenjuje se za određivanje isparljive kiselosti kod voća i povrća i proizvoda od voća i povrća.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

1) natrijum-hidroksid rastvor $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$: pripremanje rastvora i provera koncentracije vrše se neposredno pre upotrebe;

- 2) fenolftalein, rastvor 10 g/l u 95%-nom etanolu (V/V);
- 3) vinska kiselina, kristalna;
- 4) krečna voda, razblažena 1:4: razblaži se jedna zapremina zasićenog rastvora kalcijum-hidroksida sa četiri zapremine vode. Mešavina se ostavi da stoji dok se ne formira kalcijum-karbonat, a zatim se odlije bistar rastvor koji pokazuje alkalnu reakciju u prisustvu rastvora fenolftaleina. Ovaj rastvor je namenjen za punjenje generatora vodene pare;
- 5) kalcijum-hidroksid, bistar, zasićen rastvor.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) aparat za destilaciju vodenom parom, uključujući generator vodene pare (koja ne sadrži ugljen-dioksid), od stakla ili metala otpornog na visoke temperature, kapaciteta oko 1500 ml;
- 2) barboter, koji se sastoji od staklene cevi dužine 270 mm i prečnika 30 mm, čiji je donji deo zatvoren i proširen u obliku kugle, prečnika 60 mm, gde se unosi količina uzorka za ispitivanje. Barboter se postavlja na metalni disk sa otvorom, prečnika 40 mm, u koji naleže dno barbotera;
- 3) rektifikaciona kolona, koja se sastoji od staklene cevi prečnika 20 mm i visine 500 mm, u kojoj je sa unutrašnje strane provučena mrežasta spirala od nerđajućeg čelika, sa zavojnicama od 15 mm. (Osim opisanih, mogu se upotrebiti i drugi uređaji koji pokazuju isti efekat);
- 4) vertikalni hladnjak (tipa WEST) dužine 400 mm i prečnika 10 mm, postavljen vertikalno i hlađen sve vreme destilacije.

Napomena:

Osim opisanih aparata mogu se koristiti i drugi aparati, pod uslovom da ispunjavaju sledeće minimalne zahteve:

- da od poznate dodate količine sirćetne kiseline predestilišu, u normalnim uslovima, najmanje 99,5% u hvatanom destilatu od 250 ml. Za tu probu koristi se 20 ml rastvora sirćetne kiseline $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;
 - da u istim uslovima destilacije od poznate dodate količine mlečne kiseline u 250 ml destilata bude nađeno najviše 5% mlečne kiseline. Za ovu probu koristi se 20 ml rastvora mlečne kiseline $c(\text{C}_2\text{H}_5\text{OOCOOH}) = 1 \text{ mol/l}$;
 - da proizvedena vodena para ne sadrži ugljen-dioksid (CO_2), što se proverava dodavanjem dve kapi rastvora fenol-ftaleina i 0,1 ml rastvora natrijum-hidroksida u 250 ml destilata. Ružičasta boja mora biti postojana najmanje 10 sekundi;
- 5) konični sud, zapremine 500 ml;
 - 6) graduisane pipete, zapremine 20 ml;
 - 7) bireta, zapremine 25 ml, sa podeocima od 0,1 ml;
 - 8) analitička vaga.

Pripremanje uzorka za ispitivanje

Tečni proizvodi i proizvodi koji se lako filtriraju (voćni sokovi, voćni sirupi, nalivi iz kompota, slani nalivi i sl.).

Potpuno se izmeša laboratorijski uzorak, a ako sadrži suspendovane deliće, profiltrira se kroz naborani filtrir-papir. Ako uzorak sadrži ugljen-dioksid ili je u fazi fermentacije, ugljen-dioksid se isteruje tako što se otpipetira 50 ml do 60 ml uzorka i unese u bocu zapremine 500 ml, a zatim, pod sniženim pritiskom, mučka 2 do 3 minuta. Da bi se sprečilo stvaranje pene, u odmereni uzorak doda se 0,2 g taninske kiseline.

Pastozni i čvrsti proizvodi (marmelada, žele, koncentrisan sok, suvo i sušeno voće i povrće i sl.). – Izdvoje se semenke i semene lože, pa se uzorak homogenizuje mehaničkom mešalicom.

Smrznuti proizvodi se odmrznu, a tečnost obrazovana odmrzavanjem doda se proizvodu pre homogenizacije.

Količina uzorka za ispitivanje

Tečni proizvodi. – Otpipetira se 20 ml pripremljenog uzorka za ispitivanje i unese u barboter. Ako uzorak sadrži jako isparljive kiseline, uzima se manja količina uzorka i zapremina dopuni, do 20 ml, potrebnom količinom vode.

Pastozni, čvrsti i smrznuti proizvodi. – Odmeri se u čaši oko 10 g pripremljenog uzorka za ispitivanje, sa tačnošću 0,01 g, i kvantitativno prenese u barboter pomoću najmanje količine vode koja omogućava prenošenje i mešanje uzorka, pri čemu uzorak mora ostati tečan.

Destilacija isparljivih kiselina

Generator vodene pare ispuni se krečnom vodom do 2/3 zapremine. Zatim se količini uzorka za ispitivanje u barboteru doda 0,5 g vinske kiseline i barboter poveže sa generatorom vodene pare, rektifikacionom kolonom i hladnjakom. Generator vodene pare i barboter zagrevaju se simultano pomoću plamenika. Ako je početna količina uzorka u barboteru veća od 20 ml zagrevanje barbotera se podesi tako da se zapremina svede na 20 ml, a zatim postepeno zagreva. U toku celog zagrevanja generator za vodenu paru mora proizvoditi makar i malu količinu pare. Destilacija traje 10 do 15 minuta. Nakupljeni destilat u konusnom sudu mora biti jednak dvanaestostruko zapremini količine uzorka za ispitivanje.

Titracija isparljivih kiselina

U destilat se dodaju 2 kapi rastvora fenolftaleina i titrira rastvorom natrijum-hidroksida do pojave svetloružičaste boje.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje i formula

Tečni proizvodi

Isparljive kiseline izražene u miliekvivalentima na 100 ml proizvoda, ili u gramima sirćetne kiseline u 100 g proizvoda, izračunavaju se formulama (1) i (2).

$10 \times V_1$

V_0

(1)

$0,6 \times V_1$

V_0

(2)

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti.

Pastozni, čvrsti i smrznuti proizvodi

Isparljive kiseline izražene u miliekvivalentima na 100 g proizvoda ili u gramima sirćetne kiseline u 100 g proizvoda, izračunavaju se formulama (3) i (4)

$10 \times V_1$

m_0

(3)

$0,6 \times V_1$

m0

(4)

gde je:

V0 – zapremina uzorka, u ml;

V1 – zapremina rastvora natrijum-hidroksida utrošenog za titraciju, u ml;

m0 – masa uzorka, u g.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja koje je, paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 0,2 miliekvivalenta u 100 ml ili u 100 g proizvoda, odnosno ne sme prelaziti 1,2 mg sirćetne kiseline u 100 ml ili u 100 g proizvoda.

18. ODREĐIVANJE UKUPNE KISELOSTI

a) Potenciometrijska metoda

Princip i primena

Metoda se zasniva na potenciometrijskoj titraciji rastvorom natrijum-hidroksida.

Metoda se primenjuje za određivanje ukupne kiselosti kod voća i povrća i proizvoda od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koriste se:

- 1) čaša zapremine 250 ml, sa elektromagnetnom ili mehaničkom mešalicom;
- 2) gradušana pipeta, zapremine 25 ml i 100 ml;
- 3) odmerni tikvica, zapremine od 250 ml;
- 4) homogenizator ili tarionik;
- 5) konična posuda s povratnim hladnjakom;
- 6) analitička vaga;
- 7) potenciometar sa staklenom elektrodom;
- 8) bireta, zapremine 100 ml.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) natrijum-hidroksid, rastvor $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;
- 2) puferni rastvor poznatog pH.

Pripremanje uzorka

Tečni proizvodi i proizvodi koji se lako filtriraju (voćni sokovi, voćni sirupi, slani nalivi, fermentisani proizvodi): laboratorijski uzorak se homogenizuje i profiltrira kroz vatu ili filtrir-papir. Otpipetira se 25 ml filtrata, prenese u odmernu tikvicu zapremine 250 ml, dopuni do oznake vodom i dobro promućka.

Napomena:

Kod gaziranih proizvoda prethodno se mora ukloniti ugljen-dioksid pod sniženim pritiskom, mućkanjem 3 do 4 minuta.

Uzorak se može uzeti i po masi, merenjem oko 25 g uzorka, sa tačnošću od 0,01 g.

Ostali proizvodi: iz uzorka se izdvoje peteljke, koštice i semene lože, a po mogućstvu i semenke. Ako je proizvod smrznut, mora se prethodno odmrznuti, a tečnost obrazovana pri odmrzavanju mora se dodati proizvodu pre homogenizacije.

Sušeni i dehidrisani proizvodi: isecku se nožem na komadiće, zatim se laboratorijski uzorak izmeša u

homogenizatoru ili tarioniku.

Odmeri se oko 25 g laboratorijskog uzorka, sa tačnošću od 0,01 g, i pomoću 50 ml vode kvantitativno prenese u konični sud. Sadržaj se meša dok tečnost postane homogena. Konična posuda se spoji sa povratnim hladnjakom i sadržaj zagreva na vodenom kupatilu oko 30 minuta. Posle hlađenja, sadržaj konične posude se kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 250 ml i dopuni do oznake, sveže prokuvanom i ohlađenom destilovanom vodom, a zatim filtrira.

Postupak određivanja potencijometrijskom titracijom

Potencijometar se baždari pomoću pufernog rastvora.

Količina uzorka za ispitivanje

Zavisno od očekivane kiselosti, otpipetira se 25 ml do 100 ml pripremljenog uzorka i prenese u čašu sa mešalicom.

Postupak titracije

Mešalica se pusti u rad, a zatim iz birete brzo dodaje rastvor natrijum-hidroksida dok se ne postigne pH oko 7. Tada se dodavanje uspori do pH 8,1 0,2.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Uzorak uzet po zapremini

Ukupna kiselost, izražena u milimolovima monobazične kiseline u 100 ml proizvoda, uzimajući u obzir i razblaženje, izračunava se formulom:

$$250 \frac{100}{V_0} \frac{1000}{V_1} \frac{1}{c} = \text{---}$$

$$\text{---} \times V_1 \times c \times \text{---} = \text{---}$$

$$25 \frac{V_0}{V_0}$$

Uzorak uzet po masi

Ukupna kiselost, izražena u milimolovima monobazične kiseline u 100 g proizvoda, uzimajući u obzir izvršena razblaženja, izračunava se formulom:

$$250 \frac{100}{m} \frac{1000}{V_1} \frac{1}{c} = \text{---}$$

$$\text{---} \times V_1 \times c \times \text{---}$$

$$m \frac{V_0}{V_0}$$

gde je:

V₀ – zapremina uzorka, u ml;

V₁ – zapremina rastvora natrijum-hidroksida utrošenog za određivanje, u ml;

c – tačna koncentracija u mol/l rastvora natrijum-hidroksida;

m – masa uzorka, u g.

Drugi način izražavanja ukupne kiselosti

Ukupna kiselost se može izraziti, kao što je uobičajeno, brojem grama kiseline u 100 g ili 100 ml proizvoda množenjem dobijene vrednosti odgovarajućim faktorom neke od kiselina koje su navedene u tabeli 4.

Tabela 4

Kiselina Faktor

– jabučna kiselina 0,067

– oksalna " 0,045

– limunska " (monohidrat) 0,070

– vinska " 0,075

- sirćetna " 0,060
- mlečna " 0,090

Odgovarajuće kiseline su:

- a) jabučna kiselina – kod proizvoda od jabučastog i koštičavog voća;
- b) limunska kiselina – kod proizvoda jagodastog i citrus-voća;
- v) vinska kiselina – kod proizvoda od grožđa;
- g) oksalna kiselina – kod proizvoda od spanaća i kiseljaka;
- d) mlečna kiselina – kod biološki konzerviranih proizvoda;
- đ) sirćetna kiselina – kod mariniranih proizvoda.

Izražavanje rezultata

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Rezultat se prikazuje jednim decimalom.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, koja je paralelno ili ubrzo jedno za drugim izvršio isti analitičar, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 2% relativne vrednosti od prosečno utvrđene vrednosti.

b) Metoda zasnovana na promeni boje indikatora

Princip i primena

Metoda se zasniva na titraciji rastvorom natrijum-hidroksida u prisustvu indikatora fenolftaleina.

Primenjuje se za određivanje ukupne kiselosti kod voća i povrća i proizvoda od voća i povrća.

Aparatura i pribor

Koristi se sledeći pribor:

- 1) homogenizator ili tarionik;
- 2) graduisane pipete, zapremine 25 ml i 100 ml;
- 3) konična posuda sa povratnim hladnjakom;
- 4) odmerna tikvica zapremine 250 ml;
- 5) bireta, zapremine 100 ml;
- 6) analitička vaga;
- 7) čaša odgovarajuće zapremine.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) natrijum-hidroksid, rastvor c (NaOH) = 0,1 mol/l;
- 2) fenolftalein, rastvor 10 g/l u 95%-nom etanolu (V/V).

Pripremanje uzorka

Tečni proizvodi i proizvodi koji se lako filtriraju (voćni sokovi, voćni sirupi, slani nalivi, fermentisani proizvodi).

Laboratorijski uzorak se dobro izmeša i profiltrira kroz vatu ili filtrir-papir. Otpipetira se 25 ml filtrata, prenese u odmernu tikvicu zapremine 250 ml, dopuni do oznake i dobro promućka.

Napomena:

Kod gaziranih proizvoda prethodno se mora odstraniti CO₂ mućkanjem pod sniženim pritiskom, u trajanju 2 do 3 minuta.

Uzorak se može uzeti i po masi, merenjem oko 25 g pripremljenog uzorka, sa tačnošću od 0,01 g.

Ostali proizvodi

Iz laboratorijskog uzorka se izdvoje peteljke, koštice, semene lože, a po mogućstvu i semenke. Ako je proizvod smrznut, mora se prethodno odmrznuti, a tečnost obrazovana pri odmrzavanju mora se dodati proizvodu pre homogenizacije.

Sušeni i dehidrisani proizvodi iseku se na komadiće. Zatim se laboratorijski uzorak izmeša u homogenizatoru ili tarioniku.

Odmeri se 25 g laboratorijskog uzorka, sa tačnošću od 0,01 g, i pomoću 50 ml vode kvantitativno prenese u koničnu posudu. Sadržaj se meša dok tečnost ne bude homogena. Zatim se konična posuda spoji s povratnim hladnjakom i sadržaj zagreva na vodenom kupatilu oko 30 minuta. Posle hlađenja, sadržaj konične posude se kvantitativno prenese u odmernu tikvicu zapremine 250 ml i dopuni do oznake sveže prokuvanom i ohlađenom destilovanom vodom, a zatim filtrira.

Količina uzorka za ispitivanje

Otpipetira se, zavisno od očekivane kiselosti, od 25 ml do 50 ml ili 100 ml uzorka za ispitivanje i prenese u čašu odgovarajuće zapremine.

Postupak određivanja ukupne kiselosti

Odmerenu količinu uzorka za ispitivanje doda se od 0,25 ml do 0,5 ml rastvora fenolftaleina i, uz mućkanje, titrira rastvorom natrijum-hidroksida do pojave svetloružičaste boje, u trajanju od najmanje 30 sekundi.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Uzorak uzet po zapremini: ukupna kiselost izražena u milimolovima monobazične kiseline na 100 ml proizvoda, uzimajući u obzir izvršeno razblaženje, izračunava se formulom:

$$250 \frac{100}{1000} \times V_1 \times c$$

$$\frac{250}{1000} \times V_1 \times c \times \frac{100}{V_0} = \text{---}$$

$$25 \frac{V_0}{V_0}$$

Uzorak uzet po masi: ukupna kiselost izražena u milimolovima monobazične kiseline u 100 g proizvoda, uzimajući u obzir izvršeno razblaženje, izračunava se formulom:

$$250 \frac{100}{m}$$

$$\frac{250}{m} \times V_1 \times c \times \frac{100}{V_0} = \text{---}$$

$$m \frac{V_0}{V_0}$$

gde je:

V₀ – zapremina uzorka, u ml;

V₁ – zapremina rastvora natrijum-hidroksida utrošenog za određivanje, u ml;

c – tačna koncentracija rastvora natrijum-hidroksida u mol/l;

m – odmerena masa proizvoda, u g.

Drugi načini izražavanja ukupne kiselosti

Ukupna kiselost se može izraziti, kao što je uobičajeno, brojem grama kiseline u 100 g ili 100 ml proizvoda množenjem dobijene vrednosti odgovarajućim faktorom neke od kiselina koje su navedene u tabeli 5.

Tabela 5

Kiselina Faktor

– jabučna kiselina 0,067

– oksalna " 0,045

– limunska " (monohidrat) 0,070

- vinska " 0,075
 - sirćetna " 0,060
 - mlečna " 0,090
-

Odgovarajuće kiseline su:

- a) jabučna kiselina – kod proizvoda od jabučastog i koštičavog voća;
- b) limunska kiselina – kod proizvoda od jagodastog i citrus-voća;
- v) vinska kiselina – kod proizvoda od grožđa;
- g) oksalna kiselina – kod proizvoda od spanaća i kiseljaka;
- d) mlečna kiselina – kod biološki konzerviranih proizvoda;
- đ) sirćetna kiselina – kod mariniranih proizvoda.

Izražavanje rezultata

Kao rezultat se uzima srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Rezultat se prikazuje jednim decimalom.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, izvršena paralelno ili ubrzo jedno za drugim, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 2% relativne vrednosti od prosečno utvrđene vrednosti.

19. ODREĐIVANJE SINTETSKIH BOJA

Hromatografska metoda

Princip i primena

Metoda se zasniva na nastajanju soli reakcijom između anjona sintetskih boja i kvarternog amonijumovog katjona kod optimalnog pH, ekstrakciji obojene soli u hloroform, zatim prečišćavanju ekstrakta sa Al_2O_3 i hromatografskoj identifikaciji boje.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koriste se:

- 1) centrifuga sa kivetama 3,5 x 12 cm, zapremine 60 ml ili 100 ml;
- 2) hromatografske kolone 1,2 x 10 cm;
- 3) pribor za hromatografiju na papiru;
- 4) filtrir-papir za hromatografiju.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) hloroform;
- 2) Na_2CO_3 , 10%-ni rastvor;
- 3) benzalkonijumov hlorid, 10%-ni rastvor;
- 4) binzalkonijumov hlorid, 1%-ni rastvor;
- 5) H_2SO_4 razređena;
- 6) formaldehid, 35%-ni rastvor;
- 7) 2 g natrijum-tetrafenilborata u 100 ml etanola + 2 ml vode + 0,2 ml glicerola;
- 8) NaH_2PO_4 , 25%-ni rastvor;
- 9) amonijak, 0,25%-ni rastvor;
- 10) etanol, 65-75%;
- 11) metanol;
- 12) anjonotropni (kiseli) Al_2O_3 , za hromatografiju na koloni;

13) staklena vuna;

14) vata.

Pripremanje uzorka

a) Voćni sokovi i tečni nalivi kod proizvoda od voća i povrća koji sadrže manje od 30% suve materije analiziraju se bez prethodne pripreme.

b) Sirupi i marmelade razrede se vodom, tako da homogenizovani uzorak sadrži manje od 30% suve materije i procedi se kroz staklenu vunu. Koncentrisani voćni sok i sok u prahu razređuju se vodom u odnosu 1 : 5.

v) Džem se homogenizuje, dodavanjem vrele vode 1 : 5, hladi do 40°C i filtrira kroz staklenu vunu.

g) Kašasti proizvodi se razrede istom količinom vode i dobro izmešaju. Filtracija nije potrebna.

d) Suvo, kandirano i suvo voće u prahu i čvrsti deo konzervisanog voća i povrća: 10 g prelije se sa 50 ml vrele vode, zatim se podesi pH na 7 pomoću 10%-nog rastvora Na_2CO_3 . Sačeka se da se boja rastvori, a zatim se filtrira kroz staklenu vunu.

Postupak određivanja

Ekstrakcija boje

Postupak A

Primenjuje se za uzorke pod a)

Izmeša se 10 ml pripremljenog rastvora uzorka sa 2 ml hloroforma i ostavi da se hloroform najvećim delom izdvoji, a pomoću 10%-nog Na_2CO_3 podesi se pH na 7 do 8, osim za uzorke sa antocijanima, kojima se pH podesi na 6 do 7. Hloroformni sloj se odbaci i ostatku se doda 10 ml hloroforma i 5 kapi 1%-nog benzalkonijumovog hlorida (4). Ta se smeša dobro promućka i ostavi da se slojevi odvoje (ili se centrifugira). Ako je dodato dovoljno reagensa (4), hloroform je obojen, a vodeni rastvor pri vrhu je skoro bezbojan. Ako je hloroform bezbojan ili je vodeni rastvor još obojen, dodaje se još 5 kapi 1%-nog rastvora benzalkonijumovog hlorida (4) i blago promeša.

Ako se zamućenost poveća, znači da nije bilo dovoljno reagensa (4). Snažno se promućka, ostavi se da se slojevi odvoje i ponovo se doda nekoliko kapi reagensa (4). Ako se zamućenost vodenog sloja ne povećava, znači da je dodato dovoljno reagensa (4). Ostavi se oko 10 minuta da se slojevi izdvoje, ili se vrši centrifugiranje. Bezbojni sloj vode se odstranjuje, a sloj hloroforma se ispere sa 5 ml vode, koja se zatim odbaci.

Postupak B

Koristi se za uzorke pod (b, v, g, d)

U kivetu za centrifugiranje otpipetira se 10 ml pripremljenog uzorka, doda 2 ml do 5 ml formalina i 20 ml hloroforma. Kiveta se zatvori, dobro promućka i centrifugira oko 2 minuta pri najmanje 3000 obrtaja u minuti. Sloj hloroforma i eventualno bezbojni rastvor se odstrane, svaki posebno. pH ostatka se podesi na 8 ili 9 (pomoću 10%-nog Na_2CO_3), a ako su prisutni antocijani (promena boje od crvene u plavu), onda na 6 do 7.

Ovom rastvoru se doda 0,1 ml do 2 ml 10%-nog rastvora benzalkonijumovog hlorida (3) i 2 ml do 10 ml hloroforma (što je više taloga, dodaje se više hloroforma), zatim se zatvori, snažno promućka i ponovo centrifugira dok se ne dobiju tri sloja:

- gornji – bezbojni vodeni sloj;
- srednji – ponekad obojen sloj;
- donji – obojen hloroformski sloj.

Ako nije dodato dovoljno reagensa (3) ili ako su zastupljene neke u vodi rastvorljive prirodne boje, gornji – vodeni sloj je još obojen, pa se dodaju još 3 kapi reagensa (3), a vodeni sloj se polako izmeša i prati zamućenje. Ako se vodeni sloj dalje zamućuje, proba se snažno promućka i centrifugira.

Dodavanje reagensa (3) se ponavlja, dok vodeni sloj prestane da se muti. Vodeni sloj se ne zamućuje ako je reagens (3) dodat u dovoljnoj količini. Hloroformski sloj se odstranjuje pomoću pipete. Ostatak u kiveti se ponovo ekstrahuje sa 2 ml do 10 ml hloroforma i centrifugira. Sakupljeni hloroformski ekstrakt se ispere sa 10 ml vode i voda se odbaci. Obojeni hloroformski sloj služi za dalje određivanje boja.

Postupak hromatografije

Hromatografski papir se neposredno pre upotrebe impregniše rastvorom natrijum-tetrafenilborata (7) nanošenjem pomoću pipete ili natapanjem i ostavi da etanol izvetri. Na isto mesto (bez sušenja) nanosi se mikropipetom toliko hloroformskog ekstrakta uzorka da se dobije jako obojena mrlja. Na sredinu obojene mrlje stavi se mikropipetom 10 μ l hloroforma.

Pri tom, obojena mrlja:

- a) može potpuno i ravnomerno da se razliva sa rastvaračem, što je znak da ekstrakt nije čist;
- b) može da se razliva delimično sa rastvaračem i zaustavlja, što je znak da je prekoračen kapacitet impregnacije;
- v) ne pomera se, što je znak da je ekstrakt dovoljno čist.

Ako se obojena mrlja ponaša kao pod a) i b) prethodnog stava, ekstrakt mora da se čisti sa Al_2O_3 . U slučaju kao pod v) prethodnog stava ekstrakt se odmah nanosi na hromatogram, čija je startna linija impregnisana natrijum-tetrafenilboratom u širini 0,5 cm do 1 cm. Impregnacija se vrši pipetom zapremine 1 ml.

Pripremanje kolone za čišćenje ekstrakta

Hromatografska kolona 1,2 cm zapuši se na dnu staklenom vunom ili vatom. U nju se sipa suspenzija hloroforma, kome se doda 1 kap ledene sirćetne kiseline i Al_2O_3 toliko da posle prolaza hloroforma u koloni ostaje stub od Al_2O_3 visok oko 3 cm.

Čišćenje ekstrakta

Obojeni hloroformski ekstrakt propusti se kroz kolonu. Posle prolaska ekstrakta kroz kolonu, propusti se 10 ml hloroforma, zatim 10 ml metanola i, najзад, 10 ml vode.

Hloroformski i metanolni eluat se odvajaju i u njima se određuje prisustvo boja rastvorljivih u masti i bazičnih boja. Veštačke boje se eluiraju sa 0,25%-nim rastvorom amonijaka, u količini koja je potrebna da se boje eluiraju sa kolone (oko 10 ml), a hvata se samo obojeni eluat da bi boja bila što više koncentrisana. Obojeni amonijačni eluat (ako je dovoljno koncentrisan) može se direktno uzeti u postupak hromatografije. Ako je suviše razređen, brzo se doda 0,5 ml rastvora NaH_2PO_4 , zatim 0,2 ml do 1 ml hloroforma i 3 do 5 kapi 1%-nog rastvora benzalkonijumovog hlorida, da bi se boja ekstrahovala u hloroform. Hloroformski ekstrakt se nanosi na hromatogram.

Pripremanje za hromatografiju

1. Impregnacija papira za hromatografiju pre nanošenja obojenog hloroformskog ekstrakta ili eluata: papir za hromatografiju se impregniše rastvorom natrijum-tetrafenilborata koji se nanese pomoću pipete zapremine 1 ml tako da je startna linija impregnisana u širini od 0,5 cm do 1 cm.

2. Nanošenje:

– uzorci i rastvori standardnih boja nanose se mikropipetom na startnu liniju – crtu, u rastojanju od 0,5 cm do 1 cm.

3. Na hromatogramu koji se razvija sa citratnom fazom (faza III) posle nanošenja uzorka i rastvora standardnih boja, na sredinu svake mrlje uzorka nanese se mikropipetom 10 μ l hloroforma. Kad se hloroform osuši, startna linija se, pomoću pipete, ispere blagim mlazom hloroforma.

Hromatografija

Za određivanje sintetskih boja pripreme se tri hromatograma, uz primenu sledećih mobilnih faza:

I Nitrometan: acetonitril: mravlja kiselina: voda (10:80:1:30).

II Trietilamin: acetonitril: voda (5:1:2).

III Na₃ -citrat: etanolamin: voda (2:5:95).

Smatra se da uzorak sadrži određenu sintetsku boju ako je ona na svakom od tri hromatograma dostigla istu visinu kao standardna boja.

Izražavanje rezultata

Rezultat se izražava navođenjem kolor-indeksa (C.I) boje koja je identifikovana na hromatogramu.

Napomena:

Postupak A primenjuje se ako se hloroform kod prve ekstrakcije spontano odvoji u toku 5 minuta. U drugim slučajevima primenjuje se postupak B.

Kod postupka A uglavnom je dovoljno prvih 5 kapi reagensa, (3) ili (4), a u većini ostalih slučajeva – prvih 10 kapi.

Ako se posle dodatka reagensa stvara mnogo taloga, nerastvorljivog u hloroformu, treba upotrebiti postupak B i čišćenje ekstrakta na Al₂O₃, što u drugim slučajevima nije potrebno.

20. ODREĐIVANJE PRIRODNIH BOJA

Princip

Metoda se zasniva na različitom afinitetu prirodnih i sintetskih boja prema kvarternim amonijumovim jonima i Al₂O₃.

Aparatura i pribor

Kao pribor koristi se:

1) centrifuga sa kivetama, hromatografske kolone 2,2 x 10 cm.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

1) petroletar (40 – 70°C);

2) hloroform;

3) hloroform – 96%-ni etanol (2+1);

4) hloroform – mravlja kiselina, 98 do 100%-na (20+1);

5) n-butanol;

6) etanol 70%-ni;

7) etanol 50%-ni;

8) 2%-ni amonijak u 90%-nom etanolu;

9) 2%-ni amonijak u 50%-nom etanolu;

10) etanol – koncentrovana HCl (1+1);

11) metanol;

12) 35-40%-ni formaldehid;

13) sirćetna kiselina;

14) 10%-ni i 1%-ni benzalkonijum-hlorid;

15) 10%-ni Na₂CO₃;

16) 25%-ni NaH₂PO₄;

17) 0,25%-ni amonijak;

18) H₂SO₄(1+3);

19) HCl koncentrovana;

20) 30%-ni H₂O₂;

21) Al₂O₃ anjonotropni ili po Brockmanu za hromatografiju na koloni.

Pripremanje uzorka

Uzorak se priprema na isti način kao i uzorak za određivanje sintetskih boja.

Postupak

U kivetu za centrifugiranje otpipetira se 10 ml pripremljenog uzorka i podesi pH na 5 do 7 pomoću razređene sumporne kiseline. Doda se 2 ml do 5 ml formalina i 20 ml hloroforma, kiveta se zatvori gumenim zapušačem, dobro promućka i centrifugira, najmanje 2 minuta na 3000 obrtaja u minuti. Ako se hloroformski sloj ne odvoji u roku od 5 minuta, povećava se broj obrtaja. Zatim se bezbojni sloj hloroforma i nerastvoreni ostatak odbace. Obojenom ostatku i obojenom vodenom rastvoru pH se podesi na 7 do 8 sa Na_2CO_3 (10%-ni), osim kod uzoraka sa antocijanima, kod kojih se pH podesi na 6 do 7. Zatim se doda 0,1 ml do 2 ml 10%-nog benzalkonijum-hlorida i 2 ml do 10 ml hloroforma, zavisno od količine obojenog nerastvorenog ostatka. Kiveta se zatvori, dobro promućka i centrifugira kao što je već propisano. Doda se još nekoliko kapi benzalkonijumovog hlorida i malo promućka. Ako se gornji vodeni sloj zamuti, doda se više benzalkonijumovog hlorida, promućka i centrifugira dok se ne dobiju tri sloja, koji se odmah odvoje. Zatim se pripremi kolona za čišćenje ekstrakta.

Pripremanje kolone za čišćenje ekstrakta

Hromatografske kolone 1,2 cm zapuše se na dnu staklenom vunom ili vatom. U kolonu za analizu gornjeg vodenog sloja sipa se suspenzija Al_2O_3 za hromatografiju na koloni u vodi kojoj se doda 1 kap ledene sirćetne kiseline; za analizu donjeg hloroformskog sloja sipa se suspenzija hloroforma kome se doda 1 kap ledene sirćetne kiseline i Al_2O_3 za hromatografiju na koloni, tako da u oba slučaja posle prolaza tečnosti u koloni ostaje stub Al_2O_3 visok oko 3 cm.

Gornji vodeni sloj se odmah zakiseli sirćetnom kiselinom ili koncentrovanim HCl na pH 3 do 4 i mućka se da izađe celokupan CO_2 , a zatim se rastvor prebaci na hromatografsku kolonu od zakiseljenog Al_2O_3 . Kad rastvor prođe kroz kolonu, kolona se ispere sa 10 ml vode.

Betanin i antocijani ostaju na koloni Al_2O_3 , a riboflavin pređe u eluat. Betanin se eluira vodenim rastvorom NH_3 (0,25%-nim). Ljubičasti eluat nije postojan i brzo postaje smeđ. Zato se brzo zakiseli i koncentriše na hladno u vakuumu.

Antocijani ostaju na Al_2O_3 koloni kao tanak sloj zelene boje na samom početku kolone. Oni se obezbojavaju sa H_2O_2 ili se eluiraju sa 96%-nim etanol-HCl (1+1).

Donji hloroformski sloj se promućka istom količinom vode i pusti da se slojevi odvoje. Donji hloroformski sloj se propusti kroz hromatografsku kolonu, u kojoj je stub Al_2O_3 visok 3 cm i pusti. Kolona se opere sa 10 ml hloroforma, zatim sa 10 ml metanola i, konačno, sa 5 ml vode. Boje na koloni se eluiraju sa 0,25%-nim rastvorom NH_3 , u predlošku u kome se nalazi 0,5 ml NaH_2PO_4 . Eluatu se dodaje 2 ml hloroforma i nekoliko kapi (3-5) 1%-nog benzalkonijumovog hlorida, dobro promućka i ostavi da se slojevi odvoje. Iz ovog ekstrakta mogu se, pomoću hromatografije, na papiru odrediti i sintetske boje, ako su zastupljene. Ako se ovaj ekstrakt nanosi na tanak sloj silikagela i hromatogram razvije pomoću hloroform-mravljje kiseline (20+1), krocetin, norbiksin, eluirani deo hlorofilina i eritrozina odvajaju se jedan od drugog, kao i od ostalih sintetskih boja, pa se tako određuju.

Na gornji deo stuba Al_2O_3 u hromatografskoj koloni, doda se 1 ml H_2O_2 . Antocijani, koji su ponekad zastupljeni, odmah se obezboje. Kramin (košenila) i hlorofilin ne obezboje se. Oksidacija se zaustavlja tako što se kroz kolonu propusti 5 ml vode i posle toga 5 ml 50% etanola. Dobijeni eluat se odbacuje. Antocijani koji nisu razoreni sa H_2O_2 , karmin i deo hlorofilina, ako je zastupljen, eluira se sa 96%-nim etanol – HCl (1+1). Eluat se koncentriše u vakuumu i određuje hromatografski.

Nerastvorljivi deo (srednji sloj) dobro se opere vodom, disperguje sa HCl i macerira sa n-butanolom, pri čemu se boje rastvore. Butanol se odvoji pipetom ili pomoću centrifuge, doda se pet puta veća

zapremina petroletra i promućka. Donji sloj upotrebljava se za određivanje antocijana i karmina. Karamel se ne rastvara u n-butanolu.

Hromatografija

Hromatografija na papiru vrši se sa istim mobilnim fazama kao za sintetske boje.

Izražavanje rezultata

Rezultat se daje sa navođenjem kolor-indeksa (C.I.) boje, identifikovane na hromatogramu.

21. ODREĐIVANJE MRAVLJE KISELINE

Princip i primena

Metoda se zasniva na svojstvu mravlje kiseline da redukuje merkuri-hlorid u nerastvorljiv merkuro-hlorid. Količina izdvojenog merkuro-hlorida određuje se gravimetrijski i iz nje izračunava ekvivalentna količina mravlje kiseline.

Metoda se primenjuje pri određivanju mravlje kiseline u proizvodima i poluproizvodima od voća.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme, koristi se:

- 1) aparatura za destilaciju vodenom parom (slika 5);
- 2) analitička vaga;
- 3) lončić za filtriranje tipa G-4;
- 4) sušnica, temperature 100 2oC;
- 5) eksikator.

Reagensi

Koriste se sledeći reagensi:

- 1) barijum-karbonat ili kalcijum-karbonat;
- 2) rastvor merkuri-hlorida sa natrijum-hloridom: 100 g merkuri-hlorida (HgCl_2) i 30 g natrijum-hlorida (NaCl) rastvori se u 1 litru vode;
- 3) natrijum-acetat, 50%-ni rastvor;
- 4) vinska kiselina, kristalna;
- 5) hlorovodonična kiselina, 10%-ni rastvor;
- 6) etanol, 96%-ni;
- 7) etil-etar.

Pripremanje uzorka

Uzorak za ispitivanje se dobro homogenizuje.

a) Dokazivanje mravlje kiseline

Zavisno od konzistencije proizvoda, odmeri se 25 ml do 50 ml ili 25 g do 50 g uzorka homogenizovanog za ispitivanje, sa tačnošću od 0,1 g. (Količina mravlje kiseline u uzorku ne sme prelaziti 0,15 g).

Odmerena količina uzorka se kvantitativno prenese u balon za destilaciju A, zapremine 500 ml, zatim se doda 0,5 g do 1,0 g vinske kiseline i toliko destilovane vode da zapremina rastvora u balonu iznosi oko 100 ml.

U balon B, zapremine 500 ml, odmeri se 2 g barijum-karbonata ili kalcijum-karbonata i doda 100 ml vode. Sastavi se aparatura i vrši destilacija vodenom parom, uz istovremeno zagrevanje oba balona i generatora vodene pare, pazeći da se nivo tečnosti u balonima ne promeni (regulacija se vrši preko plamenika).

Da bi se predestilisala celokupna količina mravlje kiseline, potrebno je oko 1000 ml do 1500 ml destilata. Po završetku destilacije, vruć karbonatni rastvor se filtrira preko filtrir-papira prečnika 9

cm. Formijat koji je pri tom nastao prelazi u rastvor.

Talog na filtrir-papiru se ispere vrelom vodom u takvoj količini da zapremina filtrata u konusnoj boci (erlenmajer) iznosi oko 250 ml. Odmah zatim sadržaj u konusnoj boci se uparava do zapremine oko 100 ml, pri čemu se očekuje količina od oko 100 mg mravlje kiseline. U slučaju da je zastupljena veća količina mravlje kiseline od 100 mg, rastvor se upari do zapremine 150 ml do 200 ml.

Posle uparavanja, doda se 10 ml 50%-nog rastvora natrijum-acetata, 2 ml 10%-nog rastvora hlorovodonične kiseline i 25 ml rastvora merkuri-hlorida sa natrijum-hloridom. Posle toga, rastvor se promeša i zagreva na toplom vodenom kupatilu, uz korišćenje povratnog hladnjaka, u toku 2 časa. Stvaranje taloga svedoči o prisustvu mravlje kiseline (opalescencija ili замуćenje ne uzima se u obzir).

b) Određivanje mravlje kiseline

Destilacija, filtriranje, uparavanje i zagrevanje vrše se po postupku koji je propisan za kvalitativno dokazivanje u ovoj metodi.

U toku zagrevanja, uz korišćenje povratnog hladnjaka, nastaje redukcija merkuri-hlorida u merkuro-hlorid, koji se zatim filtrira uz pomoć vakuum-pumpe u tigli G-4, koji je prethodno osušen do konstantne mase i meren sa tačnošću 0,0002 g. Talog se ispere najpre hladnom vodom, zatim etanolom i etil-etrom i suši 1 čas u sušnici na 100oC 2oC. Tigl sa osušenim talogom se suši u eksikatoru i meri sa tačnošću 0,0002 g.

– 1 g merkuro-hlorida (Hg_2Cl_2) odgovara 0,0975 g mravlje kiseline.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Izračunavanje

Količina mravlje kiseline, u procentima, izračunava se po formuli:

$(b - a) \cdot 0,0975$

procent mravlje kiseline = $\frac{\text{---}}{\text{---}} \cdot 100$

c

gde je:

a – masa tigla, u g;

b – masa tigla sa osušenim talogom, u g;

c – izmerena masa uzorka, u g, ili u ml.

Zapremina uzorka u ml mora se preračunati u masu izraženu u g, množenjem broja ml sa gustinom te vrste proizvoda.

Kao rezultat uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni uslovi u pogledu ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja, izvršena paralelno ili ubrzo jedno za drugim, shodno članu 7 stav 2 ovog pravilnika, ne sme prelaziti 0,01% relativne vrednosti od dobijene srednje vrednosti.

22. ODREĐIVANJE MATERIJA NERASTVORLJIVIH U ETANOLU

Princip i primena

Metoda se zasniva na merenju ostatka posle ekstrakcije rastvorljivih materija sa 80%-nim etanolom. Metoda se primenjuje za određivanje materija nerastvorljivih u etanolu kod konzervisanog graška.

Aparatura i pribor

Pored uobičajene laboratorijske opreme koristi se:

1) mikser;

2) sušnica temperature 100oC do 120oC;

- 3) Bchnerov levak za filtriranje;
- 4) prethodno izmeren i osušen filtrir-papir (filtrir-papir dijametra 18,5 cm), sa dozvoljenim odstupanjem 0,1 mg;
- 5) eksikator sa sredstvom za sušenje.

Reagensi

Kao reagens koristi se:

- 1) etanol, 80%-ni rastvor (V/V).

Pripremanje uzorka

Izmeri se 100 g uzorka graška, ispere sa 200 ml vode i ostavi da se cedi 2 minuta na situ. Ocedeni grašak se isitni i dobro izmeša u homogenu masu.

Određivanje

Izmeri se 20 g uzorka pripremljenog za ispitivanje u čistom i suvom erlenmajeru od 1 l i tome doda 300 ml 80%-nog etanola. Sadržaj se izmeša, a erlenmajer spoji sa povratnim hladnjakom i zagreva na plameniku da sadržaj proključa. Ključanje traje 30 minuta. Zatim se ključali rastvor filtrira kroz Bchnerov levak, preko filtrir-papira koji je prethodno 2 časa sušen na 100oC i odvagan. Ivice filtrir-papira moraju prekrivati strane levka više od 1 cm. Ispiranje se vrši 80%-nim etanolom sve dok filtrat postane bistar i bezbojan.

Filtrir-papir, sa ispranim ostatkom, prenese se u osušen, ohlađen i izmeren sud za sušenje, a zatim 2 časa suši u sušnici na temperaturi 100oC. Sud sa ostatkom se zatim ohladi u eksikatoru i izmeri.

Na istom uzorku za ispitivanje izvrše se najmanje dva određivanja.

Kao rezultat, uzima se srednja vrednost dva određivanja ako su ispunjeni zahtevi u pogledu ponovljivosti.

Izračunavanje

Procent materija nerastvorljivih u etanolu = $(m_1 - m_2) \cdot 5$

gde je:

m_1 – masa suda za sušenje sa filtrir-papirom i nerastvorljivim ostatkom, u g

m_2 – masa suda za sušenje i osušenog filtrir-papira, u g.