

1078

На основу члана 17. став 3. и члана 72. Закона о храни ("Службени гласник БиХ", број 50/04) и члана 17. Закона о Савјету министара Босне и Херцеговине ("Службени гласник БиХ", бр. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 и 24/08), Савјет министара Босне и Херцеговине, на приједлог Агенције за безбједност хране Босне и Херцеговине у сарадњи са надлежним органима ентитета и Брчко Дистрикта Босне и Херцеговине, на 62. сједници одржаној 3. септембра 2013. године, донио је

**ПРАВИЛНИК
О МЕТОДАМА АНАЛИЗА ТЕРМИЧКИ ОБРАЂЕНОГ
МЛИЈЕКА ЗА ИСХРАНУ ЉУДИ**

ДИО ПРВИ - ОПШТЕ ОДРЕДБЕ

Члан 1.

(Предмет прописа)

- (1) Овим правилником прописују се референтне методе узимања узорака и референтне методе анализа термички обрађеног млијека намијењеног за исхрану људи ради контроле квалитета.
- (2) Референтне методе анализа термички обрађеног млијека су следеће:
 - а) одређивање удјела укупне суве материје;
 - б) одређивање удјела масти;
 - ц) одређивање удјела безмасне суве материје;
 - д) одређивање удјела укупног азота;
 - е) одређивање удјела протеина;
 - ф) одређивање специфичне масе.

Члан 2.

(Извођење референтних метода)

Извођење референтних метода анализа, одређивања критеријума поузданости и узорковања обавља се у складу с одредбама прописаним у Анексу I који је саставни дио овог правилника.

Члан 3.

(Методе испитивања)

Методе из члана 1. овог правилника прописане су у Анексу II који је саставни дио овог правилника.

ДИО ДРУГИ - ПРЕЛАЗНЕ И ЗАВРШНЕ ОДРЕДБЕ

Члан 4.

(Службена контрола и инспекцијски надзор)

Службена контрола и инспекцијски надзор спроводе се у складу са важећим прописима.

Члан 5.

(Престанак важења одредаба)

Даном ступања на снагу овог правилника престају да важе одредбе Правилника о методама узимања узорака те методама хемијских и физикалних анализа млијека и млијечних производа ("Службени лист СФРЈ", број 32/83 и

"Службени лист РБиХ", број 2/92), које се односе на методе узорковања и физикално-хемијске анализе млијека, и одредбе Упутства о начину узимања узорака за вршење анализа и суперанализа намирница и предмета опште употребе ("Службени лист СФРЈ", број 60/78 и "Службени лист РБиХ", број 2/92), које се односе на термички обрађено млијеко.

Члан 6.

(Примјена Правилника)

Млијеко узорковано и анализирано у складу с одредбама прописа наведених у члану 4. овог правилника може се стављати на тржиште 12 мјесеци од дана ступања на снагу овог правилника.

Члан 7.

(Ступање на снагу)

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

СМ број 216/13

3. септембра 2013. године

Сарајево

Председавајући

Савјета министара БиХ

Вјекослав Беванда, с. р.

АНЕКС I

ДИО I ОПШТЕ ОДРЕДБЕ

1. УВОД

Прописане су опште одредбе везане за реагенсе, опрему, изражавање резултата, прецизности и аналитичке извјештаје. Лабораторије задужене за узорковање и испитивање млијека морају задовољавати одредбе овог правилника.

2. РЕАГЕНСИ

2.1. Вода

2.1.1. Вода која се користи за поступке растварања, разрјеђивања или испирања мора бити дестилована, дејонизована или деминерализована вода најмање једнаке чистоће осим ако није другачије наведено.

2.1.2. Појам "растварање" или "разрјеђивање" без додатних навода подразумијева "растварање у води" или "разрјеђивање водом".

2.2. Хемијске супстанце

3. ОПРЕМА

3.1. Списак опреме

Списак опреме за различите референтне методе садрже само прибор за специјализовану употребу и прибор који захтијева посебну спецификацију.

3.2. Аналитичка вага

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

4. ИЗРАЖАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

4.1. Резултати

Осим ако је другачије наведено, резултати наведени у аналитичком извјештају из тачке 6. овог анекса односе се на аритметичку вриједност добијену из двије анализе које задовољавају критеријум поновљивости из тачке 5.1.1. овог анекса наведен за ту методу. Уколико критеријум поновљивости није задовољен, анализа мора бити поновљена, ако је то могуће, или резултат проглашен неважећим.

4.2. Израчунавање масеног удјела

Ако није другачије наведено, резултати се морају израчунавати као масени уддио узорка.

5. КРИТЕРИЈУМИ ПРЕЦИЗНОСТИ: ПОНОВЉИВОСТ И ОБНОВЉИВОСТ

5.1. Критеријуми прецизности који су задати у свакој методи дефинисани су како слиједи:

5.1.1. Поновљивост (r) јесте вриједност испод које се налази апсолутна разлика између два појединачна резултата анализа добијена примјеном истог поступка на истом материјалу за анализу, под истим условима (исти аналитичар, иста опрема, иста лабораторија и кратки временски интервал).

5.1.2. Обновљивост (R) јесте вриједност испод које се налази апсолутна разлика између два појединачна резултата анализа добијена примјеном истог поступка на истом материјалу за анализу, под различитим условима (други аналитичар, друга опрема, друге лабораторије и/или друго вријеме).

5.1.3. Ако није наведено другачије, за сваку поједину методу вриједности критеријума поновљивости и обновљивости сваког поступка представљају интервале са нивоом поузданости од 95% у складу с одредбом члана 13. става (2) Закона о стандардизацији Босне и Херцеговине ("Службени гласник БиХ", број 19/01) BAS ISO 5725.

5.1.4. Потребне међулабораторијске пробе и студије требало би планирати и изводити у складу са међународним смјерницама.

6. АНАЛИТИЧКИ ИЗВЈЕШТАЈ

У аналитичком извјештају треба да буде наведена коришћена метода анализе и добијени резултати. Осим тога, извјештај мора садржавати све појединости о поступку које нису одређене методом анализе или су изборне, као и све друге околности које су могле утицати на добијене резултате. Аналитички извјештај треба да пружи све потребне информације за потпуну идентификацију узорка.

ДИО II УЗОРКОВАЊЕ ТЕРМИЧКИ ОБРАЂЕНОГ МЛИЈЕКА

1. ОБИМ И ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Овим поступком описује се референтна метода узорковања, превоза и складиштења узорака термички обрађеног млијека.

2. ОПШТЕ ОДРЕДБЕ

Узорковање термички обрађеног млијека у спремницима и другом спровешће стручна особа која је прошла одговарајућу обуку прије узорковања млијека.

Ако је то потребно, надлежно тијело или испитна лабораторија мора особље које ради узорковање подучити техникама узорковања како би се обезбиједило да узорак буде репрезентативан и у складу са цијелом серијом.

Ако је то потребно, надлежно тијело или испитне лабораторије морају упутити особље које ради узорковање на подучу означавања узорка како би се обезбиједило недвосмислени идентитет узорка.

3. ОПРЕМА ЗА УЗОРКОВАЊЕ

3.1. Опште одредбе

Опрема за узорковање мора бити израђена од нерђајућег челика или другог одговарајућег материјала примјерене чврстине и конструкције који одговара њеној намјени (мијешање, узорковање итд.). Стапови и мијешалице за мијешање течности у спремницима морају имати довољно простора за одговарајуће мијешање производа, а да не узрокују настајање ужеглости. Кашика мора имати чврсту ручку довољне дужине како би се

омогућило узимање узорака на било којој дубини у спремнику. Капацитет кашике не смије бити мањи од 50 ml.

Спремници за узорке и поклопци морају бити од стакла, одговарајућих метала или пластике.

Материјали од којих је израђена опрема за узорковање (укључујући спремнике и поклопце) не смију узроковати никакве промјене на узорцима које би могле утицати на резултате анализе. Све површине опреме за узорковање и спремника за узорке морају бити чисте и суве, глатке и без пукотина, и ивице треба да им буду заобљене.

4. ТЕХНИКЕ УЗОРКОВАЊА

4.1. Опште одредбе

Без обзира на анализе које треба спровести, млијеко треба потпуно промијешати прије узорковања, а то ручно или машински.

Узорак треба узети одмах након мијешања, док се млијеко још гiba. Запремина узорка треба да одговара захтјевима анализе. Капацитет коришћених спремника за узорке треба да буде такав да су готово у потпуности испуњени узорком и да се тиме омогући одговарајуће мијешање садржаја прије анализе и избјегне бућкање током транспорта.

4.2. Ручно узорковање

4.2.1. Узорковање из више посуда

У случају када се количина млијека из које је потребно узети узорке налази у више спремника, треба узети репрезентативну количину из сваког спремника и забиљежити на коју количину млијека се односи који узорак. У случају да узорке из сваког спремника не треба посебно анализирати, тада треба промијешати удјеле ових репрезентативних количина у омјерима пропорционалним количини која се налази у спремницима из којих је узет узорак. Узорке из тих груних размјерних количина треба узети након мијешања.

4.2.2. Узорковање из великих посуда - складишни жељезнички и друмски спремници.

4.2.2.1. Мијешање млијека одговарајућим поступком прије узорковања.

За мијешање садржаја великих посуда или складишних жељезничких и друмских спремника савјетује се коришћење машинске мијешалице у складу са тачком 4.2.2.2. овог анекса.

Вријеме мијешања одговара временском периоду у којем је млијеко мировало. Потребно је доказати да ефикасност поступка мијешања који се примијени под било којим околностима одговара потребама предвиђене анализе; критеријум ефикасности мијешања нарочито утиче на сличност резултата анализе спроведене на узорцима узетим или из различитих дијелова пошиљке, или из испуста спремника у размацима током пражњења. Поступак мијешања (необрађеног или пуномасног) млијека сматраће се ефикасним ако разлика у количини масти коју садрже два узорка узета под овим условима износи мање од 0,1%. У великој посуди са испустом за изливање на дну може на тачки изливања постојати мања количина млијека која није репрезентативна за целокупни садржај чак ни након мијешања. Стога је боље узимати узорке кроз горњи отвор. Ако се узорци узимају на испусту за изливање, треба пустити довољну количину млијека да протече како би се обезбиједила репрезентативност узорака у односу на цјелину.

4.2.2.2. Мијешање садржаја великих посуда или складишних жељезничких и друмских спремника може се спровести на следеће начине:

- машинском мијешалицом уграђеном у спремнике коју покреће електрични мотор;
- пропелером или мијешалицом коју покреће електрични мотор те је постављена на отвор са мијешалицом урођеном у млијеко;
- у случају друмских или жељезничких спремника поновним кружењем млијека кроз испусну цијев која је повезана са пумпом за пражњење спремника те је уметнута кроз горњи отвор;
- чистим филтрираним компримираним ваздухом. У овом случају требало би користити минимални притисак и запремину ваздуха како би се спријечило настајање ужеглости.

4.3. Узорковање термички обрађеног млијека за исхрану људи у малопродајној амбалажи

Узорци термички обрађеног млијека за исхрану људи у малопродајној амбалажи морају бити у оригиналном паковању. Уколико је могуће, узорке треба узети из машине за паковање или хладњаче у постројењу за обраду што је прије могуће након обраде (за пастеризовано млијеко на дан обраде).

Узорци се узимају из сваке врсте термички обрађеног млијека (пастеризованог, УХТ- обрађеног и стерилисаног) и то у броју који одговара анализама које ће се вршити и у складу с упутствима које је прописала лабораторија која врши испитивања или друго надлежно тијело.

5. ИДЕНТИФИКАЦИЈА УЗОРКА

Узорак треба да буде означен идентификационим кодом тако да се може одмах идентификовати према упутствима лабораторије која врши анализе или другог надлежног тијела.

6. ЧУВАЊЕ, ТРАНСПОРТ И СКЛАДИШТЕЊЕ УЗОРАКА

Лабораторија која спроводи анализе дужна је да припреми упутства везана за услове чувања (хемијске, температурне), транспорта, складиштења и временских периода између узорковања и анализе млијека према врсти млијека и поступку анализе који се користи.

Упутства треба да садржавају следеће:

- Током транспорта и складиштења треба предузети превентивне мјере којима ће се спријечити излагање страним мирисима и директној сунчевој свјетлости. У случају да је спремник за узорке прозиран, треба га похранити на тамном мјесту.

АНЕКС II

ДИО I. ОДРЕЂИВАЊЕ УДЈЕЛА УКУПНЕ СУВЕ МАТЕРИЈЕ

1. ОБИМ И ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Овим поступком се описује референтна метода за одређивање удјела укупне суве материје у млијеку.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Удио укупне суве материје је маса која остане по завршетку тачно одређеног поступка сушења на константној температури до константне масе, а изражава се као масени удио.

3. ПРИНЦИП

Испаравање воде из узорка за анализу на температури од $102 \pm 2^\circ\text{C}$ у сушионику.

4. ОПРЕМА И СТАКЛЕНИ ПРИБОР

Потребна лабораторијска опрема, а нарочито:

4.1. Аналитичка вага

- 4.2. Ексикатор, са ефикасним средством за сушење (нпр. свјеже осушени силика-гел са показатељем удјела воде).
- 4.3. Сушионик, вентилиран, са температуром одржаваном на $102 \pm 2^\circ\text{C}$ на цијелом радном простору.
- 4.4. Посуде са равним дном, висине од 20 до 25 mm, промјера од 50 до 75 mm, и од одговарајућег материјала, заједно са поклопцима који добро приањају и лако се уклањају.
- 4.5. Вруће водено купатило
- 4.6. Хомогенизатор

5. ПРИПРЕМА УЗОРКА ЗА АНАЛИЗУ

Узорак млијека треба загријати на температуру између 20 и 25°C . Темељито промијешати како би се обезбиједила равномјерна дистрибуција масти у цијелом узорку. Избјежавати превише снажно мијешање да не би дошло до пјењења млијека или бућкања масти. У случају да се покаже да је тешко распршити слој павлаке, треба полако загријати на температуру између 25 и 40°C и пажљивим мијешањем умијешати сву павлаку са зида спремника. Брзо охладити узорак на 20 - 25°C .

Може се користити хомогенизатор као помагало при распршивању масти. Не може се очекивати добијање тачних резултата уколико узорак садржи одвојену течну маст или видљиве одвојене бијеле честице неправилног облика које приањају уз зидове спремника.

6. ПОСТУПАК

6.1. Припрема посуда

Загријавати посуду (4.4) и поклопац тако да се ставе у сушионик (4.3) једно покрај другог, на температури одржаваној на $102 \pm 2^\circ\text{C}$, барем 30 минута. Ставити поклопац на здјелу и одмах је премјестити у ексикатор (4.2), те пустити да се охлади на собну температуру (односно барем 30 минута) и измјерити са тачношћу од 0,1 mg.

6.2. Узорак за анализу

Одмах измјерити, са тачношћу од 0,1 mg, од 3 до 5 g припремљеног узорка за анализу (5) и ставити у припремљену посуду (6.1).

6.3. Одређивање

6.3.1. Предсушити посуду 30 минута гријући је на врућем воденом купатилу (4.5).

6.3.2. Загријавати посуду, са поклопцем поред ње, у сушионику (4.3) два сата на константној температури од $102 \pm 2^\circ\text{C}$. Ставити поклопац на посуду и извадити је из сушионика.

6.3.3. Оставити посуду у ексикатору (4.2) да се охлади на собну температуру (односно барем 30 минута) и измјерити са тачношћу од 0,1 mg.

6.3.4. Поново загријати посуду, са поклопцем поред ње, у сушионику (4.3) један сат. Ставити поклопац на здјелу и извадити је из сушионика. Пустити је да се у ексикатору (4.2) хлади барем 30 минута и измјерити је са тачношћу од 0,1 mg.

6.3.5. Поновити поступак описан у тачки 6.3.4. док разлика у маси између два узастопна мјерења не прелази 0,5 mg. Забиљежити најнижу масу.

7. ИЗРАЖАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

7.1. Израчунавање и формула

Израчунавање масеног удјела суве материје из:

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

при чему је

W_T = удео укупне суве материје у грамма на 100 г,

m_0 = маса посуде и поклопца (погледајте 6.1), у грамма,

m_1 = маса посуде, поклопца и узорка за анализу прије сушења (погледајте 6.2), у грамма,

m_2 = маса посуде, поклопца и сувог узорка за анализу након сушења (погледајте 6.3.5), у грамма.

Заокружити добијену вриједност са тачношћу од 0,01% (масени удео).

7.2. Прецизност

7.2.1. Поновљивост (r): 0,10 g укупне суве материје на 100 g производа.

7.2.2. Обновљивост (R): 0,20 g укупне суве материје на 100 g производа.

ДИО II. ОДРЕЂИВАЊЕ УДЈЕЛА МАСТИ

1. ОБИМ И ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Овим поступком се описује референтна метода одређивања удјела масти у сировом млијеку и пуномасном млијеку, дјелимично обраном млијеку и обраном млијеку.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Удио масти у млијеку јесте сва материја одређена тачно одређеном методом, а изражава се као масени удео.

3. ПРИНЦИП

Раствор амонијака и етанола узорка за анализу екстрахује се помоћу диетилетера и петролетера, растварача који се уклања дестилацијом или испаравањем, а потом се одређује маса екстраховане супстанце растворљиве у петролетеру. (Овај поступак је познат као *Roese-Gottlieb* метода).

4. РЕАГЕНСИ

Сви реагенси морају бити признате аналитичке чистоће и не смију остављати веће талогe при слијепој проби.

Како би се провјерио квалитет реагенса, треба урадити одређивање описано у тачки 6.3. Користити празну тиквицу, чашу или металну здјелу (5.8) за мјерење, припремљене у складу с тачком 6.4, као тару (како би се омогућило исправљање учинка промјена у атмосферским приликама на резултате мјерења). Уколико талог, исправљен за читу промјену масе тарe прелази 2,5 mg, потребно је одвојено одредити талог растварача испаравањем 100 ml диетилетера (4.4) и 100 ml петролетера (4.5), тим редослиједом. Такође користити тару за мјерење. У случају да је талог већи од 2,5 mg, потребно је пречистити растварач дестилацијом или га замијенити.

4.1. Раствор амонијака, који садржи отприлике 25% (m/m) NH_3 . Може се користити и раствор амонијака веће концентрације (погледајте 6.5.1. и А.1.5.1).

4.2. Етанол, барем 94% (v/v). Етанол разграђен метанолом може се користити ако је сигурно да то не утиче на резултате одређивања.

4.3. Раствор конго црвенила или крезол црвенила.

Растворити 1 g конго црвенила или крезол црвенила у води и разводити до 100 ml.

Напомена: Коришћење овог раствора, који омогућава да се лакше види граница између слоја растварача и воденог слоја, није обавезно (погледајте 6.5.2). Могу се користити и други водени раствори у боји ако не утичу на резултате одређивања.

4.4. Диетилетер без пероксида који не садржи више од 2 mg/kg антиоксиданса, и задовољава захтјеве слијепе пробе (6.3).

4.5. Петролетер, са распоном кључања између 30 и 60°C .

4.6. Смјеса растварача, припремљена непосредно прије коришћења мијешањем једнаких запремина диетилетера (4.4.) и петролетера (4.5.).

5. ОПРЕМА И СТАКЛЕНИ ПРИБОР

Упозорење: Будући да одређивање укључује коришћење испарљивих и запаљивих растварача, сва коришћена електрична опрема мора бити у складу са прописима који се односе на коришћење тих растварача.

Потребна лабораторијска опрема, а нарочито:

- 5.1. Аналитичка вага
- 5.2. Центрифуга, у којој се могу вртјети тиквице или епрувете за екстракцију масти (5.6) ротационом фреквенцијом од 500 до 600 обртаја у минуту како би се произвело гравитационо поље од 80 до 90 g на спољашњим крајевима тиквица или епрувета. Напомена: Коришћење центрифуге није обавезно (6.5.5).
- 5.3. Дестилатор или инструмент за испаравање, како би се омогућило дестиловање раствора и етанола из тиквица или испаравање из чаша и здјела (погледајте 6.5.12. и 6.5.15.) на температури која не прелази 100°C.
- 5.4. Сушионик, који се загријава електричним путем, са потпуно отвореним вентилацијским отвором(има), и у којем се температура може одржавати на $102 \pm 2^\circ\text{C}$ на цијелом радном простору. Сушионик би требало да буде опремљен одговарајућим термометром.
- 5.5. Водено купатило, у којој се температура може одржавати на 35 - 45°C.
- 5.6. Тиквице за екстракцију масти типа *Mojonnier*. Напомена: Могуће је користити и епрувете за екстракцију сифоном или наставцима боце штрцаљке, али у том случају је поступак другачији те је наведен у додатку. Тиквице (или епрувете) морају имати чепове од брушеног стакла, квалитетног плута или другог материјала на који не дјелују реагенси који се користе. Чепове од плута треба екстраховати диетилетером (4.4), намакати у води при 60°C или најмање 15 минута, а након тога оставити да се охлади у води како би остали zasiћени при коришћењу.
- 5.7. Сталак за држање тиквица (или епрувета) за екстракцију масти (погледајте 5.6).
- 5.8. Боца штрцаљка за коришћење смјесе растварача (4.6). Не смије се користити пластична боца штрцаљка.
- 5.9. Посуде за сакупљање масти, нпр. тиквице за кључање (са равним дном), или Ерленмајерове тиквице капацитета 125 – 250 ml или металне посуде. Ако се користе металне посуде, најбоље је да су од нерђајућег челика, са равним дном, по могућности са носцем, и треба да буду пречника од 80 до 100 mm и висине око 50 mm.
- 5.10. Помагала за кључање, без масти, од непорозног порцулана или силицијум-карбида или стаклених куглица (необавезно у случају металних здјела).
- 5.11. Мензуре, капацитета 5 и 25 ml.
- 5.12. Пипете, са означеном скалом, капацитета 10 ml.
- 5.13. Клијешта, метална, намијењена држању тиквица, чаша или здјела.

6. ПОСТУПАК

Напомена: Друга могућност која је описана у Додатку је коришћење епрувета за екстракцију масти са сифоном или наставцима боце штрцаљке (погледајте напомену под 5.6).

- 6.1. Припрема узорка за анализу

Прилагодити температуру лабораторијског узорка на отприлике 35 - 40°C 15 минута, и то помоћу воденог купатила. Темељито, али лагано промијешати узорак сталним преокретањем боце тако да не настаје пјена, и брзо охладити на отприлике 20°C.

6.2. Узорак за анализу

Промијешати узорак за анализу (6.1) лаганим преокретањем боце три или четири пута и одмах извагати, са тачношћу од 1 mg, 10 до 11 g узорка за анализу, директно или на основу разлике, и пренијети га у тиквицу за екстракцију (5.6).

Узорак за анализу мора у потпуности бити у доњем (мањем) дијелу тиквице за екстракцију.

6.3. Слијепа проба

Спровести слијепу пробу истовремено, и то коришћењем истог поступка и истог реагенса, али тако да умјесто узорка за анализу ставимо 10-11 ml воде.

Промјена праве масе посуде за сакупљање масти, исправљена за укупну промјену масе контролне посуде не смије прелазити 2,5 mg.

6.4. Припрема посуде за сакупљање масти

Сушити посуду (5.9) заједно са неколико помагала за кључање (5.10a) како би се подстакло лагано кључање током наредног уклањања растварача у сушионику (5.4) у трајању од један сат. Оставите посуду да се охлади (не у ексикатору, али заштитите од прашине) на собној температури за мјерење (стаклене посуде пустити да се хладе барем један сат, а металне посуде барем 30 минута). Користити клијешта за стављање посуде на вагу и проведите вагање са тачношћу од 0,1 mg, те при томе треба избјегавати промјене температуре.

6.5. Одређивање

- 6.5.1. Додати 2 ml раствора амонијака (4.1) или одговарајућу запремину раствора амонијака веће концентрације и темељито помијешати са узорком за анализу у мањем дијелу тиквице. Након додавања амонијака спровести анализу без одгађања.
- 6.5.2. Додати 10 ml етанола (4.2) и лагано, али темељито промијешати дозвољавајући да садржај тиквице тече напријед назад између њена два дијела; избјегавати да течност дође преблизу врату тиквице. Према жељи додати двије капи раствора конго црвенила или крезол црвенила (4.3).
- 6.5.3. Додати 25 ml диетилетера (4.4), затворити тиквицу чепом од плута zasiћеним водом или затварачем смоченим водом (погледајте 5.6), и трести тиквицу умјереном јачином (како би се избјегло стварање постојаних емулзија) једну минуту са тиквицом у водоравном положају, тако да мањи дио стоји према горе. Повремено дозволити да се течност из већег дијела преточи у мањи дио. Према потреби охладити тиквицу у води из славине, а затим пажљиво уклонити чеп од плута или други затварач и помоћу боце штрцаљке (5.8) испрати њега и врат тиквице са мало смјесе растварача (4.6) тако да испрани садржај ује у тиквицу.
- 6.5.4. Додати 25 ml петролетера (4.5), затворити тиквицу поново намоченим чепом од плута или другим затварачем (поново поквасити урањањем у воду), и лагано трести тиквицу 30 секунди како је описано у тачки 6.5.3.
- 6.5.5. Центрифугирати затворену тиквицу од 1 до 5 минута ротационом брзином од 500 до 600 обртаја у минуту (5.2). Ако центрифуга није на располагању (погледати напомену уз 5.2), оставити затворену тиквицу да стоји на сталку (5.7) барем 30 минута док

се горњи слој јасно и видљиво не одвоји од воденог слоја. Према потреби охладити тиквицу под текућом водом.

6.5.6. Пажљиво уклонити чеп плута или други затварач и испрати га као и унутрашњу страну врата тиквице са мало смјесе растварача (4.6) тако да испрани садржај уђе у тиквицу.

Ако се граница налази испод краја врата тиквице, испрани садржај треба подигнути нешто изнад тог нивоа лагано уливајући воду низ зид тиквице тако да се олакша преливање растварача.

6.5.7. Држећи тиквицу за екстракцију за мањи дио, пажљиво прелити највећу могућу количину горњег слоја у припремљене посуде за сакупљање масти (6.4) које садрже неколико помагала за кључање (5.10) у случају тиквица (по избору са металним посудама), избјегавајући изливање воденог слоја.

6.5.8. Испрати спољну страну врата тиквице за екстракцију са мало смјесе растварача (4.6), сакупљајући испрани садржај у посуду за сакупљање масти и пазећи да се смјеса растварача не прелије преко спољашњег дијела тиквице за екстракцију.

Према жељи, растварач или дио растварача може се уклонити из посуде дестилацијом или испаравањем како је описано у тачки 6.5.12.

6.5.9. Додати 5 ml етанола (4.2) садржају тиквице за екстракцију, при томе користећи етанол за испирање унутрашњости врата тиквице, и промијешати како је описано у тачки 6.5.2.

6.5.10. Извести другу екстракцију понављањем радњи описаних у тачкама од 6.5.3. до 6.5.8, али користећи само 15 ml диетилетера (4.4) и 15 ml петролетера (4.5); користити етер за испирање унутрашњости врата тиквице за екстракцију. Према потреби подигнути границу на средину врата тиквице како би се омогућило да коначно изливање растварача буде што потпуније.

6.5.11. Спровести трећу екстракцију даљим понављањем радњи описаних у тачкама од 6.5.3. до 6.5.8, али користећи само 15 ml диетилетера (4.4.) и 15 ml петролетера (4.5.); користити етер за испирање унутрашњости врата тиквице за екстракцију. Према потреби подигнути границу на средину врата тиквице како би се омогућило да коначно изливање растварача буде што потпуније. Трећа екстракција се може испустити код обраног млијека.

6.5.12. Раствараче (укључујући етанол) из тиквице уклонити што потпуније поступком дестилације, или из чаше или здјеле испаравањем (5.3), испирући унутрашњост врата тиквице са мало мијешаног растварача (4.6) прије започињања дестилације.

6.5.13. Гријати посуду за сакупљање масти (са тиквицом поред ње како би пара растварача испарила) један сат у сушионику (5.4). Уклонити посуду за сакупљање масти из сушионика, оставити да се охлади (не у ексикатору, али заштитите од прашине) на температуру собе за мјерење (стаклене посуде нека стоје барем сат времена, а металне посуде барем 30 минута) и извршити мјерење са тачношћу од 0,1 mg.

Не брисати посуду непосредно прије мјерења. Ставити посуду на вагу коришћењем клијешта и нарочито избјежавати промјене температуре.

6.5.14. Понављати радње описане у тачки 6.5.13. док се маса посуде за сакупљање масти не смањи за 0,5 mg или мање, или повећа, између два узастопна мјерења.

Забилежити најмању измјерену масу посуде за сакупљање масти и екстраховане супстанце.

6.5.15. Додати 25 ml петролетера у посуду за сакупљање масти како би се провјерило је ли екстрахована супстанца у потпуности растворљива. Лагано загријати и мијешати растварач док се сва маст не отопи.

Ако је екстрахована супстанца у потпуности растворљива у петролетеру, узима се да је маса масти разлика између коначне масе посуде која садржи екстраховану супстанцу (6.5.14) и почетне масе.

6.5.16. Ако је екстрахована супстанца у потпуности растворљива у петролетеру, или у случају сумње, у потпуности екстраховати маст из посуде понављаним испирањем топлим петролетером. Пустити све трагове нерастворљиве супстанце да се слегну и пажљиво излити петролетер без да се уклони нерастворљива супстанца. Поновити овај поступак још три пута коришћењем петролетера за испирање унутрашњости врата посуде.

На крају испрати спољни дио врха посуде смјесом растварача тако да се растварач не прошири преко спољашње стране посуде. Уклонити пару петролетера из посуде једносатним загријавањем посуде у сушионику, пустити да се охлади и измјерити, како је описано у тачкама 6.5.13. и 6.5.14.

Узети да је маса масти разлика масе одређене у тачки 6.5.14. и ове коначне масе.

7. ИЗРАЖАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

7.1. Израчунавање и формула

Израчунајте масени удио масти из:

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

при чему је

F = удио масти,

m_0 = маса узорка за анализу (6.2), у грамма,

m_1 = маса посуде за сакупљање масти и екстраховане супстанце одређене у тачки 6.5.14, у грамма,

m_2 = маса припремљене посуде за сакупљање масти или, у случају нерастворивог материјала, посуде за сакупљање масти и нерастворљивог талога одређеног у тачки 6.5.16, у грамма,

m_3 = маса посуде за сакупљање масти коришћене у слијепој проби (6.3) и сав екстраховани материјал одређен у тачки 6.5.14, у грамма,

m_4 = маса припремљене посуде за сакупљање масти (погледати 6.4) коришћене у слијепој проби (6.3) или, у случају нерастворивог материјала, посуде за сакупљање масти и нерастворљивог талога одређеног у тачки 6.5.16, у грамма.

Приказати резултат са тачношћу од 0,01 mg.

7.2. Прецизност

7.2.1. Поновљивост (r):

- за пуномасно млијеко и дјелимично обрано млијеко: 0,02 g масти на 100 g производа,
- за обрано млијеко: 0,01 g масти на 100 g производа

7.2.2. Обновљивост (R):

- за пуномасно млијеко: 0,04 g масти на 100 g производа,
- за дјелимично обрано млијеко: 0,03 g масти на 100 g производа,

- за обрано млијеко: 0,025 g масти на 100 g производа.

ДИО III. ОДРЕЂИВАЊЕ УДЈЕЛА БЕЗМАСНЕ СУВЕ МАТЕРИЈЕ

1. ОБИМ И ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Овим поступком се описује референтна метода за одређивање удјела безмасне суве материје у термички обрађеном млијеку.

2. ДЕФИНИЦИЈА И ИЗРАЧУНАВАЊЕ

Удио безмасне суве материје изражава се као масени удио.

Удио безмасне суве материје је удио укупне суве материје (погледати одјељак I) умањен за удио масти (погледати одјељак II).

ДИО IV ОДРЕЂИВАЊЕ УДЈЕЛА УКУПНОГ АЗОТА

1. ОБИМ И ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Овим поступком се описује референтна метода за одређивање удјела укупног азота у сировом млијеку и пуномасном млијеку, дјелимично обраном млијеку и обраном млијеку.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Удио укупног азота у млијеку је удио азота, изражен као масени удио, како је одређено тачно описаном Кјелдаловом методом.

3. ПРИНЦИП

Измјерена количину узорка млијека третира се концентрованом сумпорном киселином и калијум-сулфатом и бакар(II)-сулфатом као катализатором, како би се азот из органских спојева превео у амонијум-сулфат. Амонијак се ослобађа додавањем раствора натријум-хидроксида, а затим се дестиљује и апсорбује у раствор борне киселине. То се титрира киселим раствором.

4. РЕАГЕНСИ

- 4.1. Калијум-сулфат (K_2SO_4).
- 4.2. Раствор бакар-сулфата. Растворити 5,0 g бакар(II)-сулфата пентахидрата ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) у води и разводити до 100 ml (на $20^\circ C$) у одмјерној тиквици.
- 4.3. Сумпорна киселина, барем 98,0% (m/m) H_2SO_4 .
- 4.4. Раствор натријум-хидроксида, 47% (m/m) 704 g $NaOH/1$ ($20^\circ C$).
Напомена: може се користити и раствор натријум-хидроксида мање концентрације, нпр.: 40% (m/m) 572 g/l, $20^\circ C$; или 30% (m/m) 399 g/l, $20^\circ C$.
- 4.5. Раствор борне киселине. Растворити 40 g борне киселине (H_3BO_3) у једном литру вруће воде, оставити да се охлади и спремити у боцу од боросиликатног стакла.
- 4.6. Индикаторски раствор. Растворити 0,01 g црвеног метила, 0,02 g плавог бромтимола и 0,06 g зеленог бромкрезола у 100 ml етанола. Спремити раствор у смеђу затворену боцу на хладно и тамно мјесто.
- 4.7. Волуметријски раствор $c(1/2 H_2SO_4)$ или $c(HCl) = 0,1 \text{ mol/L}$ стандардизована са тачношћу од 0,0001 mol/L.
- 4.8. Сахароза без азота.
- 4.9. Амонијумова со, чиста, као што су амонијум-оксалат $(NH_4)_2C_2O_4$, H_2O или амонијум-сулфат $(NH_4)_2SO_4$.
- 4.10. Триптофан ($C_{11}H_{12}N_2O_2$), фенацетин ($C_{10}H_7CH_2CONH_2$) или лизин моно- или дихидрохлорид ($C_6H_{14}N_2O_2 \cdot HCl$ или $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl$).

Напомена: чистоћа реагенса у тачкама 4.9. и 4.10. требало би да буде изнад степена "аналитичке чистоће".

Уколико је на располагању, требало би да се користи сертификовани раствор соли амонијума (4.9).

5. ОПРЕМА И СТАКЛЕНИ ПРИБОР

- Потребна лабораторијска опрема, а нарочито:
- 5.1. Кјелдалове тиквице капацитета 500 ml.
 - 5.2. Одговарајућа помагала за кључање, нпр. стаклене куглице пречника око 5 mm, Хенгарове грануле, камен плавац.
 - 5.3. Бирете или аутоматска пипета, за дозирање 1,0 ml.
 - 5.4. Мензуре са означеним скалама, стаклене, капацитета 50, 100 и 250 ml.
 - 5.5. Дигестор у нагнутом положају (око 45°), с електричним гријачима или плинским горјоницима који не загријавају тиквицу изнад нивоа њеног садржаја, са системом за екстраховање дима.
 - 5.6. Дестилатор, израђен од боросиликатног стакла, на који се може спојити Кјелдалова тиквица (5.1) и који се састоји од ефикасне главе штрцаљке повезане с ефикасним хладилом са равном унутрашњом цијеви и одводном цијеви повезаном са његовим доњим завршетком; повезне цијеви и затварач(и) морају добро приањати и по могућности бити од неопренске гуме.
 - 5.7. Пипета или аутоматска пипета, за 0,1 ml.
 - 5.8. Купасте тиквице, капацитета 500 ml, градуиране на 200 ml.
 - 5.9. Бирета капацитета 50 ml, градуирана на 0,1 ml, са максималном могућношћу грешке $\pm 0,05 \text{ ml}$.
 - 5.10. Повећало, за читавање бирете (5.9).
 - 5.11. pH-метар
 - 5.12. Аутоматска бирета.

6. ПОСТУПАК

- 6.1. Додати помагала за кључање (5.2.) (нпр. три стаклене куглице) у Кјелдалову тиквицу (5.1), 15 g калијум-сулфата (4.1), 1,0 ml раствор бакар-сулфата (4.2), отприлике 5 g узорка млијека (измјереног са тачношћу од 0,001g) и 25 ml сумпорне киселине (4.3). Користити киселину за испирање раствора бакар-сулфата, калијум-сулфата или млијека на врату тиквице, и лагано промијешати садржај тиквице.
Напомена: Будући да органска материју троши сумпорну киселину током кључања, за разградњу умјесто 25 ml користи се 30 ml H_2SO_4 (4.3) уколико млијеко садржи више од 5,0% (m/m) масти. Исто би требало учинити и у слијепој проби.
- 6.2. Загријте сваку Кјелдалову тиквицу у дигестору (5.5), у почетку врло полако тако да црна пјена остане унутар трбушастог дијела тиквице. Када престане почетно пјењење и појави се обилна бијела пара, снажно прокувајте (кисела пара ће се кондензовати када дође на пола пута до врха врата тиквице) док не нестану све црне честице и док садржај тиквице не буде јасно блиједе плаво-зелене боје. Тада лагано кувати барем један и по сат. Примити на знање сљедеће:
 - (а) не би требало да протекне више од једног сата да садржај тиквице постане бистар, а разградња укупно не би требало да траје мање од два и по сата. Ако је потребно више од једног сата за разбистравање, укупно трајање разградње треба да се повећа у складу с тим;
 - (б) додани калијум-сулфат подстиче разградњу будући да подиже температуру кључања смјесе. Ако је преостала запремина H_2SO_4 мања од отприлике 15 ml на крају разградње, азот је можда изгубљен због прекомјерног загријавања.

У случају плинског гријања треба да загријете тиквицу на плочи од термички изолационог материјала, са кружним отвором таквог пречника да слободни пламен само додирује дио тиквице која је испод површине течног садржаја (5.5);

- (ц) уколико црне честице уђу у врат тиквице и не буду испране у потпуности, у трбух тиквице кретањем киселине у почетним фазама периода снажног загријавања (то би се могло олакшати окретањем тиквице) треба пустити да се тиквица довољно охлади и пажљиво је испрати минималном количином воде. Затим наставити разградњу како је горе описано.

- 6.3. Када се Кјелдалове тиквице у потпуности охладе, додати 300 ml воде (погледати напомену) у сваку тако да се пажљиво испере врат тиквице, и темељито промијешати садржај пазећи на то да се кристали који су се одвојили отопе. Додати помагала за кључање (5.2) како би се осигурало једнолично кључање. Затим у сваку тиквицу додати 70 ml раствора натријум-хидроксида (4.4) (погледати напомену), лагано уливајући раствор кроз накошени врат тиквице да се створи доњи слој у трбушастом дијелу; не мочити врх врата раствором натријум-хидроксида.

Напомена: Потребно је да заједничка запремина воде и раствора натријум-хидроксида заједно износи 370 ml како би се омогућило сакупљање око 150 ml дестилата управо прије него што услједи неуједначено кључање. Стога, ако се дода већа одговарајућа запремина раствора натријум-хидроксида концентрације мање од 47% (m/m), запремина додате воде смањиће се према томе. На примјер, уколико се дода 85 ml од 40% (m/m) или 125 ml од 30% (m/m) раствора натријум-хидроксида, запремина додате воде износиће 285 ml или 245 ml.

- 6.4. Одмах спојити сваку Кјелдалову тиквицу на дестилатор (5.6). Побрините се да врх одводне цијеви хладила буде уроњен у 50 ml борне киселине (4.5) заједно са 0,20 ml (5 – 6 капи) индикаторског раствора (4.6) у купастој тиквици (5.8). Завртјети садржај сваке Кјелдалове тиквице како би се темељито промијешао и закувао, али у почетку лагано како би се спријечило претјерано пјењење. Након што се сакупи 100 до 125 ml дестилата, спуштати сваку купасту тиквицу док се вршак одводне цијеви хладила не нађе на отприлике 40 mm изнад ознаке за 200 ml. Наставити са сваком појединачном дестилацијом док не почне неуједначено кључање, а затим одмах престати са загријавањем. Одвојити све Кјелдалове тиквице и испрати врх одводних цијеви хладила помоћу мало воде, сакупљајући испрани садржај у купасту тиквицу.

Треба знати сљедеће:

- (а) Степен дестилације мора бити такав да се отприлике 150 ml дестилата сакупи када почне неуједначено кључање, а запремина садржаја сваке купасте тиквице тада ће износити отприлике 200 ml.
- (б) Ефикасност сваког хладила требало би да буде таква да температура садржаја сваке купасте тиквице не прелази 25°C током дестилације.
- 6.5. Титрирати сваки дестилат са стандардним волуметријским раствором (4.7) док рН не буде 4,6 ± 0,1, и при томе користити рН-метар и по жељи аутоматску бирету. Додавање индикатора помаже при провјеравању правилног тока титрације. Очитати

вриједности на бирети са тачношћу од 0,1 ml помоћу повећала (5.10) избјегавајући грешке везане за мениск.

Титрирање се може спровести само с индикатором. Потребно је титрирати док боја дестилата не постане једнака боји претходно припремљеног раствора од 150 ml воде у коју је додато 50 ml раствора борне киселине и 0,20 ml индикатора садржаног у купастој тиквици (5.8).

- 6.6. Спровести слијепу пробу у складу са тачкама од 6.1. до 6.5, и умјесто узорка млијека за поступак узети 5 ml дестиловане воде и отприлике 0,1 g сахарозе (4.8).

Напомена: За титрацију слијепог дестилата потребна је мала запремина стандардног волуметријског раствора (4.7).

- 6.7. Редовно провјеравати исправност поступка коришћењем два рекуперацијска огледа пратећи поступак описан у тачкама од 6.1. до 6.5.

- 6.7.1. Провјерити долази ли до губитка азота због прекомјерног загријавања или механичких цурења током дестилације, и то коришћењем узорка за анализу од 0,15 g амонијум-оксалата или сулфата (4.9) измјереног са тачношћу од 0,001 g и 0,1 g сахарозе (4.8).

Постотак рекуперираниог азота мора износити између 99,0% и 100,0 %.

Нижи или виши резултати указују на пропусте у поступку и/или нетачност концентрације стандардних раствора (4.7).

- 6.7.2. Провјерити да ли је поступак разградње довољан за ослобађање укупног протеинског азота коришћењем узорка за анализу од 0,20 g чистог триптофана, 0,35 g фенацетина или 0,20 g лизин хидрохлорида (4.10). Сва мјерења требало би да буду изведена са тачношћу од 0,001 g. Најмање 98 - 99% азота требало би да буде рекуперирано.

7. БЕЗБЈЕДНОСНЕ МЈЕРЕ

При раду са концентрованом сумпорном киселином и натријум-хидроксидом и када се рукује Кјелдаловим тиквицама, треба увијек носити лабораторијску кецељу, заштитне наочале и рукавице отпорне на киселину.

Никад не остављати Кјелдалове тиквице без надзора током дестилације. Због потенцијалне опасности одмах зауставити дестилацију ако садржај тиквице кључа прејак. Ако је струја искључена више од двије до три минуте, спустити тиквицу за сакупљање тако да дестилацијски вршак буде изван текућине.

8. ИЗРАЖАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

- 8.1. Израчунавање и формула:

Израчунајте удио азота (W_n), изражено у грамима азота на 100 g производа сљедећом формулом:

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

При чему је:

W_n = удио азота,

V = запремина стандардног волуметријског раствора

киселине коришћене при одређивању, у милилитрима,

V_0 = запремина стандардног волуметријског раствора

киселине коришћене у слијепој проби, у

милилитрима,

c = концентрација, изражена у молима по литру

стандардног волуметријског раствора киселине (4.7),

m = маса узорка за анализу у грамима.

Заокружити резултат на 0,001 g на 100g.

- 8.2. Прецизност

- 8.2.1. Поновљивост (r): 0,007 g на 100 g.
8.2.2. Обновљивост (R): 0,015 g на 100 g.

9. ИЗМЈЕНЕ ПОСТУПАКА

- 9.1. Користити апаратуру за разградњу са цилиндричним тиквицама, умјесто дигестора и Кјелдалових тиквица описаних у тачкама 5.5. и 5.1. У том случају сваки уређај треба засебно провјерити како би се утврдиле потенцијалне неправилности (6.7).
- 9.2. Користити парну дестилацију умјесто директног загријавања тиквица (6.4). Када инструмент не дозвољава коришћење дестиловане воде, треба обратити пажњу на то да ли вода садржи испарљиве киселине или базе.
- 9.3. Узорак за анализу од 1 g млијека (семи-макро Кјелдал) може се користити умјесто 5 g (6.1) ако:
- се количине реагенса коришћеног за минерализацију (6.1): H_2SO_4 , $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, K_2SO_4 , смање у истом омјеру (1/5),
 - се укупно трајање разградње (6.2) смањи на 75 минута,
 - се количина раствора натријум-хидроксида (6.3) смањи у истом омјеру (1/5),
 - се мора користити стандардни кисели раствор (4.7) ниже концентрације (0,02 до 0,03 mol/l).

Напомена: Коришћење једне или више од ових могућности прихватљиво је само уколико су вриједност поновљивости (8.2.1) и резултати двије провјере тачности (6.7) у складу са условима прописаним овом методом.

ДИО V. ОДРЕЂИВАЊЕ УДЈЕЛА ПРОТЕИНА

1. ОБИМ И ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Овим поступком описује се референтна метода за одређивање удјела протеина у термички обрађеном млијеку.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Удио протеина је вриједност која се добије множењем удјела укупног азота, израженог као масени удио, одређеног методом описаном у одјелу IV ставу 3, с одговарајућим фактором (3).

3. ИЗРАЧУНАВАЊЕ

Удио протеина у млијеку као масени удио = $6,38 \times$ удио укупног азота N у млијеку %.

ДИО VI. ОДРЕЂИВАЊЕ СПЕЦИФИЧНЕ МАСЕ

1. ОБИМ И ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Овим поступком се описује референтна метода одређивања специфичне масе сировог млијека и пуномасног млијека, дјелимично обраног млијека и обраног млијека на 20°C.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Специфична маса млијека је омјер масе одређене запремине млијека на 20°C и масе исте запремине воде на 20°C.

3. ПРИНЦИП

Специфична маса на 20°C одређује се хидрометром.

4. ОПРЕМА И СТАКЛЕНИ ПРИБОР

Потребна лабораторијска опрема, а нарочито:

4.1. Хидрометар

Специфични гравитацијски хидрометар је инструмент који се састоји од стакленог пловка који је у свом доњем дијелу широк и тежак. Цилиндрична стаклена цјевчица је спојена на горњи крај пловка те стоји упоредо с њим; горњи дио цјевчице је затворен.

Стаклени пловак садржи терет (олово, жива, итд.) намијењен прилагођавању масе хидрометра. Цјевчица има скалу од 1,025 до 1,035 g/ml.

Хидрометар би требало провјерити пикнометријском методом, коришћењем пикнометра капацитета око 100 ml који је опремљен термометром за мјерење прецизности.

4.2. Цилиндри (стаклени или од нерђајућег челика).

Њихове минималне димензије требало би да буду следеће:

- унутрашњи пречник отприлике 35 mm
 - унутрашња висина отприлике 225 mm.
- 4.3. Водено купатило регулисано на $20 \pm 0,1^\circ C$.
- 4.4. Водено купатило регулисано на $40 \pm 2^\circ C$.
- 4.5. Термометар, са означеном скалом подијељеном на $0,5^\circ C$.

5. ПОСТУПАК

- 5.1. Промијешати узорак преокретањем како би се распршила маст те га ставити у водено купатило на 40°C (4.4). Пустити да узорак досегне температуру од 40°C и одржавати ту температуру пет минута. Темелито промијешати лаганим преокретањем како би се маст равномерно распоредила. Узорак охладити на 20°C у другом воденом купатилу (4.3).
- 5.2. Темелито промијешати узорак лаганим преокретањем како би се избјегло мијешање ваздуха. Улити млијеко у цилиндар (4.2) који се мора држати нагнутим како би се избјегло стварање пјене. Користити довољну количину узорка млијека како би били сигурни да ће се дио прелити из цилиндра када се у узорак урони хидрометар (4.1). Пажљиво спустити хидрометар у млијеко и пустити га да слободно плута док не постигне равнотежу. Цилиндар треба положити окомито. Хидрометар треба да буде намјештен у средини колоне течности и не би требало да додирује странице цилиндра.
- 5.3. Када се хидрометар умири, прочитати ознаку на врху менискуса.
- 5.4. Одмах након читавања на хидрометру ставити термометар (4.5) у узорак и прочитати температуру са тачношћу од $0,5^\circ C$. Температура не смије одступати $\pm 2^\circ C$ на $\pm 20^\circ C$.

6. ИСПРАВАК ТЕМПЕРАТУРЕ

- 6.1. Ако температура узорка млијека не износи тачно 20°C при мјерењу специфичне масе, онда се добијени резултат мора исправити додавањем одређеној специфичној маси 0,0002 за сваки степен Целзијуса изнад 20°C, или одузимањем 0,0002 за сваки степен Целзијуса испод 20°C. Овај исправак изводи се само ако температура узорка млијека одступа од 5°C од 20°C.

7. ИЗРАЖАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

Метода израчунавања и формула: специфична маса узорка изражава се у g/ml обраног млијека на 20°C у складу са следећом формулом:

$$\frac{1000 \times mv - MG \times mv}{1000 - \frac{MG \times mv}{0,92}} = \frac{0,92mv(1000 - MG)}{920 - MG \times mv}$$

при чему је
mv = специфична маса узорка прочитана на хидрометру (5.4) у g/l
MG = удио масти у узорку у g/l
0,92 = густина масти.

8. ПРЕЦИЗНОСТ

8.1. Поновљивост (r): 0,0003 g/ml.

8.2. Обновљивост (R): 0,0015 g/ml.

ДОДАТАК (Анексу II)**АЛТЕРНАТИВНИ ПОСТУПАК КОЈИ УКЉУЧУЈЕ
КОРИШЋЕЊЕ ЕПРУВЕТА ЗА ЕКСТРАКЦИЈУ
МАСТИ СА СИФОНОМ ИЛИ НАСТАВКОМ БОЦЕ
ШТРЦАЉКЕ****A.1. ПОСТУПАК**

A.1.1. Припрема узорка за анализу

Погледати 6.1.

A.1.2. Узорак за анализу

Учинити како је наведено под 6.2, али при томе користите епрувете за екстракцију масти (погледати 5.6).

Узорак за анализу треба у потпуности поставити на дно епрувете за екстракцију.

A.1.3. Слијера проба

Погледати 6.3.

A.1.4. Припрема посуде за сакупљање масти

Погледати 6.4.

A.1.5. Одређивање

A.1.5.1. Додати 2 ml раствора амонијака (4.1), или једнаку запремину раствора амонијака веће концентрације, и темељито промијешати са претходно припремљеним узорком за анализу на дну епрувете. Након додавања амонијака, спровести анализу без одгањања.

A.1.5.2. Додати 10 ml етанола (4.2) и лагано, али темељито промијешати на дну епрувете. По жељи додати двије капи раствора конго црвенила или крезол црвенила (4.3).

A.1.5.3. Додати 25 ml диетилетера (4.4), затворити епрувету плутаним чепом засићеним водом или затварачем натопљеним водом (5.6), и снажније трести епрувету (како би се избјегло настајање постојаних емулзија) и преокретати је једну минуту. Ако је то потребно, охладити епрувету у текућој води, а затим пажљиво одстранити чеп од плута или други затварач и испрати чеп и врат епрувете са мало смјесе растварача (4.6) коришћењем боце штрцаљке (5.8) тако да испрани садржај уђе у епрувету.

A.1.5.4. Додати 25 ml петролетера (4.5), затворити епрувету са поновно натопљеним плутаним чепом или другим затварачем (поново га натопити урањањем у воду), и лагано трести епрувету 30 секунди како је описано у тачки A.1.5.3.

A.1.5.5. Центрифугирати затворену епрувету један минут до пет минута са ротационом фреквенцијом од 500 до 600 обртаја у минуту (5.2). Ако центрифуга није на располагању (погледати напомену под 5.2), пустити затворену епрувету да стоји у сталку (5.7) барем 30 минута, док горњи слој не постане бистар и јасно одвојен од воденог слоја. Према потреби охладити епрувету под текућом водом.

A.1.5.6. Пажљиво одстранити плутани чеп или други затварач и испрати чеп и врат епрувете са мало смјесе растварача тако да испрани садржај уђе у епрувету.

A.1.5.7. Уметнути сифонски наставак или наставак боце штрцаљке у епрувету и гурнути према доље дуги унутрашњи крак наставка док довод не буде отприлике 3 mm изнад границе између слојева. Унутрашњи крак наставка треба да буде паралелан са осом епрувете за екстракцију.

Пажљиво прелити горњи слој из епрувете у припремљену посуду за сакупљање масти (6.4) која садржи неколико помагала за кључање (5.10) у случају тиквица

(необавезно са металним здјелама), избјегавајући да се при томе пренесе дио воденог слоја. Испрати одвод наставка са мало смјесе растварача, сакупљајући испрани садржај у посуду за сакупљање масти.

A.1.5.8. Отпустити наставак из врата епрувете, лагано подигнути наставак и испрати доњи дио његовог дужег унутрашњег крака са мало смјесе растварача. Спустити и поново уметнути наставак па пренијети испрани садржај у посуду за сакупљање масти.

Испрати одвод наставка са мало смјесе растварача, сакупљајући испрани садржај у посуду. По жељи се растварач или дио растварача могу уклонити из посуде дестилацијом или испаравањем, како је описано у тачки 6.5.12.

A.1.5.9. Поново отпустити наставак из врата, полако подигнути наставак и додати 5 ml етанола садржају епрувете, користећи етанол за испирање дугог унутрашњег крака наставка; промијешати како је описано у тачки A.1.5.2.

A.1.5.10. Извести другу екстракцију понављањем поступка описаног у тачкама од A.1.5.3. до A.1.5.8, али при томе користити само 15 ml диетилетера (4.4) и 15 ml петролетера (4.5). Употријебити етер за испирање дугог унутрашњег крака наставка док се уклања наставак из епрувете након претходне екстракције.

A.1.5.11. Извести трећу екстракцију поновним понављањем поступка описаног у тачкама од A.1.5.3. до A.1.5.8, користећи 15 ml диетилетера и 15 ml петролетера и испирући дуги унутрашњи крак наставка у складу са тачком A.15.10.

Трећа екстракција се можете изоставити код обраног млијека.

A.1.5.12. Поступити како је описано у тачкама од 6.5.12. до 6.5.16.