

Na osnovu člana 17. stav 3. tačka f) i člana 72. Zakona o hrani ("Službeni glasnik BiH", broj 50/04) i člana 17. Zakona o Vijeću ministara Bosne i Hercegovine ("Službeni glasnik BiH", br. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 i 24/08), Vijeće ministara Bosne i Hercegovine, na prijedlog Agencije za sigurnost hrane Bosne i Hercegovine u saradnji s nadležnim organima entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine, na 127. sjednici održanoj 6. jula 2010. godine, donijelo je

PRAVILNIK

O METODAMA ANALIZA ŠEĆERA

DIO PRVI - OPĆE ODREDBE

Član 1. (Predmet)

Pravilnikom o metodama analiza šećera (u daljnjem tekstu: Pravilnik) propisuju se metode za utvrđivanje usklađenosti s propisanim općim zahtjevima kvaliteta šećera u svrhu službene kontrole.

Član 2. (Definicija kvaliteta)

U smislu ovog Pravilnika, kvalitet je svojstvo proizvoda uslovljeno osnovnim sastavom, dodatim materijama, tehnološkim postupcima, pakovanjem šećera, njegovim čuvanjem i skladištenjem.

DIO DRUGI - POSEBNE ODREDBE

Član 3. (Metode)

(1) Za utvrđivanje usklađenosti šećera s propisanim općim zahtjevima kvaliteta koriste se sljedeće metode:

- a) određivanje vode u šećeru uz gubitak sušenjem (Metoda ICUMSA);
- b) određivanje udjela suhe materije pomoću vakuum sušnice;
- c) određivanje ukupne suhe materije refraktometrom;
- d) određivanje reducirajućih šećera izraženih kao invertni šećer (Berlin Institute metoda);
- e) određivanje reducirajućih šećera izraženih kao invertni šećer po Knightu i Allenu;
- f) određivanje reducirajućih šećera izraženih kao invertni šećer ili dekstrozni ekvivalent (Luff - Schoorl metoda);
- g) određivanje reducirajućih šećera izraženih kao invertni šećer po metodi Lane i Eynon;
- h) određivanje reducirajuće snage i dekstroznog ekvivalenta DE po metodi Lane i Eynon;

i) određivanje sulfatnog pepela;

j) određivanje polarizacije polarimetrom.

(2) Osim metoda definiranih u stavu (1) ovog člana, koriste se i metode koje je utvrdila Međunarodna komisija za jedinstvene metode analiza šećera (u daljnjem tekstu: ICUMSA):

a) određivanje sulfita u bijelom šećeru kolorimetrijskom metodom s rozalininom;

b) određivanje sulfatnog pepela u sirovom šećeru, smeđem šećeru, sokovima, sirupu i melasi;

c) određivanje koeficijenta refleksije bijelog šećera uz pomoć instrumenta;

d) određivanje konduktometrijskog pepela u šećeru;

e) vizuelno određivanje boje bijelog šećera s Brunswick kolor - tipovima;

f) određivanje boje u rastvoru bijelog šećera.

(3) Metode iz st. (1) i (2) ovog člana navedene su u aneksima I. i II. koji su sastavni dio ovog Pravilnika.

(4) Za utvrđivanje usklađenosti šećera s propisanim općim zahtjevima kvaliteta, osim metoda iz st. (1) i (2) ovog člana, mogu se koristiti i druge validirane i međunarodno priznate metode.

DIO TREĆI - PRIJELAZNE I ZAVRŠNE ODREDBE

Član 4. (Stupanje na snagu)

Ovaj Pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objavljivanja u "Službenom glasniku BiH".

VM broj 227/10
6. jula 2010. godine
Sarajevo

Predsjedavajući
Vijeća ministara BiH
Dr. **Nikola Špirić**, s. r.

ANEKS I.

METODE ZA UTVRĐIVANJE USKLAĐENOSTI S PROPISANIM OPĆIM ZAHTJEVIMA KVALITETA

UVOD

1. Priprema uzorka za analizu

- 1.1. Uzorak koji se dostavi na analizu u laboratoriju dobro promiješati.
- 1.2. Najmanje 200 g prenijeti u čistu, suhu i za vlagu nepropusnu posudu koja se hermetički zatvara.

2. Reagensi i oprema

- 2.1. U opisu opreme navedeni su samo posebni instrumenti i oprema ali i oprema koja se odnosi na posebne standarde.
- 2.2. Voda mora biti destilirana.
- 2.3. Gdje nije drugačije određeno, svi reagensi moraju biti priznati od p.a. (pro analysi) kvaliteta.

3. Tumačenje rezultata

- 3.1. Rezultat mora biti srednja vrijednost najmanje dvije iste ponovljene analize.
- 3.2. Gdje nije drugačije određeno, rezultati se izražavaju kao maseni udio (% m/m).
- 3.3. Rezultat se dijeli na toliko decimalnih mjesta koliko je to moguće gledajući na tačnost upotrijebljene metode za analizu.

METODA 1 - ODREĐIVANJE VODE U ŠEĆERU UZ GUBITAK MASE SUŠENJEM (Metoda ICUMSA)

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se gubitak mase sušenjem u:

- polubijelom šećeru,
- šećeru ili bijelom šećeru,
- ekstra bijelom šećeru.

2. Definicija

Gubitak mase sušenjem je iznos gubitka mase pri sušenju, određen opisanom metodom.

3. Princip

Gubitak mase sušenjem određuje se sušenjem pri temperaturi $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4. Aparatura

- 4.1. Analitička vaga tačnosti 0,1 mg.

- 4.2. Sušionik s odgovarajućom ventilacijom i regulatorom temperature kojom se održava temperatura od $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 4.3. Metalne posudice za vaganje, s ravnim dnom, otporne na djelovanje uzorka i uslove analize, promjera najmanje 100 mm i dubine najmanje 30 mm.
- 4.4. Eksikator sa svježe aktiviranim silikagelom ili ekvivalentnim sušilom, s indikatorom prisustva vode.

5. Postupak

Napomena: postupci opisani u tačkama 5.3. do 5.7. moraju se provoditi odmah po otvaranju posude sa uzorkom.

- 5.1. Osušiti posudice (4.3.) do konstantne mase u sušioniku (4.2.) pri $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 5.2. Ostaviti posudice da se ohlade u eksikatoru (4.4.) najmanje 30-35 minuta i zatim ih izvagati s tačnošću od 0,1 mg.
- 5.3. U posudice izvagati približno 20-30 g uzorka s tačnošću od 0,1 mg.
- 5.4. Postaviti posudice u sušionik (4.2.) na tri sata pri $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 5.5. Ostaviti posudice da se ohlade u eksikatoru (4.4.) i zatim ih izvagati s tačnošću od 0,1 mg.
- 5.6. Ponovo postaviti posudice u sušionik na 30 minuta pri $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Ostaviti da se ohlade u eksikatoru (4.4.) i zatim izvagati s tačnošću od 0,1 mg. Postupak ponoviti ako je razlika između dva vaganja veća od 1 mg. Ako se masa poveća, za izračunavanje upotrijebiti najnižu izmjerenu vrijednost.
- 5.7. Ukupno vrijeme sušenja ne smije prelaziti četiri sata.

6. Izražavanje rezultata

6.1. Izračunavanje

Gubitak mase sušenjem izražava se kao % originalne mase uzorka i dat je sljedećom jednačinom:

$$\% = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100$$

gdje je:

m_0 = početna masa uzorka (g)

m_1 = masa uzorka nakon sušenja (g)

6.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koju provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 0,02 g na 100 g uzorka.

METODA 2 - ODREĐIVANJE UDJELA SUHE MATERIJE POMOĆU VAKUUM SUŠNICE

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se udio suhe materije u:

- glukoznom sirupu,
- sušenom glukoznom sirupu,
- monohidratu dekstroze,
- bezvodnoj dekstrozi.

2. Definicija

Udio suhe materije je udio suhe materije određen opisanom metodom.

3. Princip

Udio suhe materije određuje se pri temperaturi od $70 \pm 1^\circ\text{C}$ u vakuum sušnici, pri pritisku od najviše 3,3 kPa (34 mbar). U slučaju glukoznog sirupa ili sušenog glukoznog sirupa, uzorci se prije sušenja pripremaju miješanjem s vodom i silicij dioksidom (kremeni pijesak).

4. Reagensi

Kremeni pijesak: pročistiti u Buchnerovom lijevku višekratnim ispiranjem razrijeđenom hloridnom kiselinom (1 ml koncentrirane kiseline, gustoće 1,19 g/ml pri 20°C , na litru vode). Postupak je završen kad je rastvor nakon ispiranja kiseo. Ispira se vodom sve dok pH filtrata ne postane veća od 4. Osušiti u sušnici pri $103 \pm 2^\circ\text{C}$ i skladišiti u hermetički zatvorenoj posudi.

5. Aparatura

- 5.1. Vakuum sušnica s termostatom i termometrom i vakuum manometrom. Sušnica mora biti tako konstruirana da omogući brzi prijenos toplote na posudice koje se nalaze na njenim policama.
- 5.2. Uređaj za sušenje zraka, koji se sastoji od staklene kolone napunjene svježe aktiviranim silikagelom ili ekvivalentnim adsorbensom za sakupljanje vlage i koji sadrži indikator prisustva vode. Ova je kolona postavljena u niz s nastavkom za čišćenje plina koji sadrži koncentriranu sulfatnu kiselinu i povezan je s dovodom plina u sušnicu.
- 5.3. Vakuum pumpa kojom se u sušnici može održavati pritisak od 3,3 kPa (34 mbar) ili manji.
- 5.4. Metalne posudice za vaganje s ravnim dnom, otporne na djelovanje uzorka i uslove analize, promjera najmanje 100 mm i dubine najmanje 30 mm.
- 5.5. Stakleni štapić, dovoljno dug da ne može u potpunosti upasti u posudu.
- 5.6. Eksikator sa svježe aktiviranim suhim silikagelom ili sličnim adsorbensom za sakupljanje vlage, s indikatorom prisutnosti vode.
- 5.7. Analitička vaga tačnosti od 0,1 mg.

6. Postupak

- 6.1. Usuti približno 30 g kremenog pijeska (4.1.) u posudicu za vaganje (5.4.) sa staklenim štapićem (5.5.). Postaviti u sušnicu (5.1.) pri $70 \pm 1^\circ\text{C}$ i smanjiti

pritisak na 3,3 kPa (34 mbar) ili manje. Sušiti najmanje pet sati, dovodeći spor tok zraka u sušnicu kroz uređaj za sušenje zraka. Povremeno provjeriti pritisak i u slučaju potrebe korigirati.

- 6.2. Ponovo uspostaviti atmosferski pritisak u sušnici pažljivo povećavajući dotok suhog zraka. Odmah smjestiti posudice zajedno sa staklenim štapićem u eksikator (5.6.). Ostaviti da se ohlade i tada izvagati.
- 6.3. Izvagati s tačnošću od 1 mg približno 10 g uzorka u čašu od 100 ml.
- 6.4. Razrijediti uzorak s 10 ml tople vode i rastvor kvantitativno prenijeti u posudice za vaganje koristeći stakleni štapić (5.5.).
- 6.5. Smjestiti posudice s uzorkom i staklenim štapićem u sušnicu i smanjiti pritisak na 3,3 kPa (34 mbar) ili manje. Sušiti pri $70 \pm 1^\circ\text{C}$ dovodeći spor tok zraka u sušnicu. Postupak sušenja provodi se 20 sati; najveće smanjenje mase javlja se krajem prvog dana. Nužno je da vakuum pumpa radi na prethodno prilagođenom pritisku i omogući spor dotok suhog zraka u sušnicu kako bi se tokom noći održavao pritisak od približno 3,3 kPa (34 mbar) ili manji.
- 6.6. Ponovo uspostaviti atmosferski pritisak u sušnici pažljivo povećavajući dotok suhog zraka. Odmah smjestiti posudice zajedno sa sadržajem u eksikator. Ostaviti da se ohlade i tada izvagati uz tačnost od 1 mg.
- 6.7. Nastaviti s postupkom (6.5.) još 4 sata. Ponovo uspostaviti atmosferski pritisak u sušnici i odmah smjestiti posudice u eksikator. Ostaviti da se ohlade i tada izvagati. Provjeriti da je postignuta konstantna masa. Smatra se da je konstantna masa postignuta na zadovoljavajući način ako razlika dva vaganja iste posudice ne prelazi 2 mg. Ako je razlika veća, ponoviti postupak 6.7.
- 6.8. Za određivanje udjela suhe materije u uzorcima bezvodne glukoze ili monohidrata dekstroze nije potrebno koristiti kremen i pijesak i vodu.

7. Izražavanje rezultata

7.1. Izračunavanje

Udio suhe materije, izražen kao postotak mase uzorka, dat je jednačinom:

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

gdje je:

m_0 = početna masa uzorka u gramima

m_1 = masa u gramima posudice za vaganje i kremenog pijeska, staklenog štapića i ostatka uzorka nakon sušenja

m_2 = masa u gramima posudice za vaganje, kremenog pijeska i staklenog štapića

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koja provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 0,12 g na 100 g uzorka.

METODA 3 - ODREĐIVANJE UKUPNE SUHE MATERIJE REFRAKTOMETROM

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se udio suhe materije u:

- šećernom rastvoru,
- bijelom šećernom rastvoru,
- invertnom šećernom rastvoru,
- bijelom invertnom šećernom rastvoru,
- invertnom šećernom sirupu,
- bijelom invertnom šećernom sirupu.

2. Definicija

Udio suhe materije je udio suhe materije određen opisanom metodom.

3. Princip

Indeks refrakcije uzorka određuje se pri 20°C te se udio suhe materije očitava iz tabele u kojoj je navedena koncentracija kao funkcija indeksa refrakcije.

4. Aparatura

- 4.1. Refraktometar, s tačnošću na četiri decimalna mjesta, s termometrom i pumpom za vodu povezanom s termostatski kontroliranim vodenim kupatilom temperature $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
- 4.2. Izvor svjetlosti – natrijeva svjetiljka.

5. Postupak

- 5.1. Ako su u uzorku prisutni kristali, ponovo ih otopiti razrjeđivanjem uzorka u omjeru 1:1 (m/m).
- 5.2. Izmjeriti indeks refrakcije uzorka pri 20°C refraktometrom (4.1).

6. Izražavanje rezultata

- 6.1. Izračunati udio suhe materije iz indeksa refrakcije za rastvor saharoze pri 20°C navedenog u tabeli i korigirati za prisustvo invertnog šećera, dodavanjem rezultatu iz tabele 0,022 za svakih 1 % invertnog šećera prisutnog u analiziranom uzorku.
- 6.2. Ako je uzorak bio razrijeđen vodom u omjeru 1:1 (m/m), izračunata suha materija množi se s 2.
- 6.3. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koju provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 0,2 g suhe materije na 100 g uzorka.

REFERENTNA TABELA

Refrakcijski indeksi (*n*) za rastopine saharoze pri 20° C₍₁₎

<i>n</i> (20° C)	saharoza (%)	<i>n</i> (20° C)	saharoza (%)	<i>n</i> (20° C)	saharoza (%)	<i>n</i> (20° C)	saharoza (%)	<i>n</i> (20° C)	saharoza (%)
1,3330	0,009	1,3365	2,436	1,3400	4,821	1,3435	7,164	1,3470	9,466
1,3331	0,078	1,3366	2,505	1,3401	4,888	1,3436	7,230	1,3471	9,531
1,3332	0,149	1,3367	2,574	1,3402	4,956	1,3437	7,296	1,3472	9,596
1,3333	0,218	1,3368	2,642	1,3403	5,023	1,3438	7,362	1,3473	9,661
1,3334	0,288	1,3369	2,711	1,3404	5,091	1,3439	7,429	1,3474	9,726
1,3335	0,358	1,3370	2,779	1,3405	5,158	1,3440	7,495	1,3475	9,791
1,3336	0,428	1,3371	2,848	1,3406	5,225	1,3441	7,561	1,3476	9,856
1,3337	0,498	1,3372	2,917	1,3407	5,293	1,3442	7,627	1,3477	9,921
1,3338	0,567	1,3373	2,985	1,3408	5,360	1,3443	7,693	1,3478	9,986
1,3339	0,637	1,3374	3,053	1,3409	5,427	1,3444	7,759	1,3479	10,051
1,3340	0,707	1,3375	3,122	1,3410	5,494	1,3445	7,825	1,3480	10,116
1,3341	0,776	1,3376	3,190	1,3411	5,562	1,3446	7,891	1,3481	10,181
1,3342	0,846	1,3377	3,259	1,3412	5,629	1,3447	7,957	1,3482	10,246
1,3343	0,915	1,3378	3,327	1,3413	5,696	1,3448	8,023	1,3483	10,311
1,3344	0,985	1,3379	3,395	1,3414	5,763	1,3449	8,089	1,3484	10,375
1,3345	1,054	1,3380	3,463	1,3415	5,830	1,3450	8,155	1,3485	10,440
1,3346	1,124	1,3381	3,532	1,3416	5,897	1,3451	8,221	1,3486	10,505
1,3347	1,193	1,3382	3,600	1,3417	5,964	1,3452	8,287	1,3487	10,570
1,3348	1,263	1,3383	3,668	1,3418	6,031	1,3453	8,352	1,3488	10,634
1,3349	1,332	1,3384	3,736	1,3419	6,098	1,3454	8,418	1,3489	10,699
1,3350	1,401	1,3385	3,804	1,3420	6,165	1,3455	8,484	1,3490	10,763
1,3351	1,470	1,3386	3,872	1,3421	6,231	1,3456	8,550	1,3491	10,828
1,3352	1,540	1,3387	3,940	1,3422	6,298	1,3457	8,615	1,3492	10,892
1,3353	1,609	1,3388	4,008	1,3423	6,365	1,3458	8,681	1,3493	10,957
1,3354	1,678	1,3389	4,076	1,3424	6,432	1,3459	8,746	1,3494	11,021
1,3355	1,747	1,3390	4,144	1,3425	6,498	1,3460	8,812	1,3495	11,086
1,3356	1,816	1,3391	4,212	1,3426	6,565	1,3461	8,878	1,3496	11,150
1,3357	1,885	1,3392	4,279	1,3427	6,632	1,3462	8,943	1,3497	11,215
1,3358	1,954	1,3393	4,347	1,3428	6,698	1,3463	9,008	1,3498	11,279
1,3359	2,023	1,3394	4,415	1,3429	6,765	1,3464	9,074	1,3499	11,343
1,3360	2,092	1,3395	4,483	1,3430	6,831	1,3465	9,139	1,3500	11,407
1,3361	2,161	1,3396	4,550	1,3431	6,898	1,3466	9,205	1,3501	11,472
1,3362	2,230	1,3397	4,618	1,3432	6,964	1,3467	9,270	1,3502	11,536
1,3363	2,299	1,3398	4,686	1,3433	7,031	1,3468	9,335	1,3503	11,600
1,3364	2,367	1,3399	4,753	1,3434	7,097	1,3469	9,400	1,3504	11,664
1,3505	11,728	1,3560	15,207	1,3615	18,595	1,3670	21,896	1,3725	25,114
1,3506	11,792	1,3561	15,269	1,3616	18,655	1,3671	21,955	1,3726	25,172
1,3507	11,856	1,3562	15,332	1,3617	18,716	1,3672	22,014	1,3727	25,230
1,3508	11,920	1,3563	15,394	1,3618	18,777	1,3673	22,073	1,3728	25,287
1,3509	11,984	1,3564	15,456	1,3619	18,837	1,3674	22,132	1,3729	25,345
1,3510	12,048	1,3565	15,518	1,3620	18,898	1,3675	22,192	1,3730	25,403
1,3511	12,112	1,3566	15,581	1,3621	18,959	1,3676	22,251	1,3731	25,460
1,3512	12,176	1,3567	15,643	1,3622	19,019	1,3677	22,310	1,3732	25,518
1,3513	12,240	1,3568	15,705	1,3623	19,080	1,3678	22,369	1,3733	25,576
1,3514	12,304	1,3569	15,767	1,3624	19,141	1,3679	22,428	1,3734	25,633
1,3515	12,368	1,3570	15,829	1,3625	19,201	1,3680	22,487	1,3735	25,691
1,3516	12,431	1,3571	15,891	1,3626	19,262	1,3681	22,546	1,3736	25,748
1,3517	12,495	1,3572	15,953	1,3627	19,322	1,3682	22,605	1,3737	25,806
1,3518	12,559	1,3573	16,016	1,3628	19,382	1,3683	22,664	1,3738	25,863
1,3519	12,623	1,3574	16,078	1,3629	19,443	1,3684	22,723	1,3739	25,921
1,3520	12,686	1,3575	16,140	1,3630	19,503	1,3685	22,781	1,3740	25,978
1,3521	12,750	1,3576	16,201	1,3631	19,564	1,3686	22,840	1,3741	26,035
1,3522	12,813	1,3577	16,263	1,3632	19,624	1,3687	22,899	1,3742	26,093
1,3523	12,877	1,3578	16,325	1,3633	19,684	1,3688	22,958	1,3743	26,150
1,3524	12,940	1,3579	16,387	1,3634	19,745	1,3689	23,017	1,3744	26,207
1,3525	13,004	1,3580	16,449	1,3635	19,805	1,3690	23,075	1,3745	26,265
1,3526	13,067	1,3581	16,511	1,3636	19,865	1,3691	23,134	1,3746	26,322
1,3527	13,131	1,3582	16,573	1,3637	19,925	1,3692	23,193	1,3747	26,379
1,3528	13,194	1,3583	16,634	1,3638	19,985	1,3693	23,251	1,3748	26,436
1,3529	13,258	1,3584	16,696	1,3639	20,045	1,3694	23,310	1,3749	26,493
1,3530	13,321	1,3585	16,758	1,3640	20,106	1,3695	23,369	1,3750	26,551
1,3531	13,384	1,3586	16,819	1,3641	20,166	1,3696	23,427	1,3751	26,608

1,3532	13,448	1,3587	16,881	1,3642	20,226	1,3697	23,486	1,3752	26,665
1,3533	13,511	1,3588	16,943	1,3643	20,286	1,3698	23,544	1,3753	26,722
1,3534	13,574	1,3589	17,004	1,3644	20,346	1,3699	23,603	1,3754	26,779
1,3535	13,637	1,3590	17,066	1,3645	20,406	1,3700	23,661	1,3755	26,836
1,3536	13,700	1,3591	17,127	1,3646	20,466	1,3701	23,720	1,3756	26,893
1,3537	13,763	1,3592	17,189	1,3647	20,525	1,3702	23,778	1,3757	26,950
1,3538	13,826	1,3593	17,250	1,3648	20,585	1,3703	23,836	1,3758	27,007
1,3539	13,890	1,3594	17,311	1,3649	20,645	1,3704	23,895	1,3759	27,064
1,3540	13,953	1,3595	17,373	1,3650	20,705	1,3705	23,953	1,3760	27,121
1,3541	14,016	1,3596	17,434	1,3651	20,765	1,3706	24,011	1,3761	27,178
1,3542	14,079	1,3597	17,496	1,3652	20,825	1,3707	24,070	1,3762	27,234
1,3543	14,141	1,3598	17,557	1,3653	20,884	1,3708	24,128	1,3763	27,291
1,3544	14,204	1,3599	17,618	1,3654	20,944	1,3709	24,186	1,3764	27,348
1,3545	14,267	1,3600	17,679	1,3655	21,004	1,3710	24,244	1,3765	27,405
1,3546	14,330	1,3601	17,741	1,3656	21,063	1,3711	24,302	1,3766	27,462
1,3547	14,393	1,3602	17,802	1,3657	21,123	1,3712	24,361	1,3767	27,518
1,3548	14,456	1,3603	17,863	1,3658	21,183	1,3713	24,419	1,3768	27,575
1,3549	14,518	1,3604	17,924	1,3659	21,242	1,3714	24,477	1,3769	27,632
1,3550	14,581	1,3605	17,985	1,3660	21,302	1,3715	24,535	1,3770	27,688
1,3551	14,644	1,3606	18,046	1,3661	21,361	1,3716	24,593	1,3771	27,745
1,3552	14,707	1,3607	18,107	1,3662	21,421	1,3717	24,651	1,3772	27,802
1,3553	14,769	1,3608	18,168	1,3663	21,480	1,3718	24,709	1,3773	27,858
1,3554	14,832	1,3609	18,229	1,3664	21,540	1,3719	24,767	1,3774	27,915
1,3555	14,894	1,3610	18,290	1,3665	21,599	1,3720	24,825	1,3775	27,971
1,3556	14,957	1,3611	18,351	1,3666	21,658	1,3721	24,883	1,3776	28,028
1,3557	15,019	1,3612	18,412	1,3667	21,718	1,3722	24,941	1,3777	28,084
1,3558	15,082	1,3613	18,473	1,3668	21,777	1,3723	24,998	1,3778	28,141
1,3559	15,144	1,3614	18,534	1,3669	21,836	1,3724	25,056	1,3779	28,197
1,4880	78,969	1,4920	80,497	1,4960	82,007	1,5000	83,500	1,5040	84,9
1,4881	79,008	1,4921	80,534	1,4961	82,044	1,5001	83,537	1,5041	85,0
1,4882	79,046	1,4922	80,572	1,4962	82,082	1,5002	83,574	1,5042	85,0
1,4883	79,084	1,4923	80,610	1,4963	82,119	1,5003	83,611	1,5043	85,0
1,4884	79,123	1,4924	80,648	1,4964	82,157	1,5004	83,648	1,5044	85,1
1,4885	79,161	1,4925	80,686	1,4965	82,194	1,5005	83,685	1,5045	85,1
1,4886	79,199	1,4926	80,724	1,4966	82,232	1,5006	83,722	1,5046	85,1
1,4887	79,238	1,4927	80,762	1,4967	82,269	1,5007	83,759	1,5047	85,2
1,4888	79,276	1,4928	80,800	1,4968	82,307	1,5008	83,796	1,5048	85,2
1,4889	79,314	1,4929	80,838	1,4969	82,344	1,5009	83,833	1,5049	85,3
1,4890	79,353	1,4930	80,876	1,4970	82,381	1,5010	83,870	1,5050	85,3
1,4891	79,391	1,4931	80,913	1,4971	82,419	1,5011	83,907	1,5051	85,3
1,4892	79,429	1,4932	80,951	1,4972	82,456	1,5012	83,944	1,5052	85,4
1,4893	79,468	1,4933	80,989	1,4973	82,494	1,5013	83,981	1,5053	85,4
1,4894	79,506	1,4934	81,027	1,4974	82,531	1,5014	84,018	1,5054	85,4
1,4895	79,544	1,4935	81,065	1,4975	82,569	1,5015	84,055	1,5055	85,5
1,4896	79,582	1,4936	81,103	1,4976	82,606	1,5016	84,092	1,5056	85,5
1,4897	79,620	1,4937	81,140	1,4977	82,643	1,5017	84,129	1,5057	85,5
1,4898	79,659	1,4938	81,178	1,4978	82,681	1,5018	84,166	1,5058	85,6
1,4899	79,697	1,4939	81,216	1,4979	82,718	1,5019	84,203	1,5059	85,6
1,4900	79,735	1,4940	81,254	1,4980	82,755	1,5020	84,240	1,5060	85,7
1,4901	79,773	1,4941	81,291	1,4981	82,793	1,5021	84,277	1,5061	85,7
1,4902	79,811	1,4942	81,329	1,4982	82,830	1,5022	84,314	1,5062	85,7
1,4903	79,850	1,4943	81,367	1,4983	82,867	1,5023	84,351	1,5063	85,8
1,4904	79,888	1,4944	81,405	1,4984	82,905	1,5024	84,388	1,5064	85,8
1,4905	79,926	1,4945	81,442	1,4985	82,942	1,5025	84,424	1,5065	85,8
1,4906	79,964	1,4946	81,480	1,4986	82,979	1,5026	84,461	1,5066	85,9
1,4907	80,002	1,4947	81,518	1,4987	83,016	1,5027	84,498	1,5067	85,9
1,4908	80,040	1,4948	81,555	1,4988	83,054	1,5028	84,535	1,5068	86,0
1,4909	80,078	1,4949	81,593	1,4989	83,091	1,5029	84,572	1,5069	86,0
1,4910	80,116	1,4950	81,631	1,4990	83,128	1,5030	84,609	1,5070	86,0
1,4911	80,154	1,4951	81,668	1,4991	83,165	1,5031	84,645	1,5071	86,1
1,4912	80,192	1,4952	81,706	1,4992	83,202	1,5032	84,682	1,5072	86,1
1,4913	80,231	1,4953	81,744	1,4993	83,240	1,5033	84,719	1,5073	86,1
1,4914	80,269	1,4954	81,781	1,4994	83,277	1,5034	84,756	1,5074	86,2
1,4915	80,307	1,4955	81,819	1,4995	83,314	1,5035	84,792	1,5075	86,2
1,4916	80,345	1,4956	81,856	1,4996	83,351	1,5036	84,829	1,5076	86,2
1,4917	80,383	1,4957	81,894	1,4997	83,388	1,5037	84,866	1,5077	86,3
1,4918	80,421	1,4958	81,932	1,4998	83,425	1,5038	84,903	1,5078	86,3
1,4919	80,459	1,4959	81,969	1,4999	83,463	1,5039	84,939	1,5079	86,3

METODA 4 - ODREĐIVANJE REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA IZRAŽENIH KAO INVERTNI ŠEĆER (METODA BERLINSKOG INSTITUTA)

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se sadržaj reducirajućih šećera, izraženih kao invertni šećer, u polubijelom šećeru.

2. Definicija

Reducirajući šećeri izraženi kao invertni šećer je količina reducirajućih šećera određena opisanom metodom.

3. Princip

Rastvor uzorka koji sadrži reducirajuće šećere koristi se za redukciju rastvora Cu (II) kompleksa. Nastali bakar (I) oksid tada se oksidira standardnim rastvorom joda, čiji se višak određuje povratnom titracijom standardnog rastvora natrij tiosulfata.

4. Reagensi

- 4.1. Rastvor bakra (II) (Müllerov rastvor)
 - 4.1.1. Otopiti 35 g bakar (II) sulfat pentahidrata ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) u 400 ml vrele vode. Pustiti da se ohladi.
 - 4.1.2. Otopiti 173 g natrij-kalij-tartarat tetrahidrata (Rochelle sol ili Seignette sol; $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) i 68 g bezvodnog natrij karbonata u 500 ml vrele vode. Pustiti da se ohladi.
 - 4.1.3. Preliti oba rastvora (4.1.1. i 4.1.2.) u odmjernu tikvicu od jednog litra i dopuniti vodom do 1 L. Dodati 2 g aktivnog uglja, protresti, ostaviti da stoji nekoliko sati i filtrirati preko debelog filter papira ili membranskog filtera.
Ako se tokom čuvanja pojave male količine bakar (I) oksida, ponovo profiltrirati rastvor.
- 4.4. Rastvor sirćetne kiseline, 5 mol/l
- 4.5. Rastvor joda, 0,01665 mol/l (tj. 0,0333 N, 4,2258 g/l)
- 4.6. Rastvor natrij tiosulfata, 0,0333 mol/l
- 4.7. Rastvor škroba: jednom litru vrele vode dodati suspenziju 5 g topljivog škroba u 30 ml vode. Pustiti da vrije tri minute, ostaviti da se ohladi i dodati, ako je potrebno, 10 mg živa (II) jodida kao konzervans.

5. Aparatura

- 5.1. Erlenmeyerova tikvica, 300 ml; birete i pipete
- 5.2. Vodena kupatila, vrela

6. Postupak

- 6.1. Odvagati uzorak (10 g ili manje) koji sadrži do 30 mg invertnog šećera u Erlenmeyerovu tikvicu od 300 ml i otopiti u približno 100 ml vode.
Otpipetirati 10 ml rastvora bakra (II) (4.1) u Erlenmeyerovu tikvicu koja sadrži rastvor uzorka. Kružnim pokretima izmiješati sadržaj tikvice i smjestiti tikvicu u kipuće vodeno kupatilo (5.2) na tačno 10 minuta.

Nivo rastvor u Erlenmeyerovoj tikvici treba biti bar 20 mm ispod nivoa vode u vodenom kupatilu. Brzo ohladiti tikvicu mlazom hladne vode. Pritom se rastvor ne smije miješati kako atmosferski kisik ne bi ponovo oksidirao istaloženi bakar (I) oksid.

Dodati pipetom 5 ml 5 mol/l sirćetne kiseline (4.2) bez protresanja i odmah dodati u višku (između 20 i 40 ml) rastvora joda 0,01665 mol/l (4.3) iz birete. Izmiješati kako bi se otopio talog bakra. Titrirati višak joda 0,0333 mol/l rastvorom natrij tiosulfata (4.4) koristeći rastvor joda kao indikator. Indikator se dodaje pri kraju titracije.

- 6.2. Provesti slijepu probu s vodom. Ovo se provede sa svakim novim rastvorom bakra (II) (4.4). Titracija ne smije prelaziti 0,1 ml.
- 6.3. Provesti kontrolnu probu s rastvorom šećera u hladnim uslovima. Ostaviti da stoji na sobnoj temperaturi 10 minuta kako bi reagirale sve eventualno prisutne reducirajuće materije kao što je sumpordioksid.

7. Izražavanje rezultata

7.1. Izračunavanje

Volumen upotrijebljenog rastvora joda = ml 0,01665 mol/l joda dodatog u višku minus ml 0,0333 mol/l natrij tiosulfata korištenog pri titraciji.

Volumen (u ml) 0,01665 mol/l utrošenog joda korigira se oduzimanjem:

- 7.1.1. Broja ml utrošenih u slijepoj probi provedenoj s vodom (6.2).
- 7.1.2. Broja ml utrošenih u hladnoj probi sa šećernim rastvorom (6.3).
- 7.1.3. Vrijednosti 2,0 ml za svakih 10 g saharoze prisutne u upotrijebljenom alikvotu, ili proporcionalne količine ako uzorak sadrži manje od 10 g saharoze (korekcija za saharozu).

Nakon ovih korekcija, svaki ml rastvora joda (4.3) koji je reagirao odgovara 1 mg invertnog šećera.

Sadržaj invertnog šećera, izražen kao udio u uzorku, dat je jednačinom:

$$\frac{V_1}{10 \times m_0}$$

gdje je:

V_1 = broj ml rastvora joda (4.3) nakon korekcije,

m_0 = masa u gramima upotrijebljenog uzorka.

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koja provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 0,02 g na 100 g uzorka.

METODA 5 - ODREĐIVANJE REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA IZRAŽENIH KAO INVERTNI ŠEĆER PO KNIGHTU I ALLENU

1. Svrha i oblast primjene

Ovom metodom određuje se udio reducirajućih šećera izraženih kao invertni šećer u:

- šećeru ili bijelom šećeru,
- ekstra bijelom šećeru.

2. Definicija

Reducirajući šećeri izraženi kao invertni šećer je udio reducirajućih šećera određen opisanom metodom.

3. Princip

Rastvoru uzorka dodati ostatak bakar (II) reagensa. Bakreni ioni se reduciraju, a nereducirani bakreni ioni titiraju se rastvorom diamin tetrasirćetne kiseline (di-natrijeva so) (u daljnjem tekstu: EDTA).

4. Reagensi

- 4.1. Rastvor EDTA, 0,0025 mol/l: otopiti 0,930 g EDTA u vodi i dopuniti vodom do 1 l.
- 4.2. Rastvor mureksid indikatora: u 50 ml vode otopiti 0,25 g mureksida i dodati 20 ml 0,2 g/100 ml rastvora metilenskog plavog.
- 4.3. Alkalni bakreni reagens: otopiti 25 grama bezvodnog natrij karbonata (Na_2CO_3) i 25 grama kalij natrij tartarat tetrahidrata (Rochelle sol) u oko 600 ml vode koja sadrži 40 ml 1,0 mol/l NaOH, u tikvici od 1 litre. Otopiti 6,0 grama bakar (II) sulfat pentahidrata ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) u oko 100 ml vode i dodati kvantitativno rastvoru alkalnog tartarata. Razrijediti smjesu do 1 litra, te jako promiješati.
Napomena: rastvor ima ograničen rok trajanja (jednu sedmicu).
- 4.4. Standardni rastvor invertnog šećera: u odmjernoj tikvici od 250 ml otopiti 23,750 g čiste saharoze (4.5) u približno 120 ml vode, dodati 9 ml hloridne kiseline ($\rho=1,16$) i ostaviti stajati osam dana pri sobnoj temperaturi. Rastvor dopuniti do 250 ml i mjerenjem polarimetrom ili saharimetrom u 200 mm cijevi provjeriti da li je hidroliza potpuna. Vrijednost mora biti $11,80^\circ \pm 0,05^\circ\text{S}$ (vidjeti napomenu pod 8). 200 ml tog rastvora otpipetirati u odmjernu tikvicu od 2000 ml. Razrijediti vodom i uz protresanje (da ne bi došlo do prevelike lokalne alkalnosti) dodati 71,4 ml rastvora natrij hidroksida (1 mol/l) u kojoj je otopljeno 4 g benzojeve kiseline. Dopuniti do 2000 ml da se dobije rastvor invertnog šećera 1 g/ 100 ml pH rastvora mora biti približno 3.
Taj stabilni osnovni rastvor smije se razrijediti neposredno prije upotrebe.
- 4.5. Čista saharoza: uzorak čiste saharoze koji sadrži do 0,001 g invertnog šećera /100 g.

5. Aparatura

- 5.1. Epruvete: 150 mm x 20 mm.
- 5.2. Bijela porculanska zdjelica.
- 5.3. Analitička vaga tačnosti od 0,1 mg.

6. Postupak

- 6.1. U epruvetu (5.1) izvagati tačno 5 g uzorka šećera i otopiti u 5 ml hladne vode. Dodati tačno 2,0 ml rastvora alkalnog bakrenog reagensa (4.3) i promiješati. Epruvetu uroniti u ključalo vodeno kupatilo na pet minuta, a zatim brzo ohladiti hladnom vodom.
- 6.2. Prenijeti kvantitativno sadržaj epruvete u bijelu porculansku zdjelicu (5.2), koristeći što manje vode, te dodati tri kapi indikatora (4.2) te titrirati rastvorom EDTA (4.1). V_0 je broj ml EDTA upotrijebljen pri titraciji.
Neposredno prije završne tačke boja rastvora mijenja se od zelene preko sive do ljubičaste što je završna tačka. Završna tačka treba se tačno i brzo očitati pri prvoj pojavi potpuno ljubičaste boje jer će ljubičasta boja polako nestati zbog oksidacije bakar (I) oksida u bakar (II) oksid, a brzina zavisi od prisutne količine reduciranog bakra.
- 6.3. Konstruirati kalibracionu krivu dodajući poznate količine invertnog šećera (u obliku prikladno razrijeđenog rastvora 4.4) sa 5 g čiste saharoze (4.5) i dodati toliko hladne vode da je ukupno dodato 5 ml rastvora. Nacrtati dijagram: volumeni upotrijebljeni u titraciji (u ml) u zavisnosti od udjela invertnog šećera dodatog u 5 g saharoze: dobiveni dijagram je linearan u području 0,001 do 0,019 g/100 g invertnog šećera/100 g uzorka.

7. Izražavanje rezultata

- 7.1. Izračunavanje
Iz baždane kriva očitati udio invertnog šećera koji odgovara vrijednosti V_0 ml EDTA upotrijebljene pri analizi uzorka.
- 7.2. Za uzorke koji imaju udio invertnog šećera veći od 0,017 % uzima se u postupku (6.1) umanjena količina uzorka i dodaje čista saharoza (4.5) kako bi se pripremio standardni 5-gramski alikvot za analize.
- 7.3. Ponovljivost
Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koja provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 0,005 g na 100 g uzorka.
Napomena:
Za pretvorbu °S u polarimetrijske stepene dijele se °S s 2,889 (cijevi od 200 mm; izvor svjetlosti natrijeva svjetiljka; instrument mora biti instaliran u prostoriji u kojoj se temperatura može održavati na približno 20°C).

METODA 6 - ODREĐIVANJE REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA IZRAŽENIH KAO INVERTNI ŠEĆER ILI DEKSTROZNI EKVIVALENT (LUFF-SCHOORLOVA METODA)

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se:

- 1.1. Količina reducirajućih šećera izražena kao invertni šećer u:
 - šećernom rastvoru,
 - rastvoru bijelog šećera,

- rastvoru invertnog šećera,
 - rastvoru bijelog invertnog šećera,
 - invertnom šećernom sirupu,
 - invertnom bijelom šećernom sirupu.
- 1.2. Količina reducirajućih šećera izražena i izračunata (na bazi suhe materije) kao dekstrozni ekvivalent u:
- glukoznom sirupu,
 - sušenom glukoznom sirupu.
- 1.3. Količina reducirajućih šećera izražena kao D-glukoza u:
- dekstroza monohidratu,
 - bezvodnoj dekstrozi.

2. Definicija

Reducirajući šećeri izraženi kao invertni šećeri, D-glukoza ili dekstrozni ekvivalent je količina reducirajućih šećera izražena ili izračunata kao invertni šećer, D-glukoza ili dekstrozni ekvivalent, određena opisanom metodom.

3. Princip

Reducirajući šećeri u uzorku (ako je potrebno prečišćenom) zagrijevaju se do vrenja u standardiziranim uslovima s rastvorom bakra (II), koji se djelimično reducira u bakar (I). Bakar (II) u ostatku potom se određuje jodometrijski.

4. Reagensi

- 4.1. Carrezov rastvor (I): otopiti 21,95 g cink acetat dihidrata ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (ili 24 g cink acetat trihidrata ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) i 3 ml ledene sirćetne kiseline u vodi i dopuniti do 100 ml vodom.
- 4.2. Carrezov rastvor (II): otopiti 10,6 g kalij heksacijanoferat (II) trihidrata $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ u vodi i dopuniti do 100 ml vodom.
- 4.3. Luff-Schoorlov reagens: pripremiti sljedeće rastvore:
- 4.3.1. Rastvor bakar (II) sulfata: u 100 ml vode otopiti 25 g bakar (II) sulfat pentahidrata ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) koji ne sadrži željezo.
- 4.3.2. Rastvor limunske kiseline: otopiti 50 g monohidrata limunske kiseline ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) u 50 ml vode.
- 4.3.3. Rastvor natrij karbonata: otopiti 143,8 bezvodnog natrij karbonata u oko 300 ml tople vode i ostaviti da se ohladi.
- 4.3.4. Dodati rastvor limunske kiseline (4.3.2) rastvoru natrij karbonata (4.3.3) u odmjernoj tikvici od jedne litre, miješajući laganim kružnim pokretima. Miješati kružnim pokretima dok burna reakcija ne prestane, a zatim dodati rastvor bakar (II) sulfata (4.3.1) i dopuniti do 1000 ml vodom. Ostaviti rastvor da stoji preko noći i zatim filtrirati ako je potrebno. Provjeriti molarnost dobivenog reagensa metodom opisanom u 6.1 (Cu 0,1 mol/l; Na_2CO_3 1 mol/l).
- 4.4. Rastvor natrij tiosulfata, 0,1 mol/l.
- 4.5. Rastvor škroba: jednom litru kipuće vode dodati suspenziju 5 g topljivog škroba u 30 ml vode. Neka vrije tri minute, a zatim ostaviti da se ohladi i

- dodati, ako je potrebno, 10 mg živa (II) jodida kao konzervans.
- 4.6. Sulfatna kiselina, 3 mol/l.
- 4.7. Rastvor kalij jodida, 30 % (m/v).
- 4.8. Listići plovuća, prokuhani u hloridnoj kiselini, isprani vodom do neutralnosti i zatim osušeni.
- 4.9. Izopentanol
- 4.10. Natrij hidroksid, 0,1 mol/l.
- 4.11. Hloridna kiselina, 0,1 mol/l.
- 4.12. Rastvor fenolftaleina, 1 % (m/v) u etanolu.

5. Aparatura

- 5.1. Erlenmeyerova tikvica, 300 ml, s povratnim hladilom.
- 5.2. Štoperica

6. Postupak

- 6.1. Standardizacija Luff-Schoorlovog reagensa (4.3).
 - 6.1.1. U 25 ml Luff-Schoorlovog reagensa (4.3) dodati 3 g kalij jodida i 25 ml 3 mol/l sulfatne kiseline (4.6). Titrirati 0,1 mol/l natrij tiosulfatom (4.4) koristeći rastvor škroba (4.5) kao indikator dodat pred kraj titracije. Ako volumen upotrijebljenog 0,1 mol/l natrij tiosulfata nije 25 ml, reagens se mora ponovo pripremiti.
 - 6.1.2. Otpipetirati 10 ml reagensa u odmjernu tikvicu od 100 ml i razrijediti do oznake vodom.
 Otpipetirati 10 ml razrijeđenog reagensa u 25 ml 0,1 mol/l hloridne kiseline (4.11) u Erlenmeyerovoj tikvici i zagrijavati 1 sat u kipućem vodenom kupatilu. Ohladiti, dopuniti do originalnog volumena svježe zavreloom vodom i titrirati 0,1 mol/l natrij hidroksidom (4.10) koristeći fenolftalein (4.12) kao indikator.
 Volumen upotrijebljenog 0,1 mol/l natrij hidroksida (4.10) mora biti između 5,5 i 6,5 ml.
 - 6.1.3. Titrirati 10 ml razrijeđenog reagensa (6.1.2) 0,1 mol/l hloridnom kiselinom (4.11) koristeći fenolftalein (4.12) kao indikator. U završnoj tački titracije nestaje ljubičasta boja.
 Volumen upotrijebljene 0,1 mol/l hloridne kiseline (4.11) mora biti između 6,0 i 7,5 ml.
 - 6.1.4. pH Luff-Schoorlovog reagensa mora biti između 9,3 i 9,4 pri 20°C.
- 6.2. Priprema rastvora
 - 6.2.1. S tačnošću od 1 mg izvagati 5 g uzorka i kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu od 250 ml, s 200 ml vode. Izbistriti, ako je potrebno, dodavanjem 5 ml Carrezovog rastvora (I) (4.1) i zatim 5 ml Carrezovog rastvora (II) (4.2). Izmiješati nakon svakog dodatka. Dopuniti vodom do 250 ml. Dobro izmiješati. Filtrirati ako je potrebno.
 - 6.2.2. Razrijediti rastvor (6.2.1) tako da 25 ml rastvora sadrži 15-60 mg reducirajućih šećera izraženih kao glukoza.
- 6.3. Titracija po Luff-Schoorlovoj metodi
 Otpipetirati 25 ml Luff-Schoorlovog reagensa (4.3) u Erlenmeyerovu tikvicu

od 300 ml (5.1). Otpipetirati 25 ml rastvora šećera (6.2.2) u Erlenmeyerovu tikvicu i dodati dva listića plovućca (4.8). Spojiti povratno hladilo na Erlenmeyerovu tikvicu (5.1) i odmah smjestiti aparaturu na azbestnu mrežicu iznad Bunsenovog plamenika. Mrežica mora imati azbestni dio istog promjera kao dno tikvice. Zagrijavati tekućinu do vrenja u periodu od oko dvije minute i pustiti da lagano vrije tačno deset minuta. Odmah ohladiti hladnom vodom i nakon pet minuta titrirati kako slijedi:

Dodati 10 ml rastvora kalij jodida (4.7) i odmah zatim oprezno (zbog burne reakcije) dodati 25 ml 3 mol/l sulfatne kiseline (4.6). Titrirati 0,1 mol/l rastvorom natrij tiosulfata (4.4) dok rastvor ne postane gotovo bezbojan, zatim dodati nekoliko ml rastvora škroba (4.5) kao indikator i nastaviti titraciju dok plava boja ne nestane.

Provesti kontrolnu probu koristeći 25 ml vode umjesto 25 ml rastvora šećera (6.2.2).

7. Izražavanje rezultata

7.1. Jednačina i izračunavanje

Iz tabele ispod očitati (interpolirati ako je potrebno) masu glukoze ili invertnog šećera u mg koja odgovara razlici između dva očitavanja titracija, izražena u ml 0,1 mol/l natrij tiosulfata.

Izraziti rezultat kao invertni šećer ili D-glukozu u postocima (m/m) suhe materije.

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dvije titracije istog uzorka, koje provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 0,2 ml.

Napomena:

Mala količina izopentanol (4.9) može se dodati prije zakiseljavanja sulfatnom kiselinom kako bi se smanjilo pjenjenje.

Tabele vrijednosti prema Luff-Schoorlovom reagensu

0,1 mol/l ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ml	Glukoza, fruktoza, invertni šećeri $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	
	mg	razlika
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	25,0	2,6
11	27,6	2,6

12	30,3	2,7
13	33,0	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	50,0	2,9
20	53,0	3,0
21	56,0	3,0
22	59,1	3,1
23	62,2	3,1

METODA 7 - ODREĐIVANJE REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA IZRAŽENIH KAO INVERTNI ŠEĆER PO METODI LANE I EYNONA

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuju se reducirajući šećeri, izraženi kao invertni šećer, u:

- šećernom rastvoru,
- rastvoru invertnog šećera,
- rastvoru bijelog invertnog šećera,
- sirupu invertnog šećera,
- sirupu bijelog invertnog šećera.

2. Definicija

Reducirajući šećeri izraženi kao invertni šećer je količina reducirajućih šećera određena opisanom metodom.

3. Princip

Određeni volumen pripremljenog Fehlingovog rastvora titrirati u tački vrenja rastvorom uzorka uz korištenje metilenskog plavog kao unutrašnjeg indikatora.

4. Reagensi

4.1. Fehlingov rastvor:

4.1.1. Rastvor A: Otopiti 69,3 g bakar(II)sulfat pentahidrata ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) u destiliranoj vodi i dopuniti do oznake u odmjernoj tikvici od 1000 ml.

4.1.2. Rastvor B: Otopiti u destiliranoj vodi 346,0 g natrij kalij tartrat tetrahidrata ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) i 100,0 g natrijeva hidroksida (NaOH). Dopuniti do oznake u odmjernoj tikvici od 1000 ml. Prije upotrebe odliti bistar rastvor od taloga koji vremenom može nastati.

Napomena: Ova dva rastvora (4.1.1. i 4.1.2.) treba da budu pohranjena u smeđe boce ili boce boje čilibara.

- 4.2. Rastvor natrij hidroksida, 1 mol/l.
- 4.3. Standardni rastvor invertnog šećera: u odmjernoj tikvici od 250 ml otopiti 23,750 g čiste saharoze (4.5) u približno 120 ml vode, dodati 9 ml hloridne kiseline ($p=1,16$) i ostaviti da stoji osam dana na sobnoj temperaturi. Rastvor dopuniti do 250 ml i mjerenjem polarimetrom ili saharimetrom u 200 mm cijevi provjeriti da li je hidroliza potpuna. Vrijednost mora biti $11,80^\circ \pm 0,05^\circ S$ (vidjeti napomenu pod 8). 200 ml tog rastvora otpipetirati u odmjernu tikvicu od 2000 ml. Razrijediti vodom i uz protresanje (da ne bi došlo do prevelike lokalne alkalnosti) dodati 71,4 ml rastvora natrij hidroksida (1 mol/l) u kojem je otopljeno 4 g benzojeve kiseline. Dopuniti do 2000 ml da se dobije rastvor invertnog šećera 1 g/100 ml pH rastvora mora biti približno 3.
- Taj stabilni osnovni rastvor smije se razrijediti neposredno prije upotrebe.
- Za pripremu 0,25 g/100 ml rastvora invertnog šećera napuniti odmjernu tikvicu od 250 ml pri 20°C do oznake 1 g/100 ml rastvorom invertnog šećera. Sadržaj tikvice prelići u odmjernu tikvicu od 1000 ml i dopuniti vodom do oznake (pri 20°C).
- 4.4. Rastvor metilenskog plavog, 1 g/100 ml.

5. Aparatura

- 5.1. Laboratorijska tikvica od vatrostalnog stakla sa uskim grlom, 500 ml
- 5.2. Bireta, 50 ml, sa slavinom i vrhom za isticanje postavljenim okomito na os birete, graduirana na 0,05 ml.
- 5.3. Graduirane pipete, 20 ml, 25 ml i 50 ml
- 5.4. Odmjerne tikvice, 250 ml, 1000 ml i 2000 ml
- 5.5. Plamenik, koji omogućava vrenje pod uslovima opisanim u 6.1, i omogućava uočavanje završne tačke promjene boje bez potrebe uklanjanja tikvice (5.1) od izvora toplote.
- 5.6. Štoperica.

6. Postupak

- 6.1. Standardizacija Fehlingovog rastvora
- 6.1.1. U čistu, suhu čašu otpipetirati 50 ml rastvora B (4.1.2.), a zatim 50 ml rastvora A (4.1.1.) i dobro izmiješati.
- 6.1.2. Očistiti i napuniti biretu 0,25 %-tnom (0,25 g/100 ml) standardnim rastvorom invertnog šećera (4.3.).
- 6.1.3. Otpipetirati alikvot od 20 ml miješanog rastvora A i B (6.1.1.) u tikvicu od vatrostalnog stakla od 500 ml (5.1). Dodati 15 ml vode u tikvicu. Ispustiti iz birete 39 ml rastvora invertnog šećera, dodati malu količinu kuglica za vrenje i laganim kružnim pokretima izmiješati sadržaj tikvice.
- 6.1.4. Zagrijati tikvicu i sadržaj do vrenja i ostaviti da vrije tačno dvije minute; tikvica se ne smije ukloniti s plamenika tokom daljnjeg postupka niti vrenje smije prestati.
- Dodati 3-4 kapi rastvora metilenskog plavog (4.4.) na kraju perioda vrenja od dvije minute: rastvor mora biti plave boje.
- 6.1.5. Nastaviti standardizaciju dodajući postupno iz birete standardni rastvor invertnog šećera, najprije po 0,2 ml; zatim 0,1 ml i konačno kap po kap do završne tačke. U završnoj tački nestaje plava boja metilenskog plavog. Rastvor

- poprima crvenkastu boju kao rezultat suspendiranog bakar (I) oksida.
- 6.1.6. Završna tačka trebalo bi da bude postignuta tri minute od početka vrenja rastvora. Konačni titar, V_0 , treba biti između 39,0 i 41,0 ml. Ako je V_0 van tih granica, podesiti koncentraciju bakra Fehlingovog rastvora A (4.1.1.) i ponoviti postupak standardizacije.
- 6.2. Priprema rastvora uzorka
Koncentracija rastvora uzorka treba biti takva da sadrži između 250 i 400 mg invertnog šećera u 100 ml.
- 6.3. Prethodna proba
- 6.3.1. Prethodna proba mora se provesti kako bi se osiguralo da je količina vode koja se dodaje u 20 ml miješanog rastvora A i B dovoljna da se dobije konačni volumen nakon titracije od 75 ml.
Provesti isti postupak kao što je opisano u 6.1.4., osim što se koristi rastvor uzorka umjesto standardnog rastvora invertnog šećera, tj. 25 ml rastvora uzorka ispusti se u tikvicu iz birete. Dodati 15 ml vode i pustiti da vrije dvije minute, a zatim titrirati do postizanja završne tačke kako je opisano u 6.1.5.
- 6.3.2. Ako nakon dodavanja rastvora metilenskog plavog ostane crvenkasta boja, rastvor uzorka ima preveliku koncentraciju. U tom slučaju, probu treba odbaciti i ponoviti s rastvorom uzorka manje koncentracije.
Ako je potrebno više od 50 ml rastvora uzorka za dobivanje crvenkaste boje, mora se upotrijebiti rastvor uzorka veće koncentracije.
Količina vode koju je potrebno dodati računa se oduzimanjem volumena miješane Fehlingovog rastvora (20 ml) i rastvora uzorka od 75 ml.
- 6.4. Završna analiza rastvora uzorka
- 6.4.1. U tikvicu od vatrostalnog stakla otpipetirati 20 ml miješane Fehlingovog rastvora i količinu vode određenu kako je opisano u 6.3.
- 6.4.2. Dodati iz birete određeni titar rastvora uzorka (kako je određeno u 6.3.) minus 1 ml. Dodati kuglice za vrenje, izmiješati sadržaj tikvice kružnim pokretima, zagrijati tikvicu i sadržaj do vrenja i titrirati kako je opisano (6.3.). Završna tačka trebalo bi da bude postignuta jednu minutu od trenutka dodavanja rastvora metilenskog plavog. Konačni titar = V_1 .

7. Izražavanje rezultata

7.1. Izračunavanje

Udio reducirajućih šećera u uzorku, izračunat kao invertni šećer, dat je jednačinom:

$$\% \text{ reducirajućih šećera (kao invertni šećer)} = \frac{V_0 \times 25 \times f}{C_0 \times V_1},$$

Gdje je:

C = koncentracija rastvora uzorka u g na 100 ml

V_0 = volumen standardnog invertnog rastvora upotrijebljen pri standardizacijskoj titraciji, u ml,

V_1 = volumen rastvora uzorka upotrijebljen pri titraciji (6.4.2), u ml,

f = faktor korekcije kojim se uzima u obzir koncentracija saharoze u rastvoru uzorka. Vrijednosti su prikazane u tabeli:

Saharoza (g u kipućoj smjesi)	f faktor korekcije
0	1,000
0,5	0,982
1,0	0,971
1,5	0,962
2,0	0,954
2,5	0,946
3,0	0,939
3,5	0,932
4,0	0,926
4,5	0,920
5,0	0,915
5,5	0,910
6,0	0,904
6,5	0,898
7,0	0,893
7,5	0,888
8,0	0,883
8,5	0,878
9,0	0,874
9,5	0,869
10,0	0,864

Korekcije za različite količine saharoze u rastvoru uzorka mogu se izračunavati iz tabele interpolacijom.

Napomena:

Približna koncentracija saharoze može se izračunati tako da se od ukupne koncentracije otopljenih čvrstih materija, izraženih kao saharoza, koji se određuju pomoću indeksa refrakcije rastvora koristeći Metodu 3. ovog aneksa, oduzme koncentracija otopljenih čvrstih materija, koji potiču od invertnog šećera (za potrebe ovog izračuna $f=1$).

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koja provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 1,0 % njihove aritmetičke sredine.

Napomena:

Za pretvorbu $^{\circ}\text{S}$ u polarimetrijske stepene podijeliti $^{\circ}\text{S}$ sa 2,889 (cijevi od 200 mm; izvor svjetlosti natrijeva svjetiljka; instrument mora biti instaliran u prostoriji u kojoj se temperatura može održavati na približno 20°C).

METODA 8 - ODREĐIVANJE REDUCIRAJUĆE SNAGE I DEKSTROZNOG

EKVIVALENTA DE PO METODI LANE I EYNONA

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se dekstrozni ekvivalent svih škrobnih hidrolizata (glukoznog sirupa, sušenog glukoznog sirupa, dekstroze monohidrata i bezvodne dekstroze).

2. Definicije

- 2.1. *Reducirajuća snaga* je količina reducirajućih šećera, određena opisanom metodom, izražena kao bezvodna dekstroza (D-glukoza) i izračunata kao maseni udio u uzorku.
- 2.2. *Dekstrozni ekvivalent* je reducirajuća snaga, izračunata kao maseni udio u suhoj materiji uzorka.

3. Princip

Određeni volumen pripremljene Fehlingovog rastvora titrira se rastvorom uzorka pri temperaturi ključanja uz korištenje kao unutrašnjeg indikatora metilenskog plavog.

4. Reagensi

- 4.1. Fehlingovov rastvor:
 - 4.1.1. Rastvor A: Otopiti 69,3 g bakar(II)sulfat pentahidrata ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) u destiliranoj vodi i dopuniti do oznake u odmjernoj tikvici od 1000 ml.
 - 4.1.2. Rastvor B: Otopiti u destiliranoj vodi 346,0 g natrij kalij tartrat tetrahidrata ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) i 100 g natrijeva hidroksida (NaOH). Dopuniti do oznake u odmjernoj tikvici od 1000 ml. Prije upotrebe odliti bistar rastvor od taloga koji vremenom može nastati.

Napomena: Ova dva rastvora (4.1.1. i 4.1.2.) treba da budu pohranjena u smeđe boce ili boce boje čilibara.
 - 4.1.3. Priprema miješanog Fehlingovog rastvora
Staviti pipetom 50 ml rastvora B (4.1.2.) te potom 50 ml rastvora A (4.1.1.) u čistu i suhu čašu i dobro promiješati.

Napomena:
Miješani Fehlingov rastvor ne smije se pohranjivati nego se svaki dan napravi svjež i standardizira (6.1).
- 4.2. Bezvodna dekstroza (D-glukoza) ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Prije upotrebe glukozu je potrebno sušiti četiri sata u vakuum sušnici na temperaturi $100 \pm 1^\circ\text{C}$ ili manje i pri unutrašnjem pritisku približno 10 kPa (103 mbar).
- 4.3. Standardni rastvor dekstroze, 0,600 g/100 ml. Izvagati s tačnošću od 0,1 mg, 0,6 g osušene bezvodne D-glukoze (4.2.), otopiti je u vodi, rastvor kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu od 100 ml (5.4), dopuniti vodom do oznake i promiješati.

Ovaj rastvor mora se uvijek svježe pripremiti prije upotrebe.
- 4.4. Rastvor metilenskog plavog ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 0,1 g/100 ml.
U 100 ml vode otopiti 0,1 g metilenskog plavog.

5. Aparatura

- 5.1. Laboratorijska tikvica od vatrostalnog stakla sa uskim grlom, 250 ml
- 5.2. Bireta, 50 ml, sa slavinom i vrhom za isticanje postavljenim okomito na os birete, graduirana na 0,05 ml.
- 5.3. Graduirane pipete, 25 ml i 50 ml
- 5.4. Odmjerne tikvice, 100 ml i 500 ml
- 5.5. Plamenik, koji omogućava vrenje pod uslovima opisanim u 6.1 i omogućava uočavanje završne tačke promjene boje bez potrebe uklanjanja tikvice (5.1) od izvora toplote (vidjeti 6.1, napomena 3).
- 5.6. Štoperica.

6. Postupak

- 6.1. Standardizacija Fehlingovog rastvora
 - 6.1.1. Otpipetirati 25 ml Fehlingovog rastvora (4.1.3.) u čistu, suhu tikvicu (5.1.)
 - 6.1.2. Napuniti biretu (5.2.) standardnim rastvorom dekstroze (4.3.) i podesiti menisk na 0.
 - 6.1.3. U tikvicu (5.1.) ispustiti iz birete 18 ml standardnog rastvora dekstroze (4.3). Kružnim pokretima izmiješati sadržaj tikvice.
 - 6.1.4. Tikvicu postaviti na plamenik (5.5) koji je prethodno podešen tako da vrenje počne nakon 120 ± 15 sekundi.
Plamenik se tokom titracije ne smije dodatno podešavati (vidjeti napomenu pod 1).
 - 6.1.5. Kad počne vrenje, uključiti štopericu.
 - 6.1.6. Sadržaj tikvice ostaviti da vrije 120 sekundi, mjereći vrijeme štopericom.
Pri kraju vrenja dodati 1 ml rastvora metilenskog plavog (4.4.).
 - 6.1.7. Nakon 120 sekundi vrenja (mjerenih štopericom) početi u tikvicu (5.1) iz birete (6.1.2.) dodavati po 0,5 ml standardnog rastvora dekstroze dok u potpunosti ne nestane boja metilenskog plavog (vidjeti napomenu pod 2 i 3).
Zabilježiti ukupni volumen dodatog standardnog rastvora dekstroze uključujući predposljednje dodavanje 0,5 ml (X ml).
 - 6.1.8. Ponoviti postupak pod 6.1.1. i 6.1.2.
 - 6.1.9. U tikvicu (5.1) iz birete uliti volumen standardnog rastvora dekstroze jednak (X-0,3) ml.
 - 6.1.10. Ponoviti postupak pod 6.1.4., 6.1.5 i 6.1.6.
 - 6.1.11. Nakon 120 sekundi vrenja (mjereno štopericom) početi u tikvicu (5.1) iz birete (6.1.2) dodavati standardni rastvor dekstroze, najprije po 0,2 ml, zatim kap po kap, dok ne nestane boja metilenskog plavog.
Pri kraju postupka standardni rastvor glukoze mora se dodavati u intervalima od 10 do 15 sekundi.
Titracija bi trebalo da bude završena u periodu do 60 sekundi, a ukupno vrijeme vrenja ne smije biti duže od 180 sekundi.
Možda će biti potrebna i treća titracija, s malo većim, prikladno podešenim, početnim dodatkom standardnog rastvora dekstroze (6.1.9).
 - 6.1.12. Zabilježiti volumen (V_0 , ml) standardnog rastvora dekstroze, upotrijebljen do tačke ekvivalencije pri posljednjoj titraciji (vidjeti napomenu pod 4).

- 6.1.13. V_0 mora biti između 19,0 i 21,0 ml standardnog rastvora dekstroze (4.3). Ako je V_0 van tog područja, prilagoditi koncentraciju Fehlingovog rastvora (4.1.1.) te ponoviti standardizaciju.
- 6.1.14. Budući da je V_0 poznat, za svakodnevnu standardizaciju miješanog Fehlingovog rastvora potrebna je samo jedna titracija s početnim volumenom ($V_0 - 0,5$) ml standardnog rastvora dekstroze.

Napomena 1:

Ovim se osigurava da, kad počne vrenje, stvaranje pare bude neprekidno, čime se u najvećoj mogućoj mjeri sprečava ulazak zraka u tikvicu i reoksidacija njenog sadržaja.

Napomena 2:

Nestajanje modre boje metilenskog plavog najbolje se uočava tako da se promatra gornji sloj i menisk rastvora u tikvici, jer je u njemu relativno malo istaloženog crvenog bakar (I) oksida. Nestajanje modre boje najbolje se uočava ako se koristi indirektno svjetlo. Korisno je i postaviti bijeli zaslon iza tikvice.

Napomena 3:

Tokom određivanja bireta mora biti što je više moguće izolirana od izvora toplote.

Napomena 4:

Budući da je uvijek prisutan ljudski faktor, svaki analitičar treba provesti vlastitu standardizaciju i u izračunavanju koristiti vlastite vrijednosti za V_0 (7.1).

- 6.2. Prethodna titracija pripremljenog uzorka
- 6.2.1. Ako približna vrijednost reducirajuće snage (2.1) pripremljenog uzorka nije poznata, potrebno je provesti prethodnu titraciju kojom se određuje približna vrijednost potrebna za izračunavanje masenog udjela u uzorku (6.3).
Ovo se određivanje provodi na sljedeći način:
- 6.2.2. Pripremiti 2 % m/v rastvora uzorka s procijenjenom vrijednosti »Z«.
- 6.2.3. Postupiti kako je određeno u tački 6.1.2, koristeći rastvor uzorka (6.2.2.) umjesto standardnog rastvora dekstroze.
- 6.2.4. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.1.
- 6.2.5. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.3, koristeći 10,0 ml rastvora uzorka umjesto 18,0 ml standardnog rastvora dekstroze.
- 6.2.6. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.4.
- 6.2.7. Sadržaj tikvice zagrijati do vrenja. Dodati 1 ml rastvora metilenskog plavog (4.4).
- 6.2.8. Kad sadržaj počne da vrije, uključiti štopericu (5.6) i početi dodavati iz birete u tikvicu po 1,0 ml rastvora uzorka u intervalima od približno 10 sekundi, dok ne nestane boja metilenskog plavog.
Zabilježiti ukupni volumen dodatog rastvora uzorka do i uključujući predposljednje dodavanje (Y ml).
- 6.2.9. »Y« ne smije biti veći od 50 ml. Ako jest, povećati koncentraciju rastvora uzorka i ponoviti titraciju.
- 6.2.10. Približna reducirajuća snaga pripremljenog uzorka, izražena kao maseni udio, data je formulom:

$$\frac{60 \times V_0}{Y \times Z}$$

- 6.3. Uzorak za analizu
S tačnošću od 0,1 mg izvagati masu pripremljenog uzorka koja sadrži između 2,85 i 3,15 g reducirajućih šećera, izraženih kao bezvodna dekstroza (D-glukoza), koristeći pri izračunavanju ili poznatu približnu vrijednost reducirajuće snage (2.1) ili približnu vrijednost dobivenu u 6.2.10.
- 6.4. Rastvor uzorka
Otopiti uzorak u vodi i dopuniti do 500 ml u odmjernoj tikvici.
- 6.5. Određivanje
- 6.5.1. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.1.
- 6.5.2. Biretu (5.2) napuniti rastvorom uzorka (6.4) i podesiti menisk na 0.
- 6.5.3. U tikvicu iz birete uliti 18,5 ml rastvora uzorka i izmiješati kružnim kretnjama.
- 6.5.4. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.4.
- 6.5.5. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.5.
- 6.5.6. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.6.
- 6.5.7. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.7, koristeći rastvor uzorka umjesto standardnog rastvora dekstroze.
- 6.5.8. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.8.
- 6.5.9. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.9, koristeći rastvor uzorka umjesto standardnog rastvora dekstroze.
- 6.5.10. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.10.
- 6.5.11. Postupiti kako je opisano u tački 6.1.11, koristeći rastvor uzorka umjesto standardnog rastvora dekstroze.
- 6.5.12. Zabilježiti volumen (V_1) rastvora uzorka upotrijebljen do tačke ekvivalencije završne titracije.
- 6.5.13. V_1 mora biti između 19,0 i 21,0 ml rastvora uzorka. Ako je V_1 van tih granica, podesiti koncentraciju ispitivanog rastvora i ponoviti 6.5.1. do 6.5.12.
- 6.5.14. Provesti dva određivanja istog rastvora uzorka.
- 6.6. Količina suhe materije
Određiti udio suhe materije pripremljenog uzorka metodom 2.

7. Izražavanje rezultata

- 7.1. Izračunavanje
- 7.1.1. Reducirajuća snaga
Reducirajuća snaga, izražena kao maseni udio (% m/m) pripremljenog uzorka, data je jednačinom:

$$\frac{300 \times V_0}{V_1 \times M}$$

Gdje je:

V_0 = volumen standardnog rastvora dekstroze (4.3) upotrijebljen pri standardizacijskoj titraciji (6.1.), u ml,

V_1 = volumen rastvora uzorka (6.4) upotrijebljen pri titraciji (6.5), u ml,

M = masa uzorka (6.3) upotrijebljena za pripremu 500 ml rastvora uzorka, u gramima.

- 7.1.2. Dekstrozni ekvivalent

Dekstrozni ekvivalent, izračunat kao maseni udio (% m/m) suhe materije u

pripremljenom uzorku, dat je jednačinom:

$$\frac{RP \times 100}{D}$$

Gdje je:

RP = reducirajuća snaga, izračunata kao maseni udio (% m/m) u uzorku (7.1.11),

D = količina suhe materije u uzorku, izražena kao maseni udio.

7.1.3. Rezultat je aritmetička sredina dva određivanja, pod uslovom da su zadovoljeni uslovi koji se odnose na ponovljivost (7.2).

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koja provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 1,0% njihove aritmetičke sredine.

METODA 9 - ODREĐIVANJE SULFATNOG PEPELA

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se količina sulfatnog pepela u:

- glukoznom sirupu,
- sušenom glukoznom sirupu,
- dekstroza monohidratu,
- bezvodnoj glukози.

2. Definicija

Količina sulfatnog pepela je količina sulfatnog pepela određena opisanom metodom.

3. Princip

Određuje se ostatak mase uzorka nakon spaljivanja u oksidacijskoj atmosferi pri 525°C u prisustvu sulfatne kiseline i izračunava kao maseni udio.

4. Reagensi

Sumporna kiselina, razrijeđeni rastvor: polako i pažljivo dodati 100 ml koncentrirane sumporne kiseline (gustoća pri 20°C = 1,84 g/ml; 96% m/m) u 300 ml vode uz miješanje i hlađenje.

5. Aparatura

- 5.1. Električna mufolna peć, opremljena pirometrom, radne temperature 525 ± 25°C.
- 5.2. Analitička vaga, tačnosti 0,1 mg.
- 5.3. Lončići za žarenje, od platine ili kvarcnog stakla, odgovarajućeg kapaciteta.
- 5.4. Eksikator, sa svježe aktiviranim silikagelom ili ekvivalentnim sušilom i indikatorom prisustva vlage.

6. Postupak

Lončić za žarenje (5.3.) zagrijati do temperature spaljivanja, ohladiti u eksikatoru i izvagati. S tačnošću od 0,1 mg izvagati u lončić za žarenje 5 g glukoznog sirupa ili

sušenog glukoznog sirupa, ili približno 10 g dekstroza monohidrata odnosno bezvodne glukoze.

Dodati 5 ml rastvora sumporne kiseline (4.1.) (vidjeti napomenu pod 8.1.) i uzorak pažljivo spaljivati u lončiću za žarenje iznad plamena ili na žarnoj ploči dok potpuno ne pougljeni. Postupak karbonizacije, pri kojem iz uzorka izlaze pare (vidjeti napomenu pod 8.2.), mora se izvoditi u digestoru.

Lončić (5.3.) postaviti u peć za spaljivanje (5.1.) u kojoj je temperatura $525 \pm 25^{\circ}\text{C}$ i spaljivati do nastanka bijelog pepela. To obično traje dva sata (vidjeti napomenu pod 8.3.).

Uzorak hladiti približno 30 minuta u eksikatoru (5.4) i zatim izvagati.

7. Izražavanje rezultata

7.1. Izračunavanje

Količina sulfatnog pepela, izražena kao maseni udio (% m/m) analiziranog uzorka, data je formulom:

$$S = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

gdje je:

m_1 = masa pepela u gramima,

m_0 = masa uzorka u gramima.

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koja provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, ne smije prelaziti 2% njihove aritmetičke sredine.

8. Napomene

- 8.1. Sumpornu kiselinu dodavati u malim količinama kako bi se spriječilo prekomjerno pjenjenje.
- 8.2. Pri prvoj karbonizaciji potreban je oprez kako bi se spriječio gubitak uzorka ili pepela.
- 8.3. Ako uzorak ne sagori potpuno (tj. ostanu crni djelići), lončić izvaditi iz peći, ohladiti, ostatak uzorka navlažiti s nekoliko kapi vode i ponovo postaviti u peć.

METODA 10 - ODREĐIVANJE POLARIZACIJE POLARIMETROM

1. Obim i oblast primjene

Ovom metodom određuje se polarizacija u:

- polubijelom šećeru,
- šećeru ili bijelom šećeru,
- ekstra bijelom šećeru.

2. Definicija

Polarizacija je optička rotacija polarizirane svjetlosti rastvorom šećera sa 26 g šećera na 100 ml u cijevi dužine 200 mm.

3. Princip

Polarizacija se određuje saharimetrom ili polarimetrom pod uslovima opisanim ovom metodom.

4. Reagensi

4.1. Sredstvo za bistrenje: bazični rastvor olovo acetata.

Dodati 560 g suhog bazičnog olovo acetata u približno 1000 ml tek provrele vode. Ostaviti da vrije 30 minuta i zatim ostaviti da stoji preko noći.

Dekantirati supernatant i razrijediti tek provrelom vodom kako bi se dobio rastvor gustine 1,25 g/ml, pri 20°C.

Rastvor čuvati tako da ne dode u dodir sa zrakom.

4.2. Dietil eter.

5. Aparatura

5.1. Saharimetar, graduiran za normalnu masu 26 g saharoze, ili polarimetar.

Ovaj instrument mora biti postavljen u prostoriji u kojoj se temperatura može održavati blizu 20°C. Kalibrirati uređaj standardnim kvarcnim pločicama.

5.2. Izvor svjetlosti – natrijeva svjetiljka.

5.3. Polarimetrijske cijevi, 200 mm, greška ne smije biti veća od $\pm 0,02$ mm.

5.4. Analitička vaga tačnosti 0,1 mg.

5.5. Pojedinačno kalibrirane odmjerne tikvice od 100 ml s čepom. Tikvice stvarnog volumena $100,00 \pm 0,01$ ml mogu se koristiti bez korekcije. Tikvice volumena van ovih granica moraju se koristiti s prikladnom korekcijom kojom se volumen podešava na 100 ml.

5.6. Vodeno kupatilo, s termostatski kontroliranom temperaturom od $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

6. Postupak

6.1. Priprema rastvora

Izvagati što je brže moguće $26 \pm 0,002$ g uzorka i kvantitativno ga prenijeti u odmjeru tikvicu od 100 ml (5.5.) s približno 60 ml vode.

Otopiti kružnim pokretima, bez zagrijavanja.

Ako je potrebno bistrenje, dodati 0,5 ml rastvora olovo acetata (4.1.).

Izmiješati rastvor rotirajući tikvicu i pritom ispirući stijenke tikvice, sve dok volumen ne bude takav da je menisk približno 10 mm ispod oznake.

Smjestiti tikvicu u kontrolirano vodeno kupatilo (5.6.) na $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$ dok temperatura rastvora šećera ne bude konstantna.

Ukloniti mjehuriće na površini tekućine dodavanjem kapi dietil etera (4.2.).

Nadopuniti vodom do oznake.

Začepiti i temeljito izmiješati okrećući tikvicu barem tri puta. Ostaviti da stoji pet minuta.

6.2. Polarizacija

Održavati temperaturu na $20 \pm 1^\circ\text{C}$ u svim daljnjim postupcima.

6.2.1. Namjestiti uređaj na 0.

6.2.2. Uzorak profiltrirati kroz filter papir. Prvih 10 ml filtrata odbaciti i za daljnu upotrebu

koristiti sljedećih 50 ml filtrata.

- 6.2.3. Cijev polarimetra oprati ispirući je dva puta rastvorom uzorka za analizu (6.2.2).
- 6.2.4. Cijev pažljivo napuniti rastvorom uzorka za analizu pri $20 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Ukloniti sve mjehuriće zraka pri zatvaranju cijevi. Postaviti napunjenu cijev u ležište uređaja.
- 6.2.5. Zabilježiti rotaciju s tačnošću $0,05^{\circ}\text{S}$ ili $0,02$ ugaonih stepeni. Postupak ponoviti još četiri puta. Izračunati srednju vrijednost pet očitavanja.

7. Izražavanje rezultata

7.1. Izračunavanje

Rezultati se izražavaju u stepenima S s tačnošću od $0,1^{\circ}\text{S}$. Za pretvaranje ugaonih stepeni u $^{\circ}\text{S}$ upotrebljava se sljedeća formula:

$$^{\circ}\text{S} = \text{ugaoni stepeni} \times 2,889$$

7.2. Ponovljivost

Razlika između rezultata dva određivanja istog uzorka, koja provodi isti analitičar istovremeno ili neposredno jedno za drugim, u istim uslovima, tako da svaka predstavlja srednju vrijednost pet očitavanja, ne smije prelaziti $0,1^{\circ}\text{S}$.

ANEKS II.

METODE KOJE JE UTVRDILA MEĐUNARODNA KOMISIJA ZA JEDINSTVENE METODE ANALIZA ŠEĆERA (ICUMSA)

METODA 1 - ODREĐIVANJE SULFITA U BIJELOM ŠEĆERU KOLORIMETRIJSKOM METODOM S ROZANILINOM (ICUMSA)

1. Svrha i oblast primjene

Ova metoda zasniva se na kolorimetrijskom određivanju SO_2 i može se primjenjivati jedino za bijeli šećer.

2. Princip

Boja sulfita-rozanilin kompleksa mjeri se fotometrijski na talasnoj dužini blizu 560 nm, nakon reakcije s formaldehidom.

3. Reagensi

- 3.1. Rozanilin hlorovodični rastvor (zasićena). Otopiti 1 g rozanilin-hlorovodika u 100 ml destilirane vode, zagrijati na 50 °C i ohladiti mućkajući. Nakon stajanja u trajanju od 48 sati rastvor se filtrira.
- 3.2. Bezbojni rastvor rozanilina. Prenijeti 4 ml zasićenog rastvora rozanilin-hlorovodonika u odmjernu tikvicu od 100 ml. Nakon dodavanja koncentrirane HCL (6 ml) dopuniti do oznake. Uklanjanje boje obavi se u kratkom vremenu, ali je rastvor potrebno ostaviti da odstoji bar 1 sat prije upotrebe.
- 3.3. Rastvor formaldehida (otprilike 0,2 g/100 ml). Razrijediti 5 ml rastvora formaldehida u odmjernoj tikvici od 1000 ml.
 $\rho_{20} = 1,070 - 1,080$

Rastvor čiste saharoze. Otopiti 100 g saharoze bez prisutnih sulfita u destiliranoj vodi u odmjernoj tikvici od 1000 ml i dopuniti do oznake.

- 3.4. Rastvor natrij hidroksida 0,1 mol/l
- 3.5. Rastvor joda 0,05 mol/l. Otopiti 20 g bezjodnog kalijevog jodida u 40 ml destilirane vode (odmjerna tikvica od 1000 ml). Nakon dodavanja 12,69 g joda, promućkati tikvicu dok se jod ne otopi i dopuniti do oznake destiliranom vodom.
- 3.6. Koncentrirana HCL $\rho = 1,18$ g/ml
- 3.7. Rastvor HCL 1 mol/l
- 3.8. Indikator joda (škrob)
- 3.9. Rastvor natrij-tiosulfata 0,1 mol/l. Otopiti 24,817 g natrijeva tiosulfata pentahidrata u 200 ml destilirane vode u odmjernoj tikvici od 1000 ml te potom nadopuniti do oznake.
- 3.10. Standardni rastvor sulfita. Otopiti oko 2,5 g natrij-sulfit-heptahidrata u rastvoru saharoze (3.4.) i dopuniti čistim rastvorom saharoze (3.4.) do 500 ml. Odrediti čistoću rastvora prema sljedećem uputstvu:
Staviti 25 ml 0,05 mol/l rastvora joda u Erlenmeyerovu tikvicu od 300 ml i dodati 10 ml 1 mol/l rastvora HCL (3.8.), a nakon toga 100 ml destilirane vode. Dodati pipetom 25 ml

standardnog sulfitnog rastvora. Titrirati višak joda s 0,1 mol/l rastvorom natrij tiosulfata, (3.10.) dok sadržaj tikvice ne bude blijedožute boje. Dodati indikator joda (škrob) (0,2-0,5) u tikvicu i nastaviti titrirati dok ne iščezne plava boja. Zabilježiti titar, t .

- 3.11. Razrijeđeni standardni rastvor sulfita. Razrijediti 5 ml standardnog rastvora (3.11.) u odmjernoj tikvici do 100 ml čistim rastvorom saharoze (3.4.). Tačna vrijednost sadržaja SO_2 , c , računa se na sljedeći način iz titra, t , dobivene standardnog rastvora sulfita (3.11.).

$$C = (25 - t) \times 3,203 \times 2 \text{ (mg SO}_2 \text{ /ml)}$$

4. Aparatura

- 4.1. Spektrofotometar ili kolorometar – mjerenja se provode na oko 560 nm.
- 4.2. Odmjerne tikvice – klase A, od 100, 500 i 1000 ml.
- 4.3. Graduirane pipete – klase A, od 10 ml.
- 4.4. Pipete – od 2, 10 i 25 ml.
- 4.5. Birete – od 10 ml graduirane s 0,05 ml.
- 4.6. Test posude (čase).
- 4.7. Analitička vaga – s očitanjem od 0,1 mg.

5. Postupak

- 5.1. Razvijanje boje. Otopiti 10-40 g bijelog šećera u destiliranoj vodi u odmjernoj tikvici od 100 ml. Nakon dodavanja 0,1 mol/l rastvora natrij hidroksida (4 mL), dopuniti tikvicu do oznake i promiješati.

- za 0,5 mg SO_2 /kg uzima se 40 g šećera
- za 5-15 mg SO_2 /kg uzima se 20 g šećera
- za 15-30 mg SO_2 /kg uzima se 10 g šećera

Staviti 10 ml uzorka u čistu suhu čašicu. Dodati 2 ml bezbojnog rastvora rozanilina i 2 ml rastvora formaldehida. Ostaviti čašicu da stoji pola sata na sobnoj temperaturi. Izmjeriti apsorbanciju u spektrofotometru na talasnoj dužini 560 nm u kiveti od 1 cm, koristeći destiliranu vodu kao referencu.

- 5.2. Standardna kriva. U odmjerne tikvice od 100 ml otpipetirati 1, 2, 3, 4, 5 i 6 ml razrijeđenog standardnog sulfitnog rastvora. Uzeti i jednu praznu tikvicu za slijepu probu. U svaku tikvicu dodati 4 ml 0,1 mol/l natrij hidroksida i nadopuniti tikvicu do oznake čistim rastvorom saharoze (3.4.) i promiješati. Iz svake tikvice uzeti 10 ml i staviti u čistu i suhu čašu. Dodati 2 ml bezbojnog rastvora rozanilina i 2 ml rastvora formaldehida. Ostaviti uzorke 30 min na sobnoj temperaturi. Izmjeriti apsorbanciju kao u 5.1. i prikazati rezultate na grafu.

Količina SO_2 u svakoj čašici je $\frac{c \times n}{10}$ ($\mu\text{g SO}_2$ /kg šećera)

gdje je n broj ml razrijeđenog sulfita dodatog u svaku odmjernu tikvicu, a c je iz razrijeđenog standardnog rastvora sulfita 3.12.

6. Izražavanje rezultata

- 6.1. Izračunavanje. Izračunavanje koncentracije sulfita s obzirom na standardnu krivu i izražavanje rezultata kao mg SO_2 /kg bijelog šećera:

$(\mu\text{g SO}_2 \text{ iz grafa}) \times 10$ (mg SO₂/kg šećera)

masa šećera uzetog u 5.1.

6.2. Ponovljivost.

Za bijele šećere u rasponu sulfita od 4,20 mg/kg do 27,63 mg/kg, ponovljivost varira od 0,72 mg/kg do 5,6 mg/kg, sa srednjom ponovljivosti od 3,24 mg/kg.

Za iste bijele šećere, raspon reproducibilnosti je od 1,56 do 24,19, sa srednjom reproducibilnosti od 11,09 mg/kg.

METODA 2 - ODREĐIVANJE SULFATNOG PEPELA U SIROVOM ŠEĆERU, SMEDEM ŠEĆERU, SOKOVIMA, SIRUPU I MELASI (ICUMSA)

1. Obim

Sulfatni pepeo određuje se gravimetrijski. Dobiveni rezultat je suma pepela topivog i pepela netopivog u vodi.

2. Oblast primjene

Metoda je primjenjiva na sirovi šećer, smeđi šećer, miješani sok i očišćeni (bistri) sok, sirup i melasu.

3. Princip

Pepeo se određuje i rezultat se izražava kao sulfatni pepeo nakon uzastopnih spaljivanja (pretvaranja u pepeo) pri 550 °C i 650 °C sa sumpornom kiselinom. Dvostruka sulfatacija potrebna je da bi se osigurala konverzija pepela u sulfatni oblik.

4. Reagensi

4.1. Voda – vodljivost mora biti manja od 2 hS/cm.

4.2. Rastvor sulfatne kiseline. Pažljivo dodati 100 ml koncentrirane sulfatne kiseline ($\rho_{20}=1,84 \text{ g/mL}$) u 300 ml vode uz miješanje.

4.3. Rastvor (hloridne) kiseline. Pažljivo dodati 100 ml koncentrirane hloridne kiseline ($\rho_{20}=1,18 \text{ g/mL}$) u 500 ml vode uz miješanje.

5. Aparatura

5.1. Platinasta posuda – kapaciteta 50 ml i minimalne radne površine od 15 cm² što može zavisi od proizvoda koji se analizira.

5.2. Električna »mufolna« peč – opremljena termostatom i kontrolnom napravom, koja omogućava da se spaljivanje izvodi u temperaturnom području od 500 do 650 °C, uz kontrolu ± 25 °C.

5.3. Bunsenov plamenik ili električna grijana ploča dovoljne snage.

Napomena: Osigurati potpunu čistoću grijane ploče.

5.4. Eksikator – sadrži indikator koji ukazuje na zasićenost vlagom.

5.5. Vaga – tačnosti od 0,1 mg.

6. Postupak

Koristiti dobro ventilirani uređaj za dimove u svim koracima postupka gdje se dimovi

pojavljaju.

- 6.1. Priprema posude – očistiti posudu kipucom hloridnom kiselinom (4.3.) i dobro isprati vodom. Nakon zagrijavanja u peći na 550 °C ostaviti da se ohladi do sobne temperature u eksikatoru i da važe $\pm 0,2$ mg, m_0 .
- 6.2. Priprema uzorka za testiranje
Melasa ili sirup – uzorak prvo treba razrijediti u omjeru 1:1 kako bi se dobila reprezentativan homogen rastvor.
Nakon što je uzorak dobro promiješan, što je moguće stavljanjem posude sa uzorkom nakon zagrijavanja u vodu na približno 60 °C da bi se olakšalo miješanje, odvaže se barem 10 g (± 1 mg). Dodati istu količinu vode i miješati dalje nakon ponovnog blagog zagrijavanja. Koristiti zatvorenu posudu ili nakon hlađenja nadoknaditi vodu izgubljenu hlapljenjem. To daje rastvor A.
Primjedba: Ako je uzorak čist (bistar) i slobodan od kristala razrjeđenje 1:1 može se izostaviti.
Odvaže se oko 10 g rastvora A (± 1 mg) u platinastu posudu (5.1.) i doda se 2 mg rastvora sulfatne kiseline (4.2.).
Sirovi šećer. Odvaže se između 5 i 10 g u platinastu posudu i doda 2 ml rastvora sulfatne kiseline (4.2.).
Masa uzorka u svakom pojedinom slučaju je m_1 .
Sok. Odvaže se oko 30 g, upari se barem do konzistencije sirupa i doda se 2 ml rastvora sumporne kiseline (4.2.).
- 6.3. Predspaljivanje. Pažljivo i postepeno zagrijavati posudu iznad Bunsenovog plamenika ili na električnoj ploči dok testirana masa ne bude potpuno karbonizirana.
- 6.4. Spaljivanje. Staviti posudu u peć na 550°C u vremenu od 2 sata. Ostaviti da se ohladi, dodati 2 ml rastvora sulfatne kiseline, ostaviti da ishlapi na vrućoj ploči ili iznad Bunsenovog plamenika i spaliti na 650°C do konstantne mase (za oko 0,5 sati).
Ostaviti da se ohladi stavljajući posudu u eksikator i hladeći do sobne temperature.
Izvagati ($\pm 0,2$ mg), m_2 .

7. Izražavanje rezultata

- 7.1. Izračunavanje – masa ostalog pepela (bez odbijanja) je izražena kao postotak sulfatnog pepela u originalnom uzorku.

$$\% \text{ sulfatni pepeo} = \frac{100 \times m_2 - m_0}{m_1}$$

Napomena: Voditi računa da li je originalni uzorak bio razrijeđen 1:1 u koraku 6.2.

Zabilježiti postotak na dvije decimale za melasu i na tri decimale za sirovi šećer.

- 7.2. Preciznost:

Za sirove šećere prosječnog postotka pepela on iznosi 0,429.

Apsolutna razlika između dva dobivenih rezultata pod uslovima ponavljanja ne bi trebalo da bude veća od 0,029% pepela. Apsolutna razlika između dva rezultata na istom sirovom šećeru pod uslovima reproducibiliteta (ponavljanja) ne bi trebalo da bude veća od 0,038% pepela.

Za melasu je srednji postotak pepela =11,57, a apsolutna razlika između dva rezultata dobivena pod uslovima ponavljanja ne bi trebalo da bude veća od 0,45% pepela.

Apsolutna razlika između dva rezultata na istoj melasi pod uslovima reproducibiliteta ne bi trebalo da bude veća od 0,84 % pepela.

METODA 3 - ODREĐIVANJE KOEFICIJENTA REFLEKSIJE BIJELOG ŠEĆERA UZ POMOĆ INSTRUMENTA (ICUMSA)

1. Obim

Ova metoda određuje fotometrijski stepen bijelog šećera u odnosu na tipove boje Brunswick instituta mjerenjem omjera refleksije pri dvjema različitim talasnim dužinama.

2. Oblast primjene

Ova metoda može biti dio određivanja kvaliteta bijelog šećera, primjenjiva je samo na kristalne bijele šećere i isključuje vrlo fine ili grube kristalne produkte.

3. Definicije

- 3.1. Faktor refleksije. Faktor refleksije R , za odabranu talasnu dužinu definira se kao omjer spektralnog fluksa zračenja kojeg reflektira uzorak i apsolutno bijelog standarda:

$$R(\lambda) = \frac{\Phi_{\lambda, \text{ref}, s}}{\Phi_{\lambda, \text{ref}, w}}$$

gdje je:

$R(\lambda)$ faktor refleksije pri talasnoj dužini λ

λ talasna dužina u nm

Φ fluks zračenja

ref reflektirano

s uzorak

w bijeli standard

- 3.2. Omjer refleksije. Omjer refleksije r definiran je kao omjer faktora refleksije pri dvjema odabranim talasnim dužinama:

$$r = \frac{R_{(\lambda_1)}}{R_{(\lambda_2)}}$$

gdje je:

r omjer refleksije

$R_{(\lambda_1)}$ omjer refleksije pri talasnoj dužini λ_1

$R_{(\lambda_2)}$ omjer refleksije pri talasnoj dužini λ_2

4. Princip

Faktor refleksije šećera mjeri se pri dvije standardne talasne dužine. Omjer refleksije može biti u uzajamnoj vezi s vizuelnim stepenom prema tipovima boje instituta Brunswick, kako je opisano u metodi 5 ovog aneksa.

Tabela 1 pokazuje nominalne vrijednosti za dva omjera refleksije za serije tipa boje Brunswick.

Tabela 1. OMJERI REFLEKSIJE ZA RAZLIČITE TIPOVE BOJE INSTITUTA BRUNSWICK

Tip boje	R(426)/R(620) apsolutna vrijednost 1982. Službena metoda	R(495)/R(620) apsolutna vrijednost 1986. Probna metoda
0	0,952	0,985
1	0,915	0,961
2	0,878	0,637
3	0,842	0,913
4	0,805	0,889
5	0,768	0,865
6	0,731	0,841

Napomena: Zbog važnog uticaja geometrije instrumenata na rezultate mjerenja refleksije, mora se ispitati valjanost vrijednosti iz Tabele 1 primjenom serija tipa boje Brunswick, ako se ne koriste nespecijalizirani refraktometri.

5. Materijali

- 5.1. Tipovi boje Brunswick.
- 5.2. Barijev sulfat za bijeli standard.

6. Aparati

- 6.1. Refraktometarski fotometar. Instrumenti koji se koriste moraju ispuniti sljedeće osnovne kriterije:
 - difuzno osvjetljenje uzorka primjenom integrirane sfere;
 - mjerenje refleksije relativno prema apsolutnom bijelom standardu (BaSO_4) pri standardnim talasnim dužinama koje je probno preporučio ICUMSA (495 i 620 nm);
 - direktno mjerenje na površinama uzorka šećera koji nije pokriven staklom.

Napomena: Postoje neki tipovi posebnih refraktometara koji automatski vrše mjerenje refleksije pri preporučenom paru talasnih dužina. Odgovarajuća vrijednost tipa boje može se očitati direktno na instrumentu. Ti instrumenti kalibrirani su s parom standarda tipa boje Brunswick, obično 0 i 6.

7. Uzorci

Pažljivo izmiješati laboratorijske uzorke bijelog šećera koji predstavljaju test uzorke da bi se dobila homogena raspodjela veličina čestica. Izbjegavati abraziju kristala šećera

tokom miješanja.

8. Postupak

Za kalibraciju instrumenta pogledati uputstva proizvođača. Refraktometri za šećer kalibrirani su primjereno tipu boje Brunswick (vidi dio 6).

Prenijeti test uzorke u spremnike za uzorke, tako da su spremnici potpuno puni. Poravnati površinu staklenim štapićem i pažljivo staviti uzorak u nosač uzorka. Očitati sa displeja ili skale faktore refleksije pri dvjema odabranim talasnim dužinama (preporučuju se pri 495 nm i 620 nm). Za određivanje omjera refleksije dva standarda tipa boje Brunswick (obično 0 i 6) postupati analogno. U slučaju refraktometra tip boje očitava se direktno.

Napomena: Zaštititi instrument od prašine.

9. Izražavanje rezultata

- 9.1. Metoda izračunavanja. Kada se koristi refraktometar za šećer, nisu potrebna nikakva izračunavanja. Ako se koriste drugi instrumenti, omjer refleksije $R(495)/R(620)$ može se izračunati iz jednačine 2. Nakon određivanja omjera refleksije, r_s , uzorka, r_0 , tipa boje 0 i r_6 , tipa boje 6, vrijednosti tipa boje n_s , uzorka, može se izračunati upotrebom sljedeće formule:

$$n_s = 6 \frac{r_s - r_0}{r_6 - r_0}$$

Napomena: Jedino ako nisu dostupni nikakvi standardi tipa boje Brunswick, može se odgovarajuća vrijednost tipa boje, n_s , izračunati otprilike primjenom sljedeće jednačine koja je dobivena iz Tabele 1:

Tip boje, $n_s = -41,67 - R(495)/R(620) + 41,04$

Ako je upotrijebljen refraktometar koji radi pri omjeru talasne dužine, $R(426)/R(620)$, formula za izračunavanje n na osnovi vrijednosti iz Tabele 1, jest:

Tip boje, $n_s = -27,18 - R(426)/(620) + 25,88$

METODA 4 - ODREĐIVANJE KONDUKTOMETRIJSKOG PEPELA U ŠEĆERU (ICUMSA)

1. Aparatura

Uređaj za mjerenje provodnosti (konduktometar) s mogućnošću mjerenja do $0,5 \mu\text{S cm}^{-1}$ ⁽¹⁾ i tačnosti od $\pm 2\%$.

Preporučuje se upotreba mjernih ćelija čija se temperatura može održavati na $20^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$ pomoću vodenog kupatila.

Odmjerne tikvice $100 \pm 0,05 \text{ ml}$, $500 \pm 0,25 \text{ ml}$ i $1000 \pm 0,40 \text{ ml}$; pipete $10 \pm 0,02 \text{ ml}$.

Za pripremu svih rastvora (rastvora šećera i rastvora kalijevog hlorida) mora se koristiti dva puta destilirana ili deionizirana voda specifične provodnosti manje od $2 \mu\text{S cm}^{-1}$.

(1) $1 \mu\text{S} = 10^{-6} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$

Sve posude i pipete moraju se prije upotrebe isprati vodom opisane kvalitete.

Instrumenti za mjerenje provodnosti kalibriraju se N/5000 rastvorom kalijevog hlorida. U tu svrhu, 745,5 mg kalijevog hlorida p.a., prethodno dehidriranog žarenjem na približno 500°C – tj. do tamnocrvenog žara – otopiti u vodi u odmjernoj tikvici od 1 L i dopuniti vodom do oznake.

Pipetom prenijeti 10 ml te otopine (N/100) u odmjernu tikvicu od 500 ml i dopuniti do oznake vodom.

Pri tačno 20°C ova će N/500 rastvor kalijevog hlorida imati specifičnu provodnost od $26,6 \pm 0,3 \text{ mS cm}^{-1}$ nakon oduzimanja specifične provodnosti upotrijebljene vode.

Zavisno od metode rada korištenog uređaja, uređaj mora biti podešen tako da pokazuje navedenu vrijednost plus specifičnu provodnost upotrijebljene vode; ili se navedena vrijednost plus specifična provodnost vode koriste za izračunavanje konstante ćelije.

Prije svake kalibracije mora se pripremiti svjež rastvor kalijevog hlorida.

2. Postupak

28%-ni rastvor šećera priprema se ili otapanjem $31,3 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ šećera pri $20^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$ u odmjernoj tikvici od 100 ml ili otapanjem 28 g šećera u vodi i dopunjavanjem do mase 100 g.

Poslije temeljitog miješanja, prenijeti rastvor u posudu za mjerenje i očitavati vodljivost kad je temperatura otopine tačno $20^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$. Oduzeti od očitane vrijednosti 50% očitane vrijednosti za upotrijebljenu vodu.

Prema tome, rezultatna vrijednost je:

$$C_{28} = C \text{ očitana} - 0,5 C \text{ vode}$$

$$C = \text{specifična provodnost u } \mu\text{S cm}^{-1}$$

Indeks 28 označava da je upotrijebljen 28%-ni rastvor šećera.

$$\text{Broj bodova} = 0,320 \times C_{28}$$

tj. $3,13 \mu\text{S cm}^{-1}$ odgovara jednom bodu ili 1 bod = 0,0018% pepela.

$$\% \text{ pepela} = 0,320 \times 18 \times 10^{-4} \times C_{28}$$

Određivanje specifične provodnosti upotrijebljene vode provodi se na sljedeći način:

Količina vode jednaka onoj korištenoj za rastvor šećera miješa se u odmjernoj tikvici od 100 ml na isti način kao pri otapanju šećera. Dopuni se do 100 ml i mjeri na približno 20°C. Pri mjerenju nije potrebna precizna termostatska kontrola jer su moguće korekcije temperature manje od greške mjerenja.

METODA 5 - VIZUELNO ODREĐIVANJE BOJE BIJELOG ŠEĆERA BRUNSWICK KOLOR – TIPOVIMA

1. Aparatura

Standardna Brunswick ljestvica boja 0-6.

Fluorescentna svjetiljka sa svjetlosnim izvorom dnevne svjetlosti, postavljena u sprijeda otvorenu malu kutiju, 20 cm dubine, 120 cm širine, 50 cm visine, tako da je okomita udaljenost između svjetiljke i uzoraka šećera približno 35 cm. Oči analitičara moraju biti zaštićene od direktnog svjetla zaštitnom trakom (približno 15 cm širine).

Preporučuju se svjetiljke Osram HNT 120 ili Philips TL 25 W/55. Ako se upotrebljavaju

druge svjetiljke, moraju se najprije testirati zbog važnosti spektralne distribucije emitirane svjetlosti.

Kako bi se žučkaste do smeđe boje uzoraka šećera primjereno isticale, unutrašnje stranice kutije moraju biti obojene smeđom bojom bez sjaja (npr. tamna boja oraha). Na dno kutije postavi se bijeli upijajući papir prema kojem se boja šećera jasno ističe.

Mala kutija mora se postaviti tako da je svjetiljka približno u visini očiju. Pri uspoređivanju uzorci ne smiju biti izloženi direktnoj dnevnoj svjetlosti ni osvijetljeni drugim svjetiljkama koje se nalaze u blizini, što bi otežavalo ispravno ispitivanje.

2. Postupak

Šećer se smjesti u male četverokutne kutije s bijelom ili svijetlomodrom unutrašnjom oblogom (60 x 60 mm i 28 mm visoke) i poravna poklopcem. Potrebno je obratiti pažnju da i kutije sa uzorkom i kutije sa standardom budu sasvim pune. Boja unutrašnje obloge mora biti posve jednaka u svim kutijama jer bi se u protivnom dobili pogrešni rezultati. Kutije se smještaju jedna do druge ne ostavljajući prostor među njima; zbog toga okrugle kutije ne bi bile prikladne. U početku se uzorak grubo uspoređuje, smještajući ga u različite položaje na skali boja. Zatim se pažljivo uspoređuje s bojama koje su mu najbliže. Ovo se postiže naizmjeničnim smještanjem uzorka lijevo i desno od boje s kojom se uspoređuje.

Bilježi se prosječni rezultat tri nezavisna posmatrača (izražen kao 0,1 jedinica boje).

Za šećere kojima se veličina kristala razlikuje od standardnih uzoraka mora se posmatrati boja, a ne refleksija kristala.

Broj bodova = jedinica boje x 2, tj. 0,5 jedinica boje = 1 bod.

METODA 6 - ODREĐIVANJE BOJE U RASTVORU BIJELOG ŠEĆERA

ICUMSA metoda 4 – nakon filtriranja kroz membranski filter ili 0,45 mm (metoda porozimetrije živom) ili 0,6 mm (Hagen–Poiseuilleova metoda).

1. Aparatura

Za pripremu rastvora potrebno je: Erlenmeyerove tikvice (200 ml), uređaj za vakuum filtraciju za membranske filtre, filtrirne tikvice (500 ili 250 ml), vakuum pumpa i membranski filtri prosječnog promjera pora 0,45 mm (metoda porozimetrije živom) ili 0,6 mm (Hagen-Poiseuilleova metoda).

Koncentracija rastvora određuje se refraktometrijski.

Za mjerenje ekstinkcije može se koristiti bilo koji fotometar koji omogućava zadovoljavajuću tačnost mjerenja pri 420 ± 10 nm.

Kivete moraju biti odabrane tako da je pri poredenju dvije kivete napunjene destiliranom vodom ekstinkcija nula. Dužina kivete mora biti najmanje 3 cm.

2. Postupak

$50 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ šećera odvaže se u Erlenmeyerovu tikvicu širokog grla. Doda se ili 50 g destilirane vode (izmjereno vaganjem) ili 50 ml destilirane vode (izmjereno graduiranom menzurom) i otopi protresanjem ili tresilicom.

Veća tačnost koncentracije nije potrebna jer se može promijeniti pri filtraciji.

U međuvremenu se membranski filter natapa u destiliranoj vodi najmanje 10 minuta i zatim smjesti na uređaj za filtraciju. Tokom filtracije dolazi do deaeracije rastvora.

Koncentracija se određuje refraktometrijski (°Brix); pri čemu se prije punjenja kivete isperu rastvorom.

Kivete se moraju odmah zatvoriti.

Kiveta za poređenje puni se destiliranom vodom i mjeri pri 420 nm. Voda u slijepoj probi mora biti profiltrirana kroz membranski filter.

$$\text{ICUMSA jedinice} = 1000 \times \epsilon_{420} = \frac{1000 \times 100 \times E_{420}}{1 \times (^\circ\text{Bx}) \times d}$$

E = koeficijent ekstinkcije

ϵ_{420} = ekstinkcija (očitanja)

L = dužina puta (veličina kivete) u cm

d = specifična težina

$$\text{broj bodova} = \frac{\text{ICUMSA jedinice}}{7,5} \quad \text{tj. } 7,5 \text{ ICUMSA jedinica}$$

odgovara jednom bodu.