

211

VYHLÁŠKA

ze dne 15. dubna 2004

o metodách zkoušení a způsobu odběru a přípravy kontrolních vzorků

Ministerstvo zemědělství stanoví podle § 18 písm. n) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 119/2000 Sb., zákona č. 306/2000 Sb., zákona č. 146/2002 Sb. a zákona č. 274/2003 Sb., (dále jen „zákon“) a v souladu s právem Evropských společenství:¹⁾

§ 1

Obecná ustanovení

(1) Tato vyhláška stanoví metody zkoušení a způsob odběru a přípravy kontrolních vzorků (dále jen „vzorků“) za účelem zjišťování jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin a jakosti tabákových výrobků,

v rámci státního dozoru, s výjimkou odběru vzorků pro mikrobiologické zkoušení.

(2) Při zkoušení, odběru a přípravě vzorků potravin nebo tabákových výrobků mohou být použity i jiné vědecky ověřené metody (například metody Mezinárodní normalizační organizace nebo Codexu Alimentarius), avšak za předpokladu, že jejich použití není na překážku volnému pohybu zboží. V případě, že dojde k rozdílu ve výsledcích zkoušení, považují se za rozhodující výsledky zkoušení získané použitím metod uvedených v této vyhlášce.

(3) U potravin a tabákových výrobků, pro které nejsou touto vyhláškou stanoveny metody zkoušení

¹⁾ Směrnice Rady 85/591/EHS ze dne 20. prosince 1985 týkající se zavedení metod Společenství pro odběr vzorků a analýzu pro sledování potravin určených k lidské spotřebě.

Směrnice Komise 2001/22/ES ze dne 8. března 2001, kterou se stanoví metody odběru vzorků a analýzy pro úřední kontrolu dodržování maximálních limitů olova, kadmia, rtuti a 3-MCPD v potravinách.

Směrnice Komise 2002/26/EHS ze dne 13. března 2002, kterou se stanoví metody odběru vzorků a metody analýzy pro úřední kontrolu množství ochratoxinu A v potravinách.

Směrnice Komise 2002/27/EHS ze dne 13. března 2002, kterou se mění směrnice 98/53/ES, kterou se stanoví metody odběru vzorků a metody analýzy pro úřední kontrolu množství určitých kontaminujících látek v potravinách.

Směrnice Komise 2002/63/ES ze dne 11. července 2002, kterou se stanoví metody Společenství pro odběr vzorků pro úřední kontrolu reziduí pesticidů v produktech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu a kterou se zrušuje směrnice 79/700/EHS.

Směrnice Komise 2002/69/ES ze dne 26. července 2002, kterou se stanoví metody odběru vzorků a metody analýzy pro úřední kontrolu dioxinů a stanovení PCB s dioxinovým efektem v potravinách.

Směrnice Komise 98/53/ES ze dne 16. července 1998 stanovující metody odběru vzorků a metody rozboru pro oficiální kontrolu hladiny určitých cizorodých látek v potravinách.

Směrnice Komise 92/2/EHS ze dne 13. ledna 1992, kterou se stanoví postup odběru vzorků a metody analýzy Společenství při úředním dozoru nad teplotami zmrazených potravin určených k lidské spotřebě.

První Směrnice Komise 85/503/EHS ze dne 25. října 1985 o metodách pro analýzu potravinářských kaseinů a kaseinátů. První Směrnice Komise 87/524/EHS ze dne 6. října 1987, kterou se stanoví metody Společenství pro odběr vzorků určených k chemické analýze sledovaných mléčných výrobků.

První Směrnice Komise 86/424/EHS ze dne 15. července 1986, kterou se stanoví metody odběru vzorků k chemickým analýzám potravinářských kaseinů a kaseinátů.

První Směrnice Komise 81/712/EHS ze dne 28. července 1981, kterou se stanoví metody Společenství, jimiž se ověřuje splnění kritérií pro čistotu u určitých přídatných látek použitých v potravinách.

Směrnice Komise 80/891/EHS ze dne 25. července 1980 týkající se analytické metody Společenství pro stanovení obsahu kyseliny erukové v olejích a tučích určených jako takových k lidské spotřebě a v potravinách obsahujících přidané oleje nebo tuky.

První Směrnice Komise 79/796/EHS ze dne 26. července 1979, kterou se stanoví analytické metody Společenství pro zkoušení některých cukrů určených k lidské spotřebě.

První Směrnice Komise 79/1067/EHS ze dne 13. listopadu 1979, kterou se stanoví analytické metody Společenství pro zkoušení určitých druhů zahuštěného a sušeného mléka určeného k lidské spotřebě.

Směrnice Rady 67/427/EHS ze dne 27. června 1967 o použití určitých konzervantů pro ošetření povrchu citrusových plodů a o kontrolních opatřeních pro kvalitativní a kvantitativní analýzu konzervantů v a na citrusových plodech.

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/37/ES ze dne 5. června 2001 o sblížení právních a správních předpisů členských států týkajících se výroby, obchodní úpravy a prodeje tabákových výrobků.

Směrnice Rady 93/99/EHS ze dne 29. října 1993 o doplňujících opatřeních týkajících se úředního dozoru nad potravinami.

nebo nelze použít touto vyhláškou stanovený způsob odběru a přípravy kontrolních vzorků, se postupuje podle odstavce 2 věty první obdobně.

§ 2

Základní pojmy

Pro účely této vyhlášky se rozumí

- a) částí šarže²⁾ – část šarže vymezená za účelem aplikace určité metody odběru kontrolního vzorku, přičemž každá tato část šarže je fyzicky oddělená a samostatně identifikovatelná, pokud není stanoveno jinak,
- b) kontrolovanou dávkou – definované množství potravin nebo tabákového výrobku, které je jako celek předloženo ke kontrole; může se jednat o šarži nebo o část šarže,
- c) vzorkovanou jednotkou – jedna ze základních jednotek, z nichž je složen základní soubor nebo množství potravin nebo tabákového výrobku vytvářející souborovou jednotku a odebrané najednou z jednoho místa proto, aby tvořilo část dílčího vzorku; za základní soubor se považuje soubor všech uvažovaných vzorkovaných jednotek,
- d) vzorkem – jedna nebo více vzorkovaných jednotek odebraných ze základního souboru a určených k tomu, aby z nich byla získána informace o základním souboru,
- e) dílčím vzorkem – množství materiálu odebrané z jednoho místa šarže nebo části šarže,
- f) souhrnným vzorkem – vzorek složený ze všech dílčích vzorků,
- g) redukováným vzorkem – souhrnný vzorek nebo jeho reprezentativní část připravená ze souhrnného vzorku dělením; redukováný vzorek se připravuje pouze v případě, jestliže je souhrnný vzorek příliš velký,
- h) laboratorním vzorkem – vzorek určený k laboratorním zkouškám,
- i) duplikátním vzorkem – jeden ze dvou či více vzorků získaných ve stejné době pomocí stejného postupu vzorkování nebo dělení vzorku,
- j) dělením vzorku – postup odbírání jednoho nebo více podvzorků ze vzorku nekusové potravin nebo tabákového výrobku takovými prostředky, jako je dělení příhradovým děličem, mechanickým dělením nebo separací,
- k) podvzorkem – vzorek odebraný ze základního souboru; při odběru nekusové potravin nebo tabákového výrobku se podvzorky připravují dělením vzorků,
- l) přípravou vzorku – souhrn operací s potravinou nebo tabákovým výrobkem, jako je například redukce velikosti, mísení, dělení, nutných k přeměně souhrnného vzorku na laboratorní vzorek,
- m) odběrem vzorku (vzorkováním) – proces odbírání vzorku,
- n) rozsahem vzorkování – počet odbíraných vzorkovaných jednotek,
- o) náhodným odběrem vzorku – odběr vzorku se stejnou úrovní pravděpodobnosti, že libovolný vzorek kontrolované šarže bude vybrán,
- p) cíleným odběrem vzorku – odběr vzorku s určitým záměrem s nestejnou úrovní pravděpodobnosti, že libovolný vzorek bude vybrán,
- q) odběrem vzorku z nekusové potravin nebo tabákového výrobku – odběr vzorku nekusové potravin nebo tabákového výrobku předkládaných v dávkách, v nichž nelze bezprostředně odlišit vzorkované jednotky,
- r) víceetapovým odběrem vzorku – odběr vzorku, při němž se vzorek tvoří po stupních tak, že jednotka v každém stupni je odebrána z větší jednotky vybrané v předchozím kroku,
- s) vrstveným odběrem vzorku – odběr vzorku provedený ze základního souboru, který lze rozdělit na vzájemně se vylučující podsoubory a pokrývající je takovým způsobem, že určená část vzorku je odebrána z různých vrstev a z každé vrstvy je odebrána alespoň jedna jednotka,
- t) přejímacím plánem – plán stanovující rozsah odběru vzorku,
- u) protokolem o zkoušce – dokument, ve kterém jsou uvedeny výsledky laboratorních zkoušek stanovených požadavků,
- v) přesností – těsnost shody mezi výsledkem zkoušky a přijatou referenční metodou zkoušení,
- w) správností – těsnost shody mezi průměrnou hodnotou získanou z velké řady výsledků zkoušek a přijatou referenční hodnotou,
- x) shodností – těsnost shody mezi nezávislými výsledky zkoušek získanými za předem specifikovaných podmínek,
- y) podmínkami opakovatelnosti – podmínky, kdy nezávislé výsledky zkoušek se získají stejnou metodou zkoušení, na stejných zkoušených jednotkách, ve stejné laboratoři, stejným pracovníkem, za použití stejného vybavení, během krátkého časového rozmezí,
- z) opakovatelností – shodnost za podmínek opakovatelnosti,

²⁾ Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů.

- aa) reprodukovatelností – shodnost za podmínek re-produkovatelnosti,
- bb) podmínkami reprodukovatelnosti – podmínky, za nichž se výsledky zkoušek získají stejnou meto- dou zkoušení, na stejných zkoušených jednot- kách, v různých laboratořích, různými pracovníky používajícími různé vybavení,
- cc) výsledkem zkoušky – hodnota znaku získaná pro- vedením metody zkoušení,
- dd) chybou výsledku – výsledek zkoušky minus při- jatá referenční hodnota znaku,
- ee) specifičností – charakteristika metody zkoušení stanovující, pro které zkoušky je daná metoda specifická,
- ff) limitem detekce – nejnižší hodnota, kterou lze stanovit danou metodou zkoušení,
- gg) upotřebitelností – charakteristika metody zkou- šení vymezující účel, pro který je metoda zkou- šení vymezena,
- hh) použitelností – charakteristika metody zkoušení stanovující, pro jaké účely je daná metoda zkou- šení použitelná,
- ii) experimentem přesnosti – mezilaboratorní test vhodnosti příslušné normalizované metody zkoušení.

Odběr vzorku

§ 3

(1) Odběr vzorku provádí osoba k této činnosti oprávněná a řádně proškolená.³⁾

(2) Při odběru vzorku se nejdříve zjistí

- a) označení šarže podle údajů uvedených na obale potraviny určené pro spotřebitele nebo na pře- pravním obalu a dokladů vztahujících se k potra- vině,
- b) hmotnost nebo objem šarže nebo počet jednotek v šarži nebo kontrolované jednotce,
- c) druh a velikost obalů a jejich označení,
- d) případná přítomnost částí šarže
 1. zkažených, poškozených nebo jinak závad-

ných; tyto části šarže se oddělí a vzorek ke zkoušení se z nich neodebírá, pokud se nejedná o podezřelou potravinu, kdy se postupuje po- dle odstavce 12,

- 2. nezávadných; z každé stejnorodé části šarže se odebírají vzorky samostatně.

(3) Nejpozději před započítáním odběru vzorků se stanoví

- a) postup odběru vzorků nebo, pokud je již stano- ven, se postup odběru vzorku upřesní,
- b) požadované druhy zkoušek,
- c) přejímací plán,
- d) rozsah odběru vzorku pro každou zkoušku podle přejímacího plánu,
- e) celková hmotnost nebo objem vzorku potřebný k provedení všech požadovaných kontrol a labora- torních zkoušek kombinací rozsahu odběru vzorku a druhů zkoušek,
- f) celkový potřebný počet balení nebo dílčích vzorků, které se odeberou.

(4) Přejímací plán se stanoví v souladu s postupy uvedenými v českých technických normách upravují- cích přejímací postupy, statistické přejímky a další po- drobnosti⁴⁾ nebo v souladu s postupy zpracovanými dozorovým orgánem a zveřejněnými na webových stránkách dozorového orgánu.

(5) Vzorek se odebírá z každé kontrolované šarže odděleně tak, aby reprezentoval vždy celou šarži, není- li stanoveno jinak.

(6) Odebraný vzorek je tvořen jedním nebo více dílčími vzorky. Dílčí vzorek se odebere z náhodně zvoleného místa v šarži; není-li to možné, odebere se z ná- hodně zvoleného místa v přístupné části šarže. Velikost dílčího vzorku se stanoví jako podíl mezi požadovanou velikostí souhrnného nebo laboratorního vzorku a stano- veného počtu odebíraných jednotek.

(7) Odběr dílčího vzorku se provede

- a) náhodným odběrem, při kterém všechny vzorko- vané jednotky mají stejnou pravděpodobnost ode- brání,

³⁾ Například zákon č. 146/2002 Sb., o Státní zemědělské a potravinářské inspekci a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 309/2002 Sb. a zákona č. 94/2004 Sb., zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění zákona č. 29/2000 Sb., zákona č. 154/2000 Sb., zákona č. 102/2001 Sb., zákona č. 76/2002 Sb., zákona č. 120/2002 Sb., zákona č. 309/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb. a zákona č. 131/2003 Sb.

⁴⁾ ČSN ISO 3951 Přejímací postupy a grafy při kontrole měřením pro procento neshodných jednotek.
 ČSN ISO 2859-0 Statistické přejímky srovnáváním. Část 0: Úvod do systému přejímek srovnáváním ISO 2859.
 ČSN ISO 2859-1 Statistické přejímky srovnáváním. Část 1: Přejímací plány AQL pro kontrolu každé dávky v sérii.
 ČSN ISO 2859-2 Statistické přejímky srovnáváním. Část 2: Přejímací plány LQ pro kontrolu izolovaných dávek.
 ČSN ISO 2859-3 Statistické přejímky srovnáváním. Část 3: Občasná přejímka.
 ČSN ISO 2859-4 Část 4: Postupy pro posouzení stanovených úrovní jakosti.
 ČSN ISO 10725 Výběrové přejímací plány a postupy pro kontrolu hromadných materiálů.

- b) cíleným odběrem, při kterém se jednotlivé vzorkované jednotky odeberou v předem stanovených vzdálenostech nebo časových intervalech od náhodně zvoleného začátku, nebo
- c) způsobem, při kterém se jednotlivé vzorkované jednotky odebírají z různých míst.

(8) Dílčí vzorky se z balených potravin odeberou bez porušení obalu určeného pro spotřebitele, z nebalených potravin se odeberou dílčí vzorky s porušením vnějšího obalu.

(9) Z tekuté nebo polotekuté potraviny ve skladovacích nádobách se odebere dílčí vzorek po promísení obsahu. Nelze-li obsah promístit, odebere se dílčí vzorek z jednotlivých vrstev vrstveným odběrem. Obdobně se postupuje u sypké potraviny nebo nebalené potraviny, kde se dílčí vzorek odebere z různých vrstev (strat) nebo z různých míst vhodným vzorkovacím zařízením.

(10) Dále lze dílčí vzorek odebrat

- a) z nebalené potraviny vzorkovacím zařízením nebo odkrojením,
- b) z nebalené potraviny složené z tuhých a tekutých látek samostatně z tuhé a z tekuté složky, nebo
- c) z čerstvého ovoce, čerstvé zeleniny, konzumních brambor a čerstvých hub.

(11) V případě, že se potravina nachází současně ve více obalech, zejména v jakémkoliv vnějším obalu, použije se vícetupňový odběr vzorku tak, že se zvolí

- a) v prvním stupni primární vzorek, kterým je přepravní obal,
- b) ve druhém stupni sekundární vzorek, kterým je skupinové balení odebrané z přepravního obalu,
- c) vzorek v dalších stupních obdobně podle písmene b) tak, aby v posledním stupni byl odebrán dílčí vzorek z balení určeného pro spotřebitele.

(12) U podezřelých potravin²⁾ se provede cílený odběr sloužící pro laboratorní zkoušky ke zjištění závad u podezřelých potravin. Část šarže předmětných potravin musí být před odběrem vzorků specifikována.

Takto získaný vzorek nereprezentuje celou šarži a musí být takto označen.

(13) Při odběru vzorku musí být provedena taková předběžná opatření, aby se zabránilo jeho znehodnocení a jakýmkoliv změnám, které by ovlivnily metody zkoušení.

(14) Zmrazené potraviny se nesmí při odběru vzorku rozmrazit.

(15) Způsob odběru vzorků podle odstavců 1 až 13 platí rovněž pro hodnocení vzorku na místě.

§ 4

(1) Při odběru vzorku tabákových výrobků se postupuje v souladu s postupy uvedenými v českých technických normách upravujících odběr vzorků tabákových výrobků.⁵⁾

(2) Nelze-li při odběru vzorku tabákového výrobku postupovat podle odstavce 1, použije se pro odběr vzorku tabákového výrobku ustanovení § 3 přiměřeně.

(3) Při odběru vzorků pro stanovení obsahu aflatoxinů v potravinách, vzorků pro stanovení obsahu pesticidů v potravinách a na jejich povrchu, vzorků čaje, vzorků obilovin, luštěnin a mlýnských výrobků, vzorků živočišných a rostlinných tuků a olejů a vzorků pro kontrolu teploty zmrazených potravin se postupuje způsobem uvedeným v českých technických normách o způsobu odběru vzorků a metodách zkoušení určitých potravin.⁶⁾

(4) Při odběru vzorků mléčných výrobků sušených, mléčných výrobků zahuštěných, kaseinu, nebo kaseinátů se postupuje způsobem uvedeným v českých technických normách upravujících metody zkoušení mléčných výrobků, kaseinů a kaseinátů.⁷⁾

(5) Při odběru vzorku potraviny pro kontrolu ochratoxinu A, vzorků pro kontrolu dioxinů a stanovení polychlorovaných bifenylů s dioxinovým efektem v určitých potravinách a vzorků pro dodržování limitů

⁵⁾ ČSN ISO 8243 Cigarety. Odběr vzorků.

ČSN ISO 4874 Tabák. Vzorkování surovinové šarže.

ČSN ISO 15592-1 Jemně řezaný tabák a kusové tabákové výrobky určené ke kouření z něho vyrobené. Metody vzorkování, kondicionování a analýzy. Část 1: Vzorkování.

⁶⁾ ČSN 56 0003 Odběr vzorků a metody zkoušení pro stanovení aflatoxinů v potravinách.

ČSN 56 0253 Odběr vzorků pro stanovení pesticidů v a na ovoci a zelenině.

ČSN ISO 1839 Čaj. Odběr vzorků.

ČSN ISO 13690 Obiloviny, luštěniny a mlýnské výrobky. Odběr vzorků ze statistických dávek.

ČSN EN ISO 5555 Živočišné a rostlinné tuky a oleje. Vzorkování.

ČSN 56 0290-2 Metody zkoušení zmrazených výrobků. Část 2: Odběr vzorků.

⁷⁾ ČSN 57 0105-2 Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných. Část 2: Odběr vzorků.

ČSN 57 0111-1 Metody zkoušení kaseinu a kaseinátů. Část 1: Všeobecná ustanovení.

ČSN 57 0111-2 Metody zkoušení kaseinu a kaseinátů. Část 2: Odběr vzorků k chemickým analýzám.

olova, kadmia, rtuti a 3-chlorpropan-1,2-diolu se postupuje podle příloh č. 1 až 3.

(6) Při odběru vzorků citrusových plodů pro kontrolu obsahu konzervantů se postupuje podle přílohy č. 4.

(7) Při odběru vzorků syrového a tepelně ošetřeného mléka se postupuje v souladu s postupy uvedenými v předpise Evropských společenství.⁸⁾

(8) Při odběru vzorků čerstvého ovoce a čerstvé zeleniny se postupuje v souladu s postupy uvedenými v předpise Evropských společenství.⁹⁾

(9) Při odběru vzorků pro kontrolu olivového oleje se postupuje v souladu s postupy uvedenými v předpise Evropských společenství.¹⁰⁾

§ 5

Protokol o odběru vzorků

(1) Ke každému odebranému vzorku musí být vypracován protokol o odběru vzorku, který umožňuje jednoznačnou identifikaci kontrolované potraviny nebo tabákového výrobku, její šarže nebo části šarže.

(2) Protokol o odběru vzorku musí obsahovat

- a) číslo protokolu,
- b) obchodní jméno, popřípadě název, výrobce, dopravce, prodávajícího, nebo balírný, a jeho sídlo, jde-li o právnickou osobu, a trvalý pobyt nebo místo podnikání, jde-li o fyzickou osobu,
- c) název potraviny nebo tabákového výrobku, pod nímž je uváděn do oběhu,
- d) údaj o množství potraviny nebo tabákového výrobku v balení (objem, hmotnost nebo počet kusů),
- e) údaj o šarži:
 1. označení šarže podle § 3 odst. 2 písm. a),
 2. rozsah nebo velikost vzorkované šarže; u nebalené potraviny počet jednotek balení nebo jejich hmotnost, u nekusové potraviny celková hmotnost nebo objem,
 3. datum výroby, je-li uvedeno,

4. datum použitelnosti nebo datum minimální trvanlivosti;
- f) údaje o odběru vzorku:
 1. odkaz na českou technickou normu nebo jinou metodu odběru vzorku a odchylky od použité české technické normy nebo metody odběru vzorku,
 2. podrobnosti o všech podmínkách prostředí v průběhu vzorkování, které mohou ovlivnit výsledky zkoušek,
 3. místo odběru vzorku, případně grafy, nákresy nebo fotografie,
 4. datum a čas odběru vzorku,
 5. účel odběru vzorku,
 6. množství vzorku pro laboratorní zkoušení; počet kusů a množství v balení u nebalené potraviny, hmotnost nebo objem u nekusové potraviny,
 7. jméno a podpis osoby, která provedla odběr vzorku, a podpis kontrolované osoby;
- g) informace pro laboratoř, které mohou ovlivnit jakost a zdravotní nezávadnost, zejména o době přepravy vzorku, podmínkách, za kterých byl proveden odběr vzorku a případné podezření na porušení jakosti nebo zdravotní nezávadnosti,
- h) další údaje obsahující zejména druh obalu vzorku, způsob zajištění nedotčenosti vzorku, použité vzorkovací zařízení, případně další okolnosti při odběru vzorku, které by mohly mít vliv na posuzování odebraného vzorku, stav kontrolované potraviny nebo tabákového výrobku, případná přítomnost zkažených, znečištěných nebo jinak závadných částí šarže a odebrání vzorku z těchto částí šarže,
- i) informaci o tom, zda byl odebrán duplikátní vzorek.

§ 6

Balení, označování a přeprava vzorku

(1) Každý vzorek se uloží do čistého a inertního obalu, který chrání vzorek před kontaminací a poškozením během jeho přepravy. Současně se provedou ne-

⁸⁾ Rozhodnutí Komise č. 91/180/EHS ze dne 14. února 1991, kterým se stanoví určité metody analýzy a testování syrového mléka a tepelně ošetřeného mléka.

⁹⁾ Nařízení Komise (ES) č. 1148/2001 ze dne 12. června 2001 o kontrolách dodržování obchodních norem pro čerstvé ovoce a zeleninu.

¹⁰⁾ Nařízení Komise (EHS) č. 2568/1991 ze dne 11. července 1991 o charakteristikách olivového oleje a zbytkového olivového oleje a o příslušných metodách analýzy, ve znění nařízení Komise (EHS) č. 3682/1991, nařízení Komise (EHS) č. 1429/1992, nařízení Komise (EHS) č. 1683/1992, nařízení Komise (EHS) č. 3288/1992, nařízení Komise (EHS) č. 183/1993, nařízení Komise (ES) č. 177/1994, nařízení Komise (ES) č. 656/1995, nařízení Komise (ES) č. 2527/1995, nařízení Komise (ES) č. 2472/1997, nařízení Komise (ES) č. 282/1998, nařízení Komise (ES) č. 2248/1998, nařízení Komise (ES) č. 379/1999, nařízení Komise (ES) č. 2042/2001 a nařízení Komise (ES) č. 796/2002.

zbytná opatření pro vyloučení všech změn ve složení vzorku, které by mohly nastat během přepravy.

(2) K balení vzorku se použijí obaly odpovídající požadavkům zvláštního právního předpisu,¹¹⁾ které neovlivňují výsledky laboratorních zkoušek.

(3) Vzorek musí být doručen do laboratoře co nejdříve. Při přepravě nesmí dojít ke znehodnocení vzorku. Vzorek zmrazené potraviny musí zůstat trvale zmrazený a vzorek potraviny podléhající rychle zkáze trvale zchlazený nebo zmrazený.

(4) Vzorek se označí, uzavře a zapečetí tak, aby nemohlo dojít k záměně vzorku a k otevření obalu bez porušení obalu nebo pečeti.

(5) Vzorek se označí údaji o

- a) názvu výrobku,
- b) šarži podle § 3 odst. 2 písm. a),
- c) protokolu o odběru vzorku,
- d) dalších skutečnostech o způsobu odběru vzorku, pokud by mohly ovlivnit výsledky zkoušek.

(6) Pokud nelze vzorek označit podle odstavce 5, lze vzorek označit pouze údajem podle odstavce 5 písm. c).

(7) Vzorek musí být dopraven a předán laboratoři neprodleně po jeho odběru. Pokud není vzorek během přepravy pod úřední kontrolou, osoba, která provedla odběr vzorku, zajistí, aby nedošlo během přepravy k poškození vzorku.

(8) V případě, že nelze vzorek ihned po jeho odebrání odeslat do laboratoře, provede osoba, která provedla odběr vzorku, taková opatření, aby byl odebraný vzorek uchován do doby odeslání za podmínek, při kterých nedojde k jeho znehodnocení a k záměně vzorku. To neplatí pro vzorky potraviny podléhající rychle zkáze nebo pro vzorky zmrazené potraviny.

§ 7

Příprava vzorku

(1) Při přípravě vzorku se použije

- a) homogenizace, například mísení, míchání, a snižování zrnění, drcení, mletí,
- b) dělení, například zmenšování vzorku na děliči, řezání, krájení nebo kvartace; přičemž kvartaci se rozumí vyřazení dvou protilehlých čtvrtí, smíchání a znovu čtvrcení zůstatku, dokud není dosaženo požadované velikosti, nebo
- c) kombinace homogenizace a dělení.

(2) Při přípravě laboratorního vzorku se provedou taková předběžná opatření, aby se zabránilo jakémoliv změně, která by ovlivnila výsledek zkoušky.

(3) Sloučením a promícháním všech dílčích vzorků se připraví souhrnný vzorek, pokud není stanoveno jinak. V případě potřeby lze souhrnný vzorek upravit způsobem uvedeným v odstavci 1, nebo se z něj připraví redukovaný vzorek.

(4) Ze souhrnného vzorku se připraví laboratorní vzorek a duplikátní vzorek. Laboratorní vzorek se označí způsobem umožňujícím jeho jednoznačnou identifikaci. Má-li být množství analyzované látky vypočteno se zahrnutím částí, které se neanalyzují, hmotnost oddělených částí se zaznamená.

(5) Laboratorní vzorek se podle potřeby rozmělní a dobře promísí, aby bylo možné odebrat reprezentativní zkušební podíly. Velikost zkušebních podílů je určena metodou zkoušení a účinností promísení. Metody rozmělnění a promísení se zaznamenají a nesmí ovlivnit složení zkušebního podílu. Zkušební podíl se podle potřeby zpracuje za zvláštních podmínek s cílem minimalizovat nepříznivé účinky.

(6) Duplikátní vzorek se označí způsobem umožňujícím jeho jednoznačnou identifikaci a uchová se pro opakované zkoušení nebo další zkoušky. Způsob a délka skladování duplikátního vzorku nesmí ovlivnit jeho složení.

(7) Použití vzorku k laboratorním rozborům zaniká datem použitelnosti nebo datem minimální trvanlivosti, ke kterému by došlo v době po jeho odběru do zahájení provedení laboratorní zkoušky.

(8) Při přípravě vzorků pro zkoušení živočišných a rostlinných tuků a olejů se postupuje podle české technické normy upravující postup při přípravě vzorků pro některé tuky a oleje.¹²⁾

(9) Při přípravě vzorků pro stanovení množství ochratoxinu A, vzorků pro stanovení olova, kadmia, rtuti a 3-chlorpropan-1,2-diolu v určitých potravinách a vzorků pro stanovení dioxinů a polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem v určitých potravinách se postupuje podle příloh č. 5 až 7.

(10) Při přípravě vzorků pro kontrolu olivového oleje se postupuje v souladu s nařízením Evropských společenství.¹⁰⁾

(11) Laboratorní vzorky lze připravit přímo v místě odběru vzorku, pouze pokud nebude ovlivněno složení vzorku a nedojde k jeho znehodnocení.

¹¹⁾ Vyhláška č. 38/2001 Sb., o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy, ve znění vyhlášky č. 186/2003 Sb.

¹²⁾ ČSN EN ISO 661 Živočišné a rostlinné tuky a oleje. Příprava vzorku k analýze.

Při přípravě vzorku se postupuje podle odstavců 1 až 10.

Metody zkoušení

§ 8

(1) Senzorické hodnocení provádí osoba k této činnosti oprávněná a řádně proškolená³⁾ v souladu s požadavky českých technických norem upravujících postup a výcvik posuzovatelů.¹³⁾

(2) Při sensorickém hodnocení postupuje osoba uvedená v odstavci 1 podle českých technických norem upravujících sensorické analýzy.¹⁴⁾

(3) Kontrola sensorických vlastností olivového oleje se provádí postupem stanoveným předpisem Evropských společenství.¹⁰⁾

§ 9

(1) Kontrola jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin a jakosti tabákových výrobků se provádí ze vzorků odebraných podle § 3 a 4 vhodnými metodami zkoušení.

(2) Přednostně se používají metody zkoušení, které jsou použitelné stejným způsobem pro různé skupiny potravin nebo tabákových výrobků, před metodami zkoušení, které jsou použitelné pouze pro některou potravinu nebo tabákový výrobek.

(3) U každé metody zkoušení, která bude použita

pro úřední kontrolu, musí být stanoveny alespoň následující charakteristiky:

- a) specifická,
- b) přesnost,
- c) shodnost, opakovatelnost a reprodukovatelnost,
- d) limit detekce,
- e) upotřebitelnost a použitelnost.

(4) Metody zkoušení musí být uspořádány do podoby doporučené pro metody zkoušení Mezinárodní organizací pro normalizaci.¹⁵⁾

(5) Přesné hodnoty shodnosti se získají vyhodnocením experimentů přesnosti, které proběhly v souladu s postupy uvedenými v českých technických normách upravujících přesnost metod a výsledků měření.¹⁶⁾

(6) Hodnoty opakovatelnosti a reprodukovatelnosti musí být vyjádřeny ve tvaru uvedeném v technických normách,¹⁶⁾ přičemž obvyklou hodnotou pravděpodobnosti je úroveň 95 %.

(7) Výsledky experimentů přesnosti zveřejní orgán dozoru na svých webových stránkách.

(8) Metody zkoušení provádějí laboratoře dozorových orgánů.³⁾ K provádění metod zkoušení pro úřední kontrolu mohou být pověřeny rovněž jiné laboratoře, které splňují požadavky zvláštního právního

¹³⁾ ČSN ISO 5496 Sensorická analýza. Metodologie. Zaslíbení do problematiky a výcvik posuzovatelů při zjišťování a rozeznávání pachů.

ČSN ISO 8586-1 Sensorická analýza. Obecná směrnice pro výběr, výcvik a sledování činnosti posuzovatelů. Část 1: Vybraní posuzovatelé.

ČSN ISO 8586-2: Sensorická analýza. Obecná směrnice pro výběr, výcvik a sledování činnosti posuzovatelů. Část 2: Experti.

¹⁴⁾ ČSN ISO 8589 Sensorická analýza. Obecná směrnice pro uspořádání sensorického pracoviště.

ČSN ISO 11035 Sensorická analýza. Identifikace a výběr deskriptorů pro stanovení sensorického profilu pomocí mnohorozměrného přístupu.

ČSN ISO 8587 Sensorická analýza. Metodologie. Pořadová zkouška.

ČSN ISO 11036 Sensorická analýza. Metodologie. Profil textury.

ČSN ISO 11037 Sensorická analýza. Obecná směrnice a zkušební metoda pro posuzování barvy potravin.

ČSN ISO 11056 Sensorická analýza. Metodologie. Metoda obsahu magnitudy.

ČSN ISO 8588 Sensorická analýza. Metodologie. Zkouška „A“ – ne „A“.

ČSN ISO 3972 Sensorická analýza. Metodologie. Metoda zkoumání citlivosti chuti.

¹⁵⁾ ISO/IEC Směrnice, část 2, 2001, 4. vydání (Pravidla pro strukturu a navrhování mezinárodních standardů).

¹⁶⁾ ČSN ISO 5725-1 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 1: Obecné zásady a definice.

ČSN ISO 5725-2 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 2: Základní metoda pro stanovení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti normalizované metody měření.

ČSN ISO 5725-3 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 3: Mezilehlé míry shodnosti normalizované metody měření.

ČSN ISO 5725-4 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 4: Základní metody pro stanovení správnosti normalizované metody měření.

ČSN ISO 5725-5 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 5: Alternativní metody pro stanovení shodnosti normalizované metody.

ČSN ISO 5725-6 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 6: Použití hodnot měř přesnosti v praxi.

předpisu¹⁷⁾ a české technické normy upravující požadavky na laboratoře.¹⁷⁾

§ 10

(1) U cigaret se kontrola obsahu dehtu, nikotinu a oxidu uhelnatého a vyhodnocení přesnosti údajů o dehtu a nikotinu uváděných na obale určeném pro spotřebitele provádí podle českých technických norem upravujících cigarety.¹⁸⁾

(2) Kontrola fyzikálních a chemických znaků olivových olejů a jejich složení se provádí metodami uvedenými v předpise Evropských společenství.¹⁰⁾

(3) Kontrola fyzikálních a chemických vlastností kaseinu a kaseinátů se provádí podle českých technických norem upravujících metody zkoušení kaseinu a kaseinátů.¹⁹⁾

(4) Kontrola sušených mléčných výrobků a zahuštěných mléčných výrobků se provádí podle českých technických norem upravujících metody zkoušení mléčných výrobků.²⁰⁾

(5) Při kontrole teploty zmrazených potravin se postupuje podle české technické normy upravující metody zkoušení zmrazených výrobků.²¹⁾

(6) Kontrola fyzikálních a chemických znaků jakosti u lihovin se provádí metodami uvedenými v předpise Evropských společenství.²²⁾

(7) Při stanovení hodnoty refraktometrické sušiny se postupuje v souladu s postupem uvedeným v předpise Evropských společenství.²³⁾

(8) Při stanovení obsahu škrobu a jeho štěpných produktů včetně glukosy, stanovení obsahu škrobů nebo dextrinů nebo jiných modifikovaných škrobů se postupuje v souladu s metodami uvedenými v předpise Evropských společenství.²⁴⁾

(9) Při kontrole obsahu ochratoxinu A se postupuje podle přílohy č. 5.

(10) Při kontrole množství olova, kadmia, rtuti a 3-chlorpropan-1,2-diolu v určitých potravinách se postupuje podle přílohy č. 6.

¹⁷⁾ ČSN EN ISO/IEC 17025 Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří. § 16 zákona č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů, ve znění zákona č. 71/2000 Sb., zákona č. 102/2001 Sb. a zákona č. 205/2002 Sb.

¹⁸⁾ ČSN ISO 8243 Cigarety. Odběr vzorků.
ČSN ISO 8454 Cigarety. Stanovení oxidu uhelnatého v kouřových kondenzátech. Metoda MDIR.
ČSN ISO 10315 Cigarety. Stanovení obsahu nikotinu v kouřových kondenzátech. Metoda plynové chromatografie.
ČSN ISO 4387 Cigarety. Stanovení surového a beznikotinového kondenzátu kouře za použití rutinního analytického nakuřovacího přístroje.

¹⁹⁾ ČSN 57 0111-1 Metody zkoušení kaseinů a kaseinátů. Část 1: Všeobecná ustanovení.
ČSN 57 0111-3 Metody zkoušení kaseinu a kaseinátů. Část 3: Stanovení vlhkosti.
ČSN 57 0111-5 Metody zkoušení kaseinu a kaseinátů. Část 5: Stanovení obsahu bílkovin.
ČSN 57 0111-7 Metody zkoušení kaseinu a kaseinátů. Část 7: Stanovení obsahu popela.
ČSN 57 0111-8 Metody zkoušení kaseinu a kaseinátů. Část 8: Stanovení titrační kyselosti.
ČSN 57 0111-12 Metody zkoušení kaseinu a kaseinátů. Část 12: Stanovení pH.

²⁰⁾ ČSN 57 0105-3 Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných. Část 3: Stanovení obsahu sušiny v zahuštěném slazeném a neslazeném mléce.
ČSN 57 0111-10 Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných. Část 10: Stanovení obsahu kyseliny mléčné a mléčanů.
ČSN 57 0111-11 Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných. Část 11: Stanovení fosfatasové aktivity v sušeném mléce.
ČSN 57 0111-13 Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných. Část 13: Stanovení obsahu vody v sušeném mléce.

²¹⁾ ČSN 57 0290-7 Metody zkoušení zmrazených výrobků. Část 7: Měření teplot.
Vyhláška č. 61/1983 Sb., o Dohodě o mezinárodních přepravách zkazitelných potravin a o specializovaných prostředcích určených pro tyto přepravy (ATP), ve znění pozdějších předpisů.

²²⁾ Nařízení Komise (ES) č. 2870/2000 ze dne 19. prosince 2000, kterým se stanoví referenční metody Společenství pro analýzu lihovin, ve znění nařízení (ES) č. 2091/2002.

²³⁾ Nařízení Komise (EHS) č. 558/1993 ze dne 10. března 1993 o refraktometrické metodě měření suchého rozpustného zbytku ve výrobcích zpracovaných z ovoce a zeleniny, kterým se zrušuje nařízení (EHS) č. 543/1986 a kterým se mění příloha I nařízení Rady (EHS) č. 2658/1987.

²⁴⁾ Nařízení Komise (EHS) č. 4154/1987 ze dne 22. prosince 1987, kterým se stanoví metody analýzy a další technická ustanovení nezbytná k provádění nařízení (EHS) č. 3033/1980, kterým se stanoví obchodní opatření použitelná na některé druhy zboží, které je výsledkem zpracování zemědělských produktů, ve znění nařízení Komise (ES) č. 203/1998.

(11) Při kontrole obsahu dioxinů a stanovení polychlorovaných bifenylů s dioxinovým efektem v určitých potravinách se postupuje podle přílohy č. 7.

(12) Při kontrole přítomnosti a obsahu reziduí pesticidů v citrusových plodech se postupuje podle příloh č. 8 až 10.

(13) Při kontrole obsahu kyseliny erukové v tucích a olejích a potravinách z nich vyrobených se postupuje podle přílohy č. 11.

(14) Při kontrole fyzikálních a chemických znaků některých cukrů se postupuje podle příloh č. 12 až 22 a přílohy č. 39.

(15) Při kontrole bodu mrznutí, fosfatasové a peroxidasové aktivity u syrového a tepelně ošetřeného mléka se postupuje v souladu s metodami zkoušení uvedenými v předpise Evropských společenství.⁸⁾

(16) Při kontrole čistoty přídatných látek v potravinách se postupuje podle příloh č. 23 až 38.

(17) Při kontrole obsahu vody, tukuprosté sušiny a tuku v másle se postupuje v souladu s metodami zkoušení uvedenými v předpise Evropských společenství.²⁵⁾

(18) Při kontrole jakosti čerstvého ovoce a čerstvé zeleniny se postupuje v souladu s metodami zkoušení uvedenými v předpise Evropských společenství.⁸⁾

(19) Při kontrole fyzikálních, chemických a senzorických vlastností vína se postupuje podle zvláštního právního předpisu.²⁶⁾

§ 11

Vyjádřování výsledků

(1) Výsledky laboratorních zkoušek na jakost a zdravotní nezávadnost kontrolovaného vzorku se uvedou v protokolu o zkoušce, který musí obsahovat informace nezbytné pro vyjádření výsledků zkoušek a informace vyžadované použitou metodou zkoušení.

(2) Protokol o zkoušce musí obsahovat alespoň tyto údaje:

- a) číslo protokolu,
- b) název a adresu laboratoře a místo, kde byly zkoušky prováděny, pokud jsou tyto údaje odlišné od adresy laboratoře,

- c) identifikaci protokolu o zkoušce; každá stránka protokolu o zkoušce musí být rozlišitelná jako součást protokolu o zkoušce a musí být zřejmý konec protokolu o zkoušce,
- d) obchodní jméno, popřípadě název, výrobce, dovozce, prodávajícího, nebo balírny, a jeho sídlo, jde-li o právnickou osobu, a trvalý pobyt nebo místo podnikání, jde-li o fyzickou osobu,
- e) použitou metodu zkoušení,
- f) popis, podmínky a identifikaci provedené zkoušky,
- g) datum přijetí vzorku, je-li důležité pro platnost a použití výsledků, a datum provedení zkoušky,
- h) odkaz na přejímací plán a postup odběru vzorků podle § 3 a 4 nebo odkaz na protokol o odběru vzorků podle § 5,
- i) výsledky zkoušky a jednotky měření podle českých technických norem,²⁷⁾
- j) jméno, funkci a podpis osoby potvrzující protokol o zkoušce,
- k) vyjádření o tom, že výsledek zkoušky se vztahuje pouze ke zkoušeným vzorkům,
- l) číslo stránek a celkový počet stránek u tištěného výstupu protokolu o zkoušce,
- m) prohlášení, že protokol o zkoušce nesmí být bez písemného souhlasu laboratoře, ve které byla zkouška provedena, uveřejněn jinak než celý,
- n) odchylky, dodatky nebo výjimky týkající se metody zkoušení a informace o specifických zkušebních podmínkách, například podmínkách prostředí,
- o) vyjádření souladu nebo nesouladu s požadavky metod zkoušení, pokud je nutné,
- p) vyjádření o odhadu nejistoty měření, pokud je nutné; informace o nejistotě měření se vyžaduje vždy, pokud má nejistota měření vliv na soulad s hodnotou příslušné metody zkoušení,
- q) případná odborná stanoviska a vyjádření použitá při provádění zkoušky, v souladu s českou technickou normou upravující požadavky na zkušební a kalibrační laboratoře,²⁸⁾

²⁵⁾ Nařízení Komise (ES) č. 213/2001 ze dne 9. ledna 2001, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 1255/1999, pokud jde o metody analýzy a hodnocení jakosti mléka a mléčných výrobků, a kterým se mění nařízení (ES) č. 2771/1999 a (ES) č. 2779/1999.

²⁶⁾ Zákon č. 115/1995 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně a doplnění některých souvisejících právních předpisů, ve znění zákona č. 216/2000 Sb., zákona č. 50/2002 Sb. a zákona č. 147/2002 Sb.

²⁷⁾ ČSN 01 1300 Veličiny a jednotky.

ČSN ISO 1000 Jednotky SI a doporučení pro užívání jejich násobků a pro užívání některých dalších jednotek.

²⁸⁾ ČSN EN ISO/IEC 17025 Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratořích.

r) další dodatečné informace, které mohou být požadovány u metod zkoušení.

(3) Výsledek zkoušky je průměrem výsledků nejméně dvou souběžných stanovení, není-li stanoveno jinak. Součástí výsledku zkoušky musí být vždy chyba výsledku.

(4) Při zjištění, že výsledek zkoušky překračuje stanovený limit zjištěné látky, se neprodleně zahájí opakované vyšetření za účelem potvrzení dříve získaného výsledku, a to za použití vědecky ověřené metody v souladu s § 1 odst. 2 nebo 3.

(5) Výsledky zkoušek se uvádí s korekcí nebo bez korekce na výtěžnost. V případě, že bude uvedena korekce na výtěžnost, uvede se v protokolu o zkoušce hodnota výtěžnosti. Hodnota výtěžnosti je poměr zjištěného množství látky ve vzorku a skutečného,

známého nebo přidaného množství látky ve vzorku a vyjadřuje se v procentech.

§ 12

Zrušovací ustanovení

Zrušuje se vyhláška č. 339/2001 Sb., o metodách zkoušení a způsobu odběru a přípravy kontrolních vzorků za účelem zjišťování jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin nebo surovin určených k jejich výrobě a jakosti tabákových výrobků.

§ 13

Účinnost

Tato vyhláška nabývá účinnosti dnem vstupu smlouvy o přistoupení České republiky k Evropské unii v platnost.

Ministr:

Ing. Palas v. r.

Postup při odběru vzorků pro stanovení množství ochratoxinu A v určitých potravinách a surovinách

1. Účel a oblast působnosti

Vzorky určené pro úřední kontrolu množství ochratoxinu A v potravinách musí být odebírány níže uvedenými metodami. Takto získané souhrnné vzorky jsou považovány za reprezentativní pro šarže. Dodržení maximálních limitů stanovených v nařízení Evropských společenství č. 466/2001 bude určeno na základě množství zjištěného v laboratorních vzorcích.

2. Definice

Šarže: identifikovatelné množství potravinové komodity dodané ve stejném okamžiku, které má podle úředního stanovení jednotné charakteristiky, jako je původ, druh, typ obalu, balírna, zasílatel nebo označení.

Část šarže: určitá část velké šarže, vyčleněná k tomu, aby z ní byl proveden odběr vzorků. Každá část šarže musí být fyzicky samostatná a identifikovatelná.

Dílčí vzorek: množství materiálu odebrané z jednoho místa šarže nebo části šarže.

Souhrnný vzorek: souhrn všech dílčích vzorků odebraných ze šarže nebo části šarže.

3. Obecná ustanovení

3.1 Pracovníci

Odběr vzorků musí být proveden oprávněným pracovníkem (§ 3 odst. 1 této vyhlášky).

3.2 Materiál k odběru

Každá šarže, která má být vyšetřena, musí být vzorkována samostatně. Velké šarže se podle této přílohy rozdělí na části, které se vzorkují samostatně.

3.3 Předběžná opatření

Při odběru vzorků a při přípravě laboratorních vzorků musí být provedena předběžná opatření s cílem zabránit jakýmkoli změnám, které by mohly ovlivnit obsah ochratoxinu A, nepříznivě ovlivnit analytické stanovení nebo znehodnotit reprezentativnost souhrnných vzorků.

3.4 Dílčí vzorky

Dílčí vzorky se odeberou pokud možno z různých míst celé šarže nebo části šarže. Odchytky od toho postupu musí být zaznamenány v protokolu.

3.5 Příprava souhrnného vzorku

Souhrnný vzorek se připraví sdružením dílčích vzorků.

3.6 Vzorky pro opakované vyšetření

Vzorky pro opakované vyšetření za účelem potvrzení, obhajoby v obchodním sporu nebo pro rozhodčí vyšetření se odeberou z laboratorního vzorku, pokud to není v rozporu s předpisy členských států o odběru vzorků.

3.7 Balení a přeprava laboratorních vzorků

Každý vzorek se uloží do čisté nádoby z inertního materiálu, který poskytuje dostatečnou ochranu před kontaminací a poškozením při přepravě. Musí být přijata všechna nezbytná opatření s cílem zabránit změně složení vzorku, ke které může dojít při přepravě nebo skladování.

3.8 Uzavření a označení vzorků

Každý vzorek odebraný pro účely úřední kontroly se uzavře na místě odběru a označí se podle § 6 této vyhlášky.

O každém odběru vzorků musí být vystaven protokol umožňující jednoznačnou identifikaci šarže, v němž musí být uvedeny datum a místo odběru vzorků a další údaje, které mohou být pro analytika užitečné.

4. Specifická ustanovení

4.1 Různé typy šarží

Balení potravinových komodit mohou mít při obchodování formu volně ložených potravin, potravin v kontejnerech nebo v jednotlivých baleních (sáčcích, pytlích, jednotlivých maloobchodních baleních atd.). Odběr vzorků může být proveden u všech forem, v nichž je výrobek uváděn na trh. Aniž jsou dotčena specifická ustanovení bodů 4.3, 4.4 a 4.5 této přílohy, může být následující vzorec použit jako vodítko pro vzorkování šarží, které mají při obchodování formu jednotlivých balení (sáčků, pytlů, maloobchodních balení atd.):

$$\text{četnost vzorkování} = \frac{\text{hmotnost šarže} \times \text{hmotnost dílčího vzorku}}{\text{hmotnost souhrnného vzorku} \times \text{hmotnost jednotlivého balení}}$$

— hmotnost: v kg

— četnost vzorkování: každý n-tý sáček nebo pytel, z nichž musí být odebrán dílčí vzorek (desetinná místa se zaokrouhlí na nejbližší celé číslo).

4.2 Hmotnost dílčího vzorku

Hmotnost dílčího vzorku by měla být 100 g, pokud není v této příloze stanoveno jinak. U šarží ve formě maloobchodních balení závisí hmotnost dílčího vzorku na hmotnosti maloobchodního balení.

4.3 Obecný přehled postupu odběru vzorků u obilovin a sušených hroznů révy vinné

Tabulka 1: Rozdělení šarží na části v závislosti na produktu a hmotnosti šarže

Komodita	Hmotnost šarže (t)	Hmotnost nebo počet částí šarže	Počet dílčích vzorků	Hmotnost souhrnného vzorku (kg)
Obiloviny a výrobky z obilovin	≥ 1500	500 t	100	30
	> 300 a < 1 500	3 části šarže	100	30
	≥ 50 a ≤ 300	100 t	100	30
	< 50	—	10 až 100 ¹⁾	1 až 10
Sušené hrozny révy vinné (korintky, rozinky a sultánky)	≥ 15	15 až 30 t	100	10
	< 15	—	10 až 100 ²⁾	1 až 10

¹⁾ V závislosti na hmotnosti šarže – viz tabulka 2 této přílohy.
²⁾ V závislosti na hmotnosti šarže – viz tabulka 3 této přílohy.

4.4 Postup vzorkování pro obiloviny a výrobky z obilovin (šarže ≥ 50 t) a pro sušené hrozny révy vinné (šarže ≥ 15 t)

- Pokud lze části šarže fyzicky oddělit, musí být každá šarže fyzicky rozdělena na části podle tabulky 1. Vzhledem k tomu, že hmotnost šarže není vždy přesným násobkem hmotností částí šarží, může hmotnost částí šarže překročit uvedenou hodnotu maximálně o 20 %.
- Každá část šarže musí být vzorkována samostatně.
- Počet dílčích vzorků: 100. Postup u šarží do 50 t a šarží sušených hroznů révy vinné do 15 tun je uveden v bodě 4.5. Hmotnost souhrnného vzorku činí 10 kg.
- Není-li možné použít výše uvedenou metodu vzorkování z důvodu hospodářských důsledků vyplývajících z poškození šarže (kvůli formě obalu, způsobu přepravy atd.), může být použita alternativní metoda vzorkování za předpokladu, že je co nejreprezentativnější a je úplně popsána a dokumentována.

4.5 Pokyny pro vzorkování obilovin a výrobků z obilovin (šarže < 50 t) a sušených hroznů révy vinné (šarže < 15 t)

U šarží obilovin do 50 t a šarží sušených hroznů révy vinné do 15 t může být v závislosti na hmotnosti šarže použit plán vzorkování skládající se z 10 až 100 dílčích vzorků, vedoucí k souhrnnému vzorku o hmotnosti 1 až 10 kg.

Čísla uvedená v následující tabulce mohou být použita pro určení počtu dílčích vzorků, které mají být odebrány.

Tabulka 2: Počet dílčích vzorků, které mají být odebrány, v závislosti na hmotnosti šarže obilovin

Hmotnost šarže (t)	Počet dílčích vzorků
≤ 1	10
> 1 až ≤ 3	20
> 3 až ≤ 10	40
> 10 až ≤ 20	60
> 20 až ≤ 50	100

Tabulka 3: Počet dílčích vzorků, které mají být odebrány, v závislosti na hmotnosti šarže sušených hroznů révy vinné

Hmotnost šarže (t)	Počet dílčích vzorků
$\leq 0,1$	10
$> 0,1$ až $\leq 0,2$	15
$> 0,2$ až $\leq 0,5$	20
$> 0,5$ až $\leq 1,0$	30
$> 1,0$ až $\leq 2,0$	40
$> 2,0$ až $\leq 5,0$	60
$> 5,0$ až $\leq 10,0$	80
$> 10,0$ až $\leq 15,0$	100

4.6 Odběr vzorků v maloobchodním prodeji

Odběr vzorků potravin v maloobchodním prodeji se provádí pokud možno podle výše uvedených ustanovení o odběru vzorků. Není-li to možné, lze použít jiné účinné postupy odběru vzorků v maloobchodním prodeji, pokud jsou pro vzorkovanou šarži dostatečně reprezentativní.

5. Přijetí šarže nebo části šarže

Šarže se přijímá, jestliže souhrnný vzorek vyhovuje maximálnímu limitu.

Metody odběru vzorků pro úřední kontrolu množství dioxinů (dibenzo-1,4-dioxinů/dibenzofuranů) a stanovení polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem v určitých potravinách

1. Účel a oblast působnosti

Vzorky určené pro úřední kontrolu obsahu dioxinů (dibenzo-1,4-dioxinů/dibenzofuranů) a rovněž pro stanovení obsahu polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem v potravinách musí být odebrány níže uvedenými metodami. Takto získané souhrnné vzorky jsou považovány za reprezentativní pro šarže nebo části šarže, ze kterých byly odebrány. Dodržení maximálních limitů stanovených v nařízení Evropských společenství č. 466/2001, kterým se stanoví maximální limity určitých kontaminujících látek v potravinách se určí na základě množství zjištěného v laboratorních vzorcích.

2. Definice

- Šarže:** identifikovatelné množství potravinové komodity dodané ve stejném okamžiku, které má podle úředního stanovení jednotné charakteristiky, jako je původ, druh, typ obalu, balírna, zasilatel nebo označení. U ryb a produktů rybolovu musí být srovnatelná také velikost ryby.
- Část šarže:** určitá část velké šarže, vyčleněná k tomu, aby z ní byl proveden odběr vzorků. Každá část šarže musí být fyzicky samostatná a identifikovatelná.
- Dílčí vzorek:** množství materiálu odebrané z jednoho místa šarže nebo části šarže.
- Souhrnný vzorek:** souhrn všech dílčích vzorků odebraných ze šarže nebo části šarže.
- Laboratorní vzorek:** reprezentativní část/množství souhrnného vzorku určené pro laboratoř.

Tabulka faktorů toxické rovnocennosti (TEF) pro posuzování rizik pro člověka (založeno na závěrech zasedání Světové zdravotní organizace ve Stockholmu, Švédsko, ve dnech 15. – 18. června 1997) *)

Kongener	Hodnota TEF	Kongener	Hodnota TEF
Dibenzo-1,4-dioxiny (PCDD)		polychlorované bifenyly, polychlorované bifenyly bez atomů chloru v ortho- polohách a polychlorované bifenyly s jedním atomem chloru v ortho-poloze s dioxinovým efektem	
2,3,7,8-Tetrachlordibenzodioxin	1	polychlorované bifenyly bez atomů chloru v ortho- polohách	
1,2,3,7,8-Pentachlordibenzodioxin	1	polychlorované bifenyly 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-Hexachlordibenzodioxin	0,1	polychlorované bifenyly 81	0,0001
1,2,3,6,7,8- Hexachlordibenzodioxin	0,1	polychlorované bifenyly 126	0,1
1,2,3,7,8,9- Hexachlordibenzodioxin	0,1	polychlorované bifenyly 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-	0,01		

Kongener	Hodnota TEF	Kongener	Hodnota TEF
Heptachlordibenzodioxin	0,0001	polychlorované bifenyly s jedním atomem chloru v ortho-poloze	
Oktachlordibenzodioxin			
Dibenzofurany (PCDF)			
2,3,7,8-Tetrachlordibenzofuran	0,1	polychlorované bifenyly 105	0,0001
1,2,3,7,8-Pentachlordibenzofuran	0,05	polychlorované bifenyly 114	0,0005
2,3,4,7,8-Pentachlordibenzofuran	0,5	polychlorované bifenyly 118	0,0001
1,2,3,4,7,8-Hexachlordibenzofuran	0,1	polychlorované bifenyly 123	0,0001
1,2,3,6,7,8-Hexachlordibenzofuran	0,1	polychlorované bifenyly 156	0,0005
1,2,3,7,8,9-Hexachlordibenzofuran	0,1	polychlorované bifenyly 157	0,0005
2,3,4,6,7,8-Hexachlordibenzofuran	0,1	polychlorované bifenyly 167	0,00001
1,2,3,4,6,7,8-Heptachlordibenzofuran	0,01	polychlorované bifenyly 189	0,0001
1,2,3,4,7,8,9-Heptachlordibenzofuran	0,01		
Oktachlordibenzofuran	0,0001		

^{*)} zdroj - Van den Berg et al. (1998) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. Environmental Health Perspectives, 106(12), 775.

3. Všeobecná ustanovení

3.1 Pracovníci

Odběr vzorků musí být proveden oprávněným pracovníkem (§ 3 odst. 1 této vyhlášky).

3.2 Materiál, který má být odebrán

Každá šarže, která má být vyšetřena, musí být vzorkována samostatně.

3.3 Předběžná opatření

Při odběru vzorků a při přípravě laboratorních vzorků musí být provedena předběžná opatření s cílem zabránit jakýmkoli změnám, které by mohly ovlivnit obsah dioxinů a polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem, nepříznivě ovlivnit analytické stanovení nebo znehodnotit reprezentativnost souhrnných vzorků.

3.4 Dílčí vzorky

Dílčí vzorky se odeberou pokud možno z různých míst celé šarže nebo části šarže. Odchytky od toho postupu musí být zaznamenány v protokolu podle bodu 3.8.

3.5 Příprava souhrnného vzorku

Souhrnný vzorek se připraví sdružením všech dílčích vzorků. Měl by mít hmotnost 1 kg, pokud je to možné, např. provádí-li se odběr z jednoho balení.

3.6 Rozdělení souhrnného vzorku na laboratorní vzorky pro potvrzení, obhajoby v obchodním sporu nebo pro rozhodčí zkoušení

Laboratorní vzorky za účelem potvrzení, obhajoby v obchodním sporu nebo pro rozhodčí zkoušení se odeberou ze zhomogenizovaného souhrnného vzorku, pokud to není v rozporu s § 3 a 4 této vyhlášky. Velikost laboratorních vzorků pro potvrzení by měla být dostatečná alespoň pro provedení opakované zkoušky.

3.7 Balení a přeprava souhrnných a laboratorních vzorků

Každý souhrnný a laboratorní vzorek se uloží do čisté nádoby z inertního materiálu, který poskytuje dostatečnou ochranu před kontaminací, ztrátou analytu adsorpcí na vnitřních stěnách nádoby a před poškozením při přepravě. Musí být přijata všechna nezbytná preventivní opatření s cílem zabránit

změně složení souhrnných a laboratorních vzorků, ke které může dojít při přepravě nebo skladování.

3.8 Uzavření a označení souhrnných a laboratorních vzorků

Každý vzorek odebraný k úředním účelům se uzavře na místě odběru a označí se podle § 6 této vyhlášky. O každém odběru vzorků musí být vystaven protokol, který umožní jednoznačnou identifikaci šarže a v němž musí být uvedeny datum a místo odběru vzorků a další údaje, které mohou být pro analytika užitečné.

4. Plány odběru vzorků

Použitá metoda odběru vzorků musí zajistit, aby byl souhrnný vzorek reprezentativní pro kontrolovanou šarži.

4.1. Počet dílčích vzorků

U mléka a olejů, u nichž lze předpokládat rovnoměrné rozšíření daného kontaminantu v celé šarži, stačí odebrat tři dílčí vzorky na šarži, které budou tvořit souhrnný vzorek. Uvede se číslo šarže. Pro ostatní produkty je minimální počet dílčích vzorků, který má být odebrán z šarže, uveden v tabulce 1.

Hmotnost souhrnného vzorku, který vznikne sdružením dílčích všech vzorků, musí být alespoň 1 kg (viz bod 3.5). Dílčí vzorky musí mít podobnou hmotnost.

Hmotnost dílčího vzorku by měla být alespoň 100 g. Hmotnost dílčího vzorku závisí na velikosti částic v šarži. Odchytky od toho postupu musí být zaznamenány v protokolu podle bodu 3.8. V souladu s ustanoveními směrnice Komise 97/747/ES ze dne 27. října 1997, kterou se stanoví rozsah a četnost odběru vzorků podle směrnice Rady 96/23/ES pro monitorování určitých látek a jejich reziduí v živočišných produktech, je vzorkem slepičích vajec nejméně 12 vajec (jak pro šarže nabalených vajec, tak pro šarže skládajících se z jednotlivých balení, tabulky 1 a 2).

Tabulka 1

Minimální počet dílčích vzorků, které mají být odebrány z šarže

Hmotnost šarže (kg)	Minimální počet odebraných dílčích vzorků
< 50	3
50 až 500	5
> 500	10

Skládá-li se šarže z jednotlivých balení, je počet balení, která musí být odebrána, aby vytvořila souhrnný vzorek, uveden v tabulce 2.

Tabulka 2

Počet balení (dílčích vzorků, která musí být odebrána, aby vytvořila souhrnný vzorek, skládá-li se šarže z jednotlivých balení)

Počet balení nebo jednotek v šarži	Počet odebraných balení nebo jednotek
1 až 25	1 balení nebo jednotka
26 až 100	asi 5 %, nejméně 2 balení nebo jednotky
> 100	asi 5 %, maximálně 10 balení nebo jednotek

5. Dodržení specifikací v šarži nebo části šarže

Kontrolní laboratoř provede opakovanou zkoušku laboratorního vzorku určeného pro potvrzení, je-li výsledek, který obdržela při první zkoušce, o 20 % nižší nebo vyšší než maximální limit, a vypočte průměr z obou výsledků. Šarže se přijme, je-li výsledek první zkoušky o 20 % nižší než maximální limit nebo vyhovuje-li průměr příslušnému maximálnímu limitu stanovenému v nařízení Evropských společenství č. 466/2001.

Postup při odběru vzorků pro kontrolu dodržování maximálních limitů olova, kadmia, rtuti a 3-chlorpropan-1,2-diolu v určitých potravinách a surovinách

1. Účel a oblast působnosti

Vzorky určené pro úřední kontrolu limitů obsahu olova, kadmia, rtuti a 3-chlorpropan-1,2-diolu v potravinách musí být odebrány níže uvedenými metodami. Takto získané souhrnné vzorky budou považovány za reprezentativní pro šarži nebo část šarže, z nichž byly odebrány. Dodržení maximálních limitů stanovených v nařízení Evropských společenství č. 466/2001 bude zjištěno na základě obsahu zjištěného v laboratorních vzorcích.

2. Definice

Šarže: identifikovatelné množství potravin dodané ve stejném okamžiku, které má podle úředního stanovení stejné charakteristiky, jako je původ, druh, typ obalu, balírna, zasílatel nebo označení. Ryby musí mít rovněž srovnatelnou velikost.

Část šarže: stanovená část velké šarže, vyčleněná k tomu, aby u ní byl proveden odběr vzorků. Každá část šarže musí být fyzicky oddělená a identifikovatelná.

Dílčí vzorek: množství materiálu odebrané z jednoho místa šarže nebo část šarže.

Souhrnný vzorek: souhrn všech dílčích vzorků odebraných ze šarže nebo část šarže.

Laboratorní vzorek: vzorek určený pro laboratorní vyšetření.

3. Obecná ustanovení

3.1 Pracovníci

Odběr vzorků musí být proveden oprávněným kvalifikovaným pracovníkem (§ 3 odst. 1 této vyhlášky).

3.2 Materiál, který má být odebrán

Každá šarže, která má být vyšetřena, musí být vzorkována samostatně.

3.3 Předběžná opatření

Při odběru vzorků a při přípravě laboratorních vzorků musí být provedena předběžná opatření s cílem zabránit jakýmkoli změnám, které by mohly ovlivnit obsah olova, kadmia, rtuti a 3-chlorpropan-1,2-diolu, nepříznivě ovlivnit analytické stanovení nebo znehodnotit reprezentativnost souhrnných vzorků.

3.4 Dílčí vzorky

Dílčí vzorky se odeberou pokud možno z různých míst celé šarže nebo části šarže. Odchyly od toho postupu musí být zaznamenány v protokolu podle bodu 3.8.

3.5 Příprava souhrnného vzorku

Souhrnný vzorek se připraví sdružením všech dílčích vzorků. Měl by vážit alespoň 1 kg, pokud to není nemožné, např. při vzorkování jednoho balení.

3.6 Rozdělení souhrnného vzorku na laboratorní vzorky pro vyšetření, opakované vyšetření a rozhodčí vyšetření

Laboratorní vzorky pro vyšetření, opakované vyšetření a rozhodčí vyšetření se odeberou ze zhomogenizovaného souhrnného vzorku, pokud to není v rozporu s § 3 a 4 této vyhlášky. Velikost laboratorního vzorku pro vyšetření musí být dostatečná alespoň pro dvě zkoušky.

3.7 Zabalení a přeprava souhrnných a laboratorních vzorků

Každý souhrnný a laboratorní vzorek se uloží do čisté nádoby z inertního materiálu, který poskytuje dostatečnou ochranu před kontaminací, ztrátami analytu v důsledku adsorpce na vnitřních stěnách nádoby a před poškozením při přepravě. Musí být přijata všechna nezbytná opatření s cílem zabránit změně složení souhrnných a laboratorních vzorků, ke které může dojít při přepravě nebo skladování.

3.8 Uzavření a označení souhrnných a laboratorních vzorků

Každý vzorek odebraný k úředním účelům se uzavře na místě odběru a označí se podle § 6 této vyhlášky. O každém odběru vzorků musí být vystaven protokol umožňující jednoznačnou identifikaci vzorku, v němž musí být uvedeny datum a místo odběru vzorků a další údaje, které mohou být pro analytika užitečné.

4. Plán odběru vzorků

V ideálním případě by měl být odběr vzorků proveden v místě, kde komodita vstupuje do potravního řetězce a kde lze rozlišit jednotlivou šarži. Použitá metoda odběru vzorků musí zajistit, aby byl souhrnný vzorek reprezentativní pro kontrolovanou šarži.

4.1 Počet dílčích vzorků

U tekutých výrobků, u nichž lze předpokládat rovnoměrné rozšíření daného kontaminantu v celé šarži, stačí odebrat jeden dílčí vzorek ze šarže, který bude souhrnným vzorkem. Uvede se číslo šarže. Tekuté výrobky obsahující hydrolyzované rostlinné bílkoviny nebo tekutou sójovou omáčku se musí před odběrem dílčího vzorku dobře protřepat nebo zhomogenizovat jiným vhodným způsobem.

U ostatních výrobků se ze šarže odebere minimální počet dílčích vzorků uvedený v tabulce 1. Dílčí vzorky musí mít přibližně stejnou hmotnost. Odchyłky od toho postupu musí být zaznamenány v protokolu podle bodu 3.8.

Tabulka 1:

Minimální počet dílčích vzorků, který má být odebrán ze šarže

Hmotnost šarže (kg)	Minimální počet odebraných dílčích vzorků
< 50	3
50 až 500	5
> 500	10

Tvoří-li šarži jednotlivá balení, odebere se pro souhrnný vzorek počet vzorků uvedený v tabulce 2.

Tabulka 2:

Počet balení (dílčích vzorků), který má být odebrán pro souhrnný vzorek, tvoří-li šarži jednotlivá balení

Počet balení nebo jednotek v šarži	Počet odebraných balení nebo jednotek
1 až 25	1 balení nebo jednotka
26 až 100	asi 5 %, nejméně 2 balení nebo jednotky
> 100	asi 5 %, maximálně 10 balení nebo jednotek

5. Dodržení specifikovaného nejvyššího obsahu v šarži nebo části šarže

Pro účely kontroly provede kontrolní laboratoř alespoň dvě nezávislé zkoušky a z výsledků vypočte průměr. Šarže se přijme, nepřekročí-li průměr příslušný nejvyšší obsah stanovený v nařízení Evropských společenství č. 466/2001. Šarže se nepřijme, překročí-li průměr příslušný nejvyšší obsah.

Postup odběru vzorků citrusových plodů pro kontrolu konzervantů

1. Vzorky musí být odebrány vědeckými metodami, které zajistí, že vzorky budou reprezentativní pro zkoušenou šarží.
2. Vzorky musí vyhovovat alespoň následujícím požadavkům:

a) Balené zboží (bedny, papírové krabice a podobné obaly)

Počet obalů v šarží	do 20	od 21 do 500	od 501 do 1000	nad 1000
Minimální počet obalů, ze kterých se odebírají vzorky	1	2	3	4
Hmotnost odebraných plodů na jeden obal v kg	2	2	2	2

b) Nebalené zboží

Hmotnost dávky v kg	do 20	od 21 do 500	nad 500
Hmotnost odebraného vzorku v kg	2	4	8

3. Šarží se rozumí část dodávky, která vykazuje stejné charakteristiky, např. odrůda, stupeň zralosti, typ balení.

Balení a předání vzorků

1. Vzorky musí být umístěny ve vzduchotěsných obalech.
2. Obaly musí být zapečetěny.
3. Takto zabalené vzorky musí být co nejrychleji předány do zkušebních laboratoří.

Postup při přípravě vzorku a kritéria pro metody zkoušení použité při stanovení množství ochratoxinu A v určitých potravinách a surovinách

1. Preventivní opatření

Vzhledem k tomu, že rozložení ochratoxinu A je velmi nehomogenní, měly by být vzorky připraveny, a zejména homogenizovány, mimořádně pečlivě.

Veškerý materiál obdržení laboratoří má být použit k přípravě zkušebního materiálu.

2. Zpracování vzorku obdržení laboratoří

Celý souhrnný vzorek se jemně rozemele a důkladně promísí postupem, u něhož je prokázáno, že jím lze dosáhnout úplné homogenizace.

3. Rozdělení vzorků pro vyšetření za účelem potvrzení a obhajoby v obchodním sporu

Opakované vzorky pro vyšetření za účelem potvrzení, obhajoby v obchodním sporu a pro rozhodčí vyšetření se odeberou ze zhomogenizovaného materiálu, pokud to není v rozporu s § 3 a 4 této vyhlášky.

4. Metody zkoušení, které má laboratoř použít, a požadavky na řízení laboratoře

4.1 Definice

Dále je uvedeno několik nejběžnějších definic, které musí laboratoř použít.

Nejčastěji uváděnými parametry přesnosti jsou opakovatelnost a reprodukovatelnost

r = opakovatelnost - hodnota, pod níž bude podle očekávání s danou pravděpodobností (obvykle 95 %) ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou samostatných stanovení za podmínek opakovatelnosti (tj. stejný vzorek, tentýž pracovník, tatáž aparatura, tatáž laboratoř, stanoveny krátce po sobě); $r = 2,8 \times s_r$

s_r = směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků získaných za podmínek opakovatelnosti

RSD_r = relativní směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků získaných za podmínek opakovatelnosti $[(s_r/\bar{x}) \times 100]$, kde \bar{x} je průměr výsledků ze všech laboratoří a vzorků

R = reprodukovatelnost - hodnota, pod níž bude podle očekávání s danou pravděpodobností (obvykle 95 %) ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou samostatných stanovení za podmínek reprodukovatelnosti (tj. stejným materiál získaný pracovníky různých laboratoří, za použití standardizované zkušební metody); $R = 2,8 \times s_R$

s_R = směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků za podmínek reprodukovatelnosti

RSD_R = relativní směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků získaných za podmínek reprodukovatelnosti $[(s_R/\bar{x}) \times 100]$;

4.2 Obecné požadavky

Metody zkoušení použité pro účely kontroly potravin musí být, kdykoli je to možné, v souladu s § 9 této vyhlášky.

4.3 Specifické požadavky

Nejsou-li na úrovni Evropských společenství předepsány specifické metody pro stanovení množství ochratoxinu A v potravinách, mohou laboratoře zvolit jakoukoliv metodu za předpokladu, že splňuje následující kritéria:

Charakteristika účinnosti metody pro stanovení ochratoxinu A

Množství μg/kg	Ochratoxin A		
	RSD _r (%)	RSD _R (%)	Výtěžnost (%)
< 1	≤ 40	≤ 60	50 až 120
1 až 10	≤ 20	≤ 30	70 až 110

- Detekční limity použitých metod nejsou uvedeny, neboť přesnost je uvedena pro uvažované koncentrace.
- Hodnoty přesnosti jsou vypočteny z Horwitzovy rovnice:

$$RSD_R = 2^{(1 - 0,5 \log C)}$$
 kde:
 - RSD_R je relativní směrodatná odchylka vypočtená z výsledků získaných za podmínek reprodukovatelnosti $[(s_R/\bar{x}) \times 100]$,
 - c je poměr koncentrací (tj. 1 = 100 g/100 g, 0,001 = 1 000 mg/kg).
 Toto je zobecněná rovnice pro přesnost, u níž se ukazuje, že u většiny rutinních metod zkoušení nezávisí na analytu a matici, nýbrž pouze na koncentraci.

4.4 Výpočet výtěžnosti

Uvede se výsledek zkoušky korigovaný nebo nekorigovaný na výtěžek. Musí být uveden způsob uvedení výtěžku a jeho hodnota.

4.5 Normy jakosti laboratoře

Laboratoře musí splňovat požadavky zvláštního právního předpisu.*)

*) Například § 3 odst. 3 zákona č. 146/2002 Sb., o Státní zemědělské a potravinářské inspekci a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů.

Příprava vzorků a kritéria pro metody zkoušení pro kontrolu dodržování maximálních limitů olova, kadmia, rtuti a 3-chloropropan-1,2-diolu v určitých potravinách a surovinách

1. Úvod

Základním požadavkem je získat reprezentativní a homogenní laboratorní vzorek, aniž dochází k sekundární kontaminaci.

2. Specifické postupy přípravy vzorků pro olovo, kadmium a rtuť

Existuje řada vyhovujících postupů přípravy vzorků, které mohou být použity pro dotyčné výrobky. Postupy uvedené v návrhu evropské normy „Potraviny. Stanovení stopových prvků. Požadavky na účinnost a všeobecné zásady.“ se ukázaly jako vyhovující, ale správné mohou být i jiné postupy.

U každého postupu musí být dodržena tato pravidla:

- mušle, koryši a malé ryby: pokud se jedí celé, vnitřnosti musí být součástí materiálu, který má být zkoušen,
- zelenina: vyšetřuje se pouze jedlá část, přičemž musí být vzaty v úvahu požadavky nařízení Evropských společenství č. 466/2001.

3. Metody zkoušení, které má laboratoř použít, a požadavky na laboratorní vyšetření

3.1 Definice

Níže je uvedeno několik nejběžnějších definic, které musí laboratoř použít:

r = opakovatelnost - hodnota, pod níž bude podle očekávání s danou pravděpodobností (obvykle 95 %) ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou samostatných stanovení za podmínek opakovatelnosti (tj. stejný vzorek, tentýž pracovník, stejná aparatura, tatáž laboratoř, stanoveno krátce po sobě); $r = 2,8 \times s_r$;

s_r = směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků získaných za podmínek opakovatelnosti;

RSD_r = relativní směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků získaných za podmínek opakovatelnosti $[(s_r/\bar{x}) \times 100]$, kde \bar{x} je průměr výsledků ze všech laboratoří a vzorků;

R = reprodukovatelnost - hodnota, pod níž bude podle očekávání s danou pravděpodobností (obvykle 95 %) ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou samostatných stanovení za podmínek reprodukovatelnosti (tj. stejným materiál získaný pracovníky různých laboratoří, stejný postup); a tedy $R = 2,8 \times s_R$;

s_R = směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků za podmínek reprodukovatelnosti;

RSD_R = relativní směrodatná odchylka - vypočtená z výsledků získaných za podmínek reprodukovatelnosti $[(s_R/\bar{x}) \times 100]$;

$HORRAT_r$ = zjištěná hodnota RSD_r dělená hodnotou RSD_r vypočtenou z Horwitzovy rovnice za předpokladu $r = 0,66R$;

$HORRAT_R$ = zjištěná hodnota RSD_R dělená hodnotou RSD_R vypočtenou z Horwitzovy rovnice.

3.2 Obecné požadavky

Metody zkoušení použité pro účely kontroly potravin musí být, kdykoli je to možné, v souladu s § 9 této vyhlášky.

Pro stanovení obsahu olova ve víně je předepsána metoda uvedená v kapitole 35 přílohy nařízení Komise Evropských společenství č. 2676/90, kterým se stanoví metody Společenství pro zkoušení vín.

3.3 Specifické požadavky

3.3.1 Zkoušení obsahu olova, kadmia a rtuti

Specifické metody pro stanovení obsahu olova, kadmia a rtuti nejsou předepsány. Laboratoře použijí validované metody, které splňují charakteristiky účinnosti uvedené v tabulce 3. Zkušební materiály použité v okruhovém testu laboratoří za účelem validace metod by měly podle možnosti obsahovat certifikovaný referenční materiál.

Tabulka 3: Charakteristiky účinnosti metod pro zkoušení obsahu olova, kadmia a mědi

Charakteristika	Hodnota / komentář
Použitelnost	potraviny uvedené v nařízení Evropských společenství č. 466/2001
Mez detekce	nesmí být vyšší než jedna desetina hodnoty uvedené v nařízení Evropských společenství č. 466/2001, kromě případu, kdy je pro olovo uvedena hodnota nižší než 0,1 mg/kg. V tomto případě nesmí být vyšší než jedna pětina uvedené hodnoty
Mez stanovení	nesmí být vyšší než jedna pětina hodnoty uvedené v nařízení Evropských společenství č. 466/2001, kromě případu, kdy je pro olovo uvedena hodnota nižší než 0,1 mg/kg. V tomto případě nesmí být vyšší než dvě pětiny uvedené hodnoty
Přesnost	hodnoty $HORRAT_T$ nebo $HORRAT_R$ z validačního kruhového testu musí být nižší než 1,5
Výtěžnost	80 – 120 % (podle validačního kruhového testu)
Specifičnost	nesmí rušit matrice nebo jiné látky při spektrální analýze

3.3.2 Zkoušení obsahu 3-chlorpropan-1,2-diolu

Specifické metody pro stanovení obsahu 3-chlorpropan-1,2-diolu nejsou předepsány. Laboratoře použijí validované metody, které splňují charakteristiky účinnosti uvedené v tabulce 4. Zkušební materiály použité v kruhovém testu laboratoří za účelem validace metod by měly podle možnosti obsahovat certifikovaný referenční materiál. Specifická metoda byla validována v kruhovém testu a splnila požadavky uvedené v tabulce 4.

Tabulka 4: Charakteristiky účinnosti metod pro zkoušení 3-chlorpropan-1,2-diolu

Charakteristika	Doporučená hodnota	Koncentrace
Slepý pokus	Nižší než mez detekce	—
Výtěžek	75 až 110 %	Celý rozsah koncentrací
Mez stanovitelnosti	10 (nebo méně) $\mu\text{g}/\text{kg}$, vztaženo na sušinu	—
Směrodatná odchylka slepého pokusu	Méně než 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$	—
Odhady přesnosti v rámci laboratoře – směrodatná odchylka opakovaných měření při různých koncentracích	< 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$
	< 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$	30 $\mu\text{g}/\text{kg}$
	< 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$	40 $\mu\text{g}/\text{kg}$
	< 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$	50 $\mu\text{g}/\text{kg}$
	< 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$	100 $\mu\text{g}/\text{kg}$

3.4 Odhad správnosti zkoušky a výpočet výtěžnosti

Kdykoliv je to možné, odhadne se správnost zkoušky tak, že se provede kontrolní zkouška vhodného certifikovaného referenčního materiálu.

Přihlíží se k „Harmonizovaným pokynům pro použití hodnot výtěžnosti při analytických měřeních“ vypracovaným pod patronací IUPAC/ISO/AOAC.

Výsledky zkoušky budou uvedeny jako korigované nebo nekorigované. Tato informace musí být uvedena, stejně jako výtěžnost.

3.5 Normy řízení jakosti laboratoře

Laboratoře musí splňovat ustanovení zvláštního právního předpisu.*)

3.6 Vyjadřování výsledků

Výsledky se vyjadřují ve stejných jednotkách, v jakých jsou stanoveny maximální limity v nařízení Evropských společenství č. 466/2001.

*) Například § 3 odst. 3 zákona č. 146/2002 Sb., o Státní zemědělské a potravinářské inspekci a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů.

Příprava vzorků a požadavky na metody zkoušení použité pro stanovení množství dioxinů (dibenzo-1,4-dioxinů) a stanovení polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem v určitých potravinách

1. Cíle a oblast použití

Tyto požadavky se vztahují na zkoušení potravin pro úřední kontrolu množství dioxinů (polychlorovaných dibenzo-1,4-dioxinů) a polychlorovaných dibenzofuranů a stanovení polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem.

Monitorování přítomnosti dioxinů v potravinách může být založeno na strategii využívající screeningovou metodu k vyhledání vzorků s obsahem dioxinů o 30 až 40 % nižším nebo vyšším, než je zájmová úroveň. Koncentrace dioxinů v těchto vzorcích s významnými množstvími se stanoví nebo potvrdí potvrzující metodou.

Screeningové metody jsou metodami sloužícími k detekci dioxinů a polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem na zájmové úrovni. Tyto metody mají vysokou kapacitu, pokud jde o množství vzorků, a jsou používány k vytřídění potenciálně pozitivních vzorků z velkého množství vzorků. Jsou speciálně vyvinuty tak, aby neposkytovaly falešně negativní výsledky.

Potvrzující metody jsou metodami poskytujícími úplnou nebo doplňující informaci umožňující jednoznačně kvalitativně a kvantitativně stanovit dioxiny na zájmové úrovni.

2. Základní informace

Vzhledem k tomu, že vzorky z životního prostředí a biologické vzorky (včetně vzorků potravin) zpravidla obsahují složitou směs různých kongenerů dioxinů, byla pro usnadnění posuzování rizik zavedena koncepce faktorů toxické rovnocennosti. Faktory toxické rovnocennosti byly navrženy tak, aby vyjadřovaly koncentraci směsi 2,3,7,8-substituovaných dibenzo-1,4-dioxinů a polychlorovaných dibenzofuranů, a od nedávné doby některých polychlorovaných bifenyly bez atomů chloru v ortho-polohách nebo s jedním atomem chloru v ortho-poloze, které vykazují dioxinovou aktivitu, v toxických ekvivalentech (TEQ) 2,3,7,8-tetrachlordibezodioxinu.

Koncentrace jednotlivých látek v daném vzorku se vynásobí jejich příslušnými faktory toxické rovnocennosti, sečtou se a výsledný součet je celkovou koncentrací sloučenin s dioxinovým efektem vyjádřenou v toxickém ekvivalentu.

Při metodě „horního odhadu“ je velikost příspěvku kvantitativně nestanoveného kongeneru k toxickému ekvivalentu rovna hodnotě meze stanovitelnosti.

Při metodě „dolního odhadu“ je velikost příspěvku kvantitativně nestanoveného kongeneru k toxickému ekvivalentu rovna nule.

Při metodě „středního odhadu“ je velikost příspěvku kvantitativně nestanoveného kongeneru k toxickému ekvivalentu rovna polovině hodnoty meze stanovitelnosti.

3. Požadavky na zabezpečení jakosti, které musí příprava vzorku splňovat

- Na každém stupni odběru vzorků a zkoušky musí být přijata opatření k zamezení křížové kontaminace.
- Vzorek musí být uchovávan a přepravován v nádobách ze skla, hliníku, polypropylenu nebo polyethylenu. Z nádoby na vzorky musí být odstraněny stopy papírového prachu. Sklo se vypláchne rozpouštědly, jež byla předem kontrolována na přítomnost dioxinů.
- Vzorek musí být uchovávan a přepravován tak, aby byla zachována celistvost vzorku potravin.

- Je-li třeba, každý laboratorní vzorek se jemně rozemele a důkladně promísí postupem, u něhož je prokázáno, že jím lze dosáhnout úplné homogenizace (např. rozemletím a proséváním přes 1 mm síto); je-li vlhkost vzorků příliš vysoká, musí se vzorky před rozemletím sušit.
- Provede se slepý pokus bez vzorku za použití celého analytického postupu.
- Hmotnost vzorku použitého pro extrakci musí být dostatečná, aby byly splněny požadavky na citlivost stanovení.
- Existuje mnoho uspokojivých postupů přípravy vzorku, které mohou být pro dotyčné vzorky použity. Postupy musí být validovány podle mezinárodně uznávaných metodik.

4. Požadavky na laboratoře

- Laboratoře musí prokázat funkčnost metody v rozsahu kolem zájmové úrovně, např. na při zájmové úrovni, při její polovině nebo jejím dvojnásobku, a to s přijatelným variačním koeficientem pro opakovanou zkoušku. Podrobnosti o kritériích přijatelnosti jsou uvedeny v bodě 5.
- Mez stanovení pro potvrzující metodu by měla být na úrovni jedné pětiny zájmové úrovně, aby se zajistilo, že na zájmové úrovni bude dosaženo přijatelných variačních koeficientů.
- Jako opatření vnitřní kontroly jakosti by měly být prováděny pravidelné slepé pokusy, pokusy s uměle obohacenými slepými vzorky nebo zkoušky kontrolních vzorků (přednostně certifikovaného referenčního materiálu).
- Úspěšná účast v mezilaboratorních srovnávacích testech, při nichž se hodnotí odbornost laboratoře, je nejlepším způsobem ověření odborné způsobilosti pro specifické zkoušky. Úspěšná účast v mezilaboratorních testech, např. pro vzorky půd nebo kalů, není nezbytně důkazem odborné způsobilosti v oblasti potravin nebo krmiv, v nichž se vyskytují nižší úrovně kontaminace. Proto je povinná stálá účast v mezilaboratorních testech stanovení dioxinů a polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem v odpovídajících maticích potravin nebo krmiv.
- V souladu s ustanovením § 9 této vyhlášky by měly být laboratoře akreditovány pověřeným orgánem pracujícím podle pokynů Mezinárodní normalizační organizace č. 58, aby bylo zajištěno, že uplatňují systém zabezpečování jakosti. Laboratoře by měly být akreditovány podle normy ISO/IEC/17025:1999.

5. Požadavky, které musí splňovat analytická metoda pro stanovení dioxinů a polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem

Základní požadavky na přijatelnost analytických postupů:

- Vysoká citlivost a nízká mez detekce. V případě dibenzo-1,4-dioxinů a polychlorovaných dibenzofuranů musí být z důvodu extrémní toxicity některých těchto sloučenin možné detekovat množství na pikogramové úrovni toxického ekvivalentu (10^{-12} g). Je známo, že se polychlorované bifenyly vyskytují ve vyšších koncentracích než dibenzo-1,4-dioxiny a polychlorované dibenzofurany. U většiny kongenerů polychlorovaných bifenyly je dostačující již nanogramová citlivost na úrovni (10^{-9} g). Pro stanovení toxicitějších kongenerů polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem (zejména kongenerů

nesubstituovaných chlorem v ortho-polohách) musí být dosaženo stejné citlivosti jako pro stanovení dibenzo-1,4-dioxinů a polychlorovaných dibenzofuranů.

- Vysoká specifická. Dibenzo-1,4-dioxiny, polychlorované dibenzofurany a polychlorované bifenyly s dioxinovým efektem je třeba rozlišit od ostatních sloučenin, které se extrahují společně s těmito látkami, mohou rušit při jejich stanovení a jsou přítomny v koncentracích až o několik řádů vyšších než koncentrace zájmových analytů. U metod založených na plynové chromatografii s detekcí hmotnostní spektrometrie je nezbytné rozlišit mezi různými kongenery, tj. mezi toxickými kongenery (např. sedmnácti dibenzo-1,4-dioxiny a polychlorovanými dibenzofurany substituovanými v polohách 2,3,7,8 a polychlorovanými bifenyly s dioxinovým efektem) a ostatními kongenery. Biotesty by měly umožnit určit hodnoty toxického ekvivalentu selektivně pro sumu dibenzo-1,4-dioxinů, polychlorovaných dibenzofuranů a polychlorované bifenyly s dioxinovým efektem.
- Vysoká správnost (pravdivost a přesnost). Stanovení by mělo poskytnout správný odhad skutečné koncentrace ve vzorku. Vysoká správnost (správnost měření: těsnost souhlasu mezi jediným výsledkem měření a skutečnou hodnotou nebo dohodnutou hodnotou) je nezbytná k tomu, aby nebyl zamítnut výsledek zkoušky vzorku na základě nespolehlivosti odhadu toxického ekvivalentu. Správnost je vyjádřena pravdivostí (rozdílem mezi střední hodnotou získanou měřením pro analyt v certifikovaném materiálu a certifikovanou hodnotou vyjádřeným v procentech této certifikované hodnoty) a přesností (přesnost se obvykle počítá jako směrodatná odchylka včetně opakovatelnosti a reprodukovatelnosti a vyjadřuje těsnost souhlasu mezi výsledky získanými několikerým opakováním experimentálního postupu za předepsaných podmínek).
Screeningovými metodami mohou být biotesty a metody založené na založených na plynové chromatografii s detekcí hmotnostní spektrometrie. Potvrzujícími metodami jsou metody založené na plynové chromatografii s vysokým rozlišením s detekcí hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením. Stanovení hodnoty celkového toxického ekvivalentu musí splňovat následující kritéria:

	Screeningové metody	Potvrzující metody
Podíl falešně negativních výsledků	< 1 %	-
Pravdivost	-	-20 % až +20 %
Variační koeficient	< 30 %	< 15 %

6. Specifické požadavky, které musí splňovat metody založené na plynové chromatografii s detekcí hmotnostní spektrometrie určené pro účely screeningu nebo potvrzování

- S cílem validovat postup zkoušky musí být na samém začátku postupu, např. před extrakcí, přidány vnitřní standardy 2,3,7,8-tetrachlor-substituovaných dibenzo-1,4-dioxinů a polychlorovaných dibenzofuranů značených isotopem ¹³C (a standard polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem značený isotopem ¹³C při stanovení polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem). Musí být přidán alespoň jeden kongener pro každou skupinu od tetra- do oktachlor dibenzo-1,4-dioxinů a dibenzofuranů (a alespoň jeden kongener pro každou ze skupin pro polychlorované bifenyly s dioxinovým efektem při stanovení polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem), popřípadě k tomu alespoň jeden kongener pro každý ion detekovaný hmotnostní spektrometrií pro monitorování dibenzo-1,4-dioxinů a polychlorovaných dibenzofuranů a polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem. Zejména v případě potvrzující metody je výhodou použití

všech 17 vnitřních standardů 2,3,7,8-substituovaných dibenzo-1,4-dioxinů a dibenzofuranů značených isotopem ^{13}C a všech 12 vnitřních standardů polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem značených isotopem ^{13}C při stanovení polychlorovaných bifenyly s dioxinovým efektem.

Za použití vhodných kalibračních roztoků by měly být stanoveny také relativní odezvy kongenerů, pro něž nebyly přidány sloučeniny značené isotopem ^{13}C .

- U potravin rostlinného původu nebo potravin živočišného původu s obsahem tuku nižším než 10 % je přídavek vnitřního standardu před extrakcí povinný. U potravin živočišného původu s obsahem tuku vyšším než 10 % lze vnitřní standard přidat buď před extrakcí, nebo po extrakci. Vhodným způsobem by měla být provedena validace účinnosti extrakce, a to v závislosti na okamžiku přidání vnitřních standardů a podle toho, zda se výsledky vztahují na výrobek nebo na obsah tuku.
- Před zkouškou plynovou chromatografií s detekcí hmotnostní spektrometrií musí být přidán 1 nebo 2 standardy pro stanovení výtěžnosti.
- Kontrola výtěžnosti je nezbytná. U potvrzujících metod by měly výtěžnosti pro jednotlivé vnitřní standardy ležet v intervalu 60 % až 120 %. Nižší nebo vyšší výtěžnosti jednotlivých kongenerů, zejména některých hepta- a okta-chlordibenzodioxinů a dibenzofuranů jsou přijatelné za podmínky, že jejich příspěvek k hodnotě toxického ekvivalentu nepřekračuje 10 % celkové hodnoty toxického ekvivalentu (založené pouze na dibenzo-1,4-dioxinech a polychlorovaných dibenzofuranech). U screeningových metod by měly výtěžnosti ležet v intervalu od 30 % do 140 %.
- Separace dioxinů od rušících chlorovaných sloučenin, jako jsou polychlorované bifenyly a chlorované ethery bifenyly, by měla být provedena vhodnými chromatografickými technikami (upřednostňují se adsorbenty florisil, oxid hlinitý nebo aktivní uhlí).
- Rozlišení isomerů plynovou chromatografií musí být dostatečné (poměr píků mezi 1,2,3,4,7,8-hexachlordibenzofuranem a 1,2,3,6,7,8-hexachlordibenzofuranem - < 25 %).
- Stanovení by mělo být provedeno revidovanou metodou EPA 1613/B nebo jinou metodou se srovnatelnými charakteristikami účinnosti.
- U potravin s úrovní kontaminace dioxiny přibližně 1 pg toxického ekvivalentu (podle Světové zdravotnické organizace na gram tuku - toxický ekvivalent založen pouze na dibenzo-1,4-dioxinech a polychlorovaných dibenzofuranech) by neměl rozdíl mezi horním odhadem a dolním odhadem překročit 20 %. U potravin s nízkým obsahem tuku musí být při úrovni kontaminace přibližně 1 pg toxického ekvivalentu (podle Světové zdravotnické organizace na gram produktu) dodrženy tytéž požadavky. Při nižších úrovních kontaminace, např. 0,50 pg toxického ekvivalentu podle Světové zdravotnické organizace na gram produktu může být rozdíl mezi horním a dolním odhadem v rozmezí 25 až 40 %.

7. Screeningové metody zkoušení

7.1 Úvod

Screeningové metody mohou být využity při různých přístupech k provádění zkoušky: k čistému screeningu a ke kvantitativnímu zkoušení.

Screeningový přístup

Odezva vzorku je porovnávána s odezvou referenčního vzorku o zájmové úrovni. Vzorky s odezvou nižší než referenční vzorek se prohlásí za negativní, vzorky s vyšší odezvou se považují za pozitivní. Požadavky:

- Slepé a referenční vzorky se zařadí do každé zkoušené série, která je extrahována a zkoušena současně a za stejných podmínek. Referenční vzorky musí vykazovat zřetelně vyšší odezvu ve srovnání se slepým vzorkem.
- Kromě toho se zařadí referenční vzorky o poloviční a dvojnásobné koncentraci než je zájmová úroveň, aby se prokázalo správné provádění zkoušky v rozsahu odpovídajícím zájmové úrovni.
- Při zkoušení jiných matic musí být prokázána vhodnost referenčního vzorku (referenčních vzorků), a to přednostně zařazením vzorků, u nichž byla metodou metody založené na plynové chromatografii s vysokým rozlišením s detekcí hmotnostní spektrometrie. Stanovením hodnoty plynovou chromatografií s detekcí hmotnostní spektrometrií musí být prokázána hodnota toxického ekvivalentu blízká hodnotě v referenčním vzorku, nebo také slepého vzorku uměle obohaceného na tuto hodnotu.
- Vzhledem k tomu, že v biotestech nelze použít žádné vnitřní standardy, jsou testy opakovatelnosti velmi důležité pro získání informací o směrodatné odchylce v rámci zkušební série. Variační koeficient by měl být nižší než 30 %.
- U biotestů musí být vymezeny cílové sloučeniny, možné rušivé vlivy a nejvyšší přípustná úroveň ve slepém vzorku.

Kvantitativní zkoušení

Kvantitativní zkoušení vyžaduje sériové ředění standardního roztoku, dvakrát nebo třikrát opakované čištění a měření a rovněž zařazení slepých vzorků a kontroly výtěžnosti. Výsledky mohou být vyjadřovány v toxických ekvivalentech, přičemž se vychází z toho, že sloučeniny, jež způsobily signál, vyhovují principu toxického ekvivalentu. To lze realizovat pomocí tetrachlordibenzodioxinů (nebo standardní směsi tetrachlordibenzodioxin/tetrachlordibenzofuran), přičemž se sestrojí kalibrační křivka pro výpočet toxického ekvivalentu extraktu a tedy i vzorku. Poté se provede korekce na toxický ekvivalent slepého pokusu (aby se zohlednily nečistoty v použitých rozpouštědlech a chemikáliích) a na výtěžnost (vypočítanou z toxického ekvivalentu vzorku určeného pro řízení jakosti s toxickým ekvivalentem na zájmové úrovni). Je nezbytné poznamenat, že snížení výtěžnosti může být částečně způsobeno maticovými jevy anebo rozdíly mezi hodnotami faktorů toxické rovnocennosti v biotestech a oficiálními hodnotami faktorů toxické rovnocennosti podle Světové zdravotnické organizace.

7.2 Požadavky na metody zkoušení použité pro screening

- Pro screening mohou být použity metody založené na plynové chromatografii s detekcí hmotnostní spektrometrií a biotesty. U metod založených na plynové

chromatografii s detekcí hmotnostní spektrometrií platí požadavky uvedené v bodě 6. Specifické požadavky na biotesty na buňkách jsou uvedeny v bodě 7.3 a požadavky na biotesty se sadami jsou uvedeny v bodě 7.4.

- Je nezbytné uvést, jaký je počet falešně pozitivních a falešně negativních výsledků ve velkých sadách vzorků s hodnotami ležícími nad a pod maximálním limitem nebo zásahovou úrovní ve srovnání s výsledky toxického ekvivalentu získanými potvrzujícími metodami zkoušení. Skutečný podíl falešně negativních výsledků by měl být nižší než 1 %. Podíl falešně pozitivních výsledků by měl být dostatečně nízký, aby bylo použití screeningu výhodné.
- Pozitivní výsledky musí být vždy potvrzeny potvrzující metodou zkoušení založenou na plynové chromatografii s vysokým rozlišením s detekcí hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením. Kromě toho musí být potvrzující metodou založenou na plynové chromatografii s detekcí hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením potvrzeny výsledky u vzorků s širokým rozmezím hodnot toxického ekvivalentu (přibližně 2 % až 10 % negativních vzorků). Měly by být k dispozici informace o shodě výsledků biotestů a metod založených na plynové chromatografii s vysokým rozlišením s detekcí hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením.

7.3 Specifické požadavky na biotesty na buňkách

- Při provádění biotestu je nezbytné použít pro každý test sérii referenčních koncentrací tetra-chlordibenzodioxinů nebo směsi tetrachlordibenzodioxin/tetrachlordibenzofuran (celá křivka závislosti odezvy na dávce s $r^2 > 0,95$). Pro účely screeningu však může být ke zkoušení vzorků s nízkými hodnotami použita křivka prodloužená do oblasti nízkých hodnot.
- Pro vyjadřování výsledků biotestů v rámci konstantního časového období může být použita referenční koncentrace tetrachlordibenzodioxinů (asi 3krát vyšší než mez stanovení) uvedená v protokolu řízení jakosti. Alternativou by mohla být relativní odezva referenčního vzorku vzhledem ke kalibrační křivce tetra-chlordibenzodioxinů, neboť odezva buněk může záviset na mnoha faktorech.
- Pro každý typ referenčního materiálu by měly být zaznamenávány a ověřovány grafy řízení jakosti, aby se zajistilo, že výsledky jsou v souladu se stanovenými pokyny.
- Zejména při kvantitativních výpočtech musí být použito takové ředění vzorku, aby leželo v lineárním úseku křivky závislosti odezvy. Vzorky ležící nad lineárním úsekem křivky závislosti odezvy se musí zředit a znovu zkoušet. Doporučuje se tedy, aby byly současně zkoušeny alespoň tři nebo více stupňů ředění.
- Směrodatná odchylka vyjádřená v procentech nesmí být při třech stanoveních pro žádný stupeň ředění vyšší než 15 % a pro tři nezávislé experimenty nesmí být vyšší než 30 %.
- Mez detekce může být stanovena na úrovni trojnásobku směrodatné odchylky slepého vzorku rozpouštědla nebo odezvy pozadí. Jinou možností je použít odezvu, která leží nad odezvou pozadí vypočtenou z kalibrační křivky sestavené v daný den (indukční faktor pětinašobek odezvy slepého vzorku rozpouštědla). Mez stanovení může být stanovena na úrovni pěti- až šestinašobku směrodatné

odchylky odezvy slepého vzorku rozpouštědla nebo pozadí, nebo se použije odezva, která je nad odezvou pozadí vypočtenou z kalibrační křivky sestrojené v daný den (indukční faktor desetinásobek odezvy slepého vzorku rozpouštědla).

7.4 Specifické požadavky na sady biotestů

- Při přípravě vzorku a při zkouškách musí být dodrženy pokyny výrobce.
- Testovací sady nesmí být použity po datu použitelnosti.

- Neměly by se používat materiály nebo součásti určené pro použití s jinou sadou.

- Testovací sady by měly být uchovávány při daných skladovacích teplotách a měly by být používány při předepsané pracovní teplotě.

- Mez detekce imunotestů se stanoví jako podíl hodnoty odezvy trojnásobku směrodatné odchylky odezvy deseti opakovaných stanovení provedených se slepým vzorkem a hodnoty směrnice přímky získané lineární regresí.

- Pro kontrolu, zda odezva leží v přijatelném rozsahu, by měly při laboratorních testech použity referenční standardy.

8. Oznamování výsledků

Pokud to analytický postup umožňuje, měly by analytické výsledky obsahovat hodnoty pro jednotlivé kongenery dibenzo-1,4-dioxinů a dibenzofuranů a polychlorovaných bifenyly a mělo by být uvedeno, zda jde o horní, dolní nebo střední odhad, aby bylo ve zprávě o výsledcích uvedeno maximální množství informací a bylo tím umožněno interpretovat výsledky podle specifických požadavků.

Ve zprávě by měl být také uveden obsah lipidů ve vzorku a metoda extrakce lipidů.

Jestliže výtěžnost leží mimo rozmezí uvedené v bodě 6, nebo je-li překročen maximální limit, a dále na požádání, musí být k dispozici výtěžnost pro jednotlivé vnitřní standardy.

Kvalitativní metody zkoušení reziduí bifenyly, 2-fenylfenolu a 2-fenylfenolátu sodného v kůře citrusových plodů

1. Účel a rozsah

Níže popsaná metoda umožňuje prokázat přítomnost reziduí bifenyly, 2-fenylfenolu nebo 2-fenylfenolátu sodného v kůře citrusových plodů. Mez citlivosti této metody v absolutním měřítku je přibližně 5 µg pro bifenyl a 1 µg pro 2-fenylfenol nebo 2-fenylfenolát sodný a odpovídá 5 mg bifenyly (5 ppm), popřípadě 1 miligramu 2-fenylfenolu (1 ppm) v kůře z jednoho kilogramu citrusových plodů.

Pokud jsou citrusové plody ošetřeny výše uvedenými výrobky, nachází se uložená rezidua převážně v kůře plodů. Kvantitativní stanovení těchto reziduí v celých plodech se tedy jeví nezbytné pouze tehdy, jsou-li nalezena v kůře.

2. Princip metody

Extrakcí kůry dichlormethanem v kyselém prostředí se získá extrakt, který se zkoncentruje a rozdělí chromatografií na tenké vrstvě silikagelu. Přítomnost bifenyly, 2-fenylfenolu nebo 2-fenylfenolátu sodného se prokazuje fluorescencí a barevnými reakcemi.

3. Činidla

- cyklohexan, p.a.,
- dichlormethan, p.a.,
- kyselina chlorovodíková, 25% ,
- silikagel GF 254 Merck nebo ekvivalentní,
- 0,5% roztok 2,4,7-trinitrofluorenonu (Fluka, B.D.H nebo ekvivalentní) v acetonu,
- 0,1% roztok 2,6-dibrom-N-chlor-1,4-benzochinon-4-iminu v ethanolu (stálý až jeden týden, pokud je uchován v chladničce),
- koncentrovaný roztok amoniaku, hustota 0,9 g/ml,
- standardní 1% roztok čistého bifenyly v cyklohexanu,
- standardní 1% roztok čistého 2-fenylfenolu v cyklohexanu

4. Přístroje a pomůcky

- mixér,
- 250 ml baňka se zábrusem a zpětným chladičem ,
- vakuová odparka ,
- mikropipety,
- zařízení pro chromatografii na tenké vrstvě s deskami o rozměru 20×20 cm,

- UV lampa (254 nm): její intenzita by měla být taková, aby byla viditelná skvrna 5 µg bifenyly,
- zařízení pro rozprašování reakčních činidel,
- sušárna

5. Metoda

a) Příprava vzorku a extrakce

Všechny plody ve vzorku pro zkoušení se nakrájí na půlky. Z každého plodu se ponechá půlka pro kvantitativní stanovení reziduí bifenyly anebo 2-fenylfenolu. Ze zbylých půlek se odeberou kousky kůry tak, aby vznikl vzorek o hmotnosti přibližně 80 g. Kousky se nakrájí, rozdrtí v mixéru a převedou se do 250 ml baňky, do které se přidá 1 ml 25% kyseliny chlorovodíkové a 100 ml dichlormethanu. Směs se zahřívá deset minut pod zpětným chladičem. Po vychladnutí a opláchnutí chladiče asi 5 ml dichlormethanu se směs zfiltruje přes skládaný filtr. Roztok se převede do odparky a přidá se několik varných kamínků. Za sníženého tlaku při teplotě 60 °C se roztok zkoncentruje na objem přibližně 10 ml. Pokud se použije rotační odparka, měla by být baňka udržována ve stabilní poloze, aby nedošlo ke ztrátám bifenyly v důsledku vytváření jeho filmu v horní části stěny baňky.

b) Chromatografie na tenké vrstvě

Do mixéru se vloží 30 g silikagelu a 60 ml vody a mísí se jednu minutu. Směs se poté nanese na 5 chromatografických desek tak, aby vznikla vrstva o tloušťce přibližně 0,25 mm. Desky pokryté touto vrstvou se vystaví na 15 minut proudu horkého vzduchu a poté se umístí do sušárny, kde se ponechají 30 minut při teplotě 110 °C.

Po vychladnutí se každá deska rozdělí rovnoběžnými rýhami pronikajícími vrstvou k desce na pruhy široké 2 cm. Na každý pruh, přibližně 1,5 cm od spodního okraje, se těsně vedle sebe, v podobě řady kapek, nanese 50 µl extraktu určeného ke zkoušce. Nejméně jeden pruh se ponechá pro kontrolní stanovení, které spočívá v nanesení 1 µl (tj. 10 µg) standardních roztoků bifenyly a 2-fenylfenolu.

Chromatografické desky se vyvíjejí ve směsi cyklohexanu a dichlormethanu (25:95) v chromatografických komorách vyložených filtračním papírem.

c) Detekce a identifikace

Přítomnost bifenyly nebo 2-fenylfenolu se projeví výskytem skvrn viditelných v UV záření (254 nm). 2-fenylfenolát sodný byl převeden na 2-fenylfenol při extrakci v kyselém prostředí, a jeho přítomnost tedy nemůže být rozlišena od přítomnosti 2-fenylfenolu. Produkty se identifikují následujícím způsobem:

- bifenyl, je-li postříkán roztokem 2,4,7-trinitrofluoren-9-onu, dává na denním světle žluté skvrny,
- 2-fenylfenol, je-li postříkán roztokem 2,6-dibrom-N-chlor-1,4-benzochinon-4-iminu a následně po krátkém působení horkého vzduchu vystaven atmosféře nasycené amoniakem, dává modré skvrny.

Kvantitativní metoda zkoušení reziduí bifenyly v citrusových plodech

1. Účel a rozsah

Níže popsaná metoda je metodou pro kvantitativní zkoušení reziduí bifenyly v celých citrusových plodech. Přesnost metody je $\pm 10\%$ pro obsah bifenyly větší než 10 mg na kg plodů (10 ppm).

2. Podstata metody

Po destilaci v kyselém prostředí a extrakci cyklohexanem se extrakt rozdělí chromatografií na tenké vrstvě silikagelu. Po vyvinutí se bifenyl eluuje a stanoví spektrofotometricky při 248 nm.

3. Činidla

- koncentrovaný roztok kyseliny sírové,
- emulze silikonového odpěňovače,
- cyklohexan, p.a.,
- hexan, p.a.,
- ethanol, p.a.,
- bezvodý síran sodný,
- silikagel GF 254 Merck nebo ekvivalentní,
- standardní 1% roztok čistého bifenyly v cyklohexanu: ředěním cyklohexanem se připraví tyto roztoky:

a) 0,6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

b) 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

c) 1,4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

4. Přístroje a pomůcky

- 1 mixér o obsahu 1 litr,
- 2 l destilační baňka s modifikovaným separátorem podle Clevengera a zpětným chladičem,
- 10 ml odměrná baňka,
- 50 μl mikropipety,
- zařízení pro chromatografií na tenké vrstvě s deskami o rozměru 20×20 cm,
- sušárna,
- centrifuga s 15 ml kuželovými kyvetami,
- UV spektrofotometr

5. Metoda

a) Příprava vzorku a extrakce

Všechny plody ve vzorku pro zkoušení se nakrájí na půlky.

Z každého plodu se ponechá půlka pro kvalitativní zkoušení reziduí bifenyly, 2-fenylfenolu nebo 2-fenylfenolátu sodného. Zbylé půlky se shromáždí a rozemelou v mlýnku nebo se rozdrtí, aby vznikla homogenní směs. Z této směsi se odeberou alespoň dva dílčí vzorky po 200 g k následující zkoušce. Každý dílčí vzorek se umístí do mixéru se 100 ml vody a několik sekund se mixuje při nízké rychlosti. Přidává se voda tak dlouho, dokud objem směsi nedosáhne tří čtvrtin kapacity mixéru, a poté se směs mixuje 5 minut plnou rychlostí. Výsledný homogenát se převede do 2 l destilační baňky. Mixér se vypláchne vodou, která se přidá k obsahu destilační baňky. Celkové množství vody použité při mixování a k vypláchnutí má být 1 l. Ke směsi se přidají 2 ml kyseliny sírové, 1 ml odpeňovací emulze a několik varných kamínků. Na baňku se nasadí separátor a zpětný chladič. Do separátoru se přidává destilovaná voda, dokud její hladina zřetelně nevystoupí nad spodní část postranní vratné trubice. Potom se přidá 7 ml cyklohexanu a 2 hodiny se destiluje. Obsah separátoru se poté převede do 10 ml odměrné baňky, separátor se vypláchne přibližně 1,5 ml cyklohexanu, který se přidá k obsahu baňky, jejíž objem se poté doplní cyklohexanem. Nakonec se přidá bezvodý síran sodný a směs se protřepe.

b) Chromatografie na tenké vrstvě

Do mixéru se dá 30 g silikagelu a 60 ml vody a míší se 1 minutu. Směs se poté nanese na 5 chromatografických desek tak, aby vznikla vrstva o tloušťce přibližně 0,25 mm. Desky pokryté touto vrstvou se vystaví na patnáct minut proudu horkého vzduchu a poté se umístí do sušárny, kde se ponechají 30 minut při teplotě 110 °C. Po vychladnutí se každá deska rozdělí rovnoběžnými rýhami pronikajícími vrstvou k desce na čtyři pruhy široké 4,5 cm. Na jeden pruh, přibližně 1,5 cm od spodního okraje, se těsně vedle sebe, v podobě řady kapek, nanese 50 µl extraktu určeného ke zkoušce. Na každý ze zbývajících pruhů se stejným způsobem nanese 50 µl standardních roztoků a), b) a c), které odpovídají 30, 50 a 70 µg bifenyly.

Jestliže se provádí řada zkoušek, nemusí být standardní roztoky nanášeny na každou desku a kalibrační křivka může být sestrojena z průměrů hodnot získaných nejméně z pěti desek, na které byla nanesena stejná množství standardních roztoků.

c) Vyvíjení chromatogramů a eluce

Chromatogramy se vyvíjejí v hexanu do výšky 17 cm v chromatografických komorách vyložených filtračním papírem. Poté se desky vysuší v proudu vzduchu. Místa, na kterých se nachází bifenyl, se určí v UV světle (254 nm) a vymezi se čtyřúhelníky o stejných plochách.

Takto vymezené plochy se ihned čistě seškrábnou špachtlí v celé tloušťce vrstvy. Ze seškrábnuté vrstvy se 10 ml ethanolu po dobu 10 minut za několikerého protřepání extrahuje bifenyl. Směs se přenese do centrifugačních kyvet a centrifuguje se pět minut při 2500 ot./min.

Stejným způsobem se odebere vrstva o stejné ploše pro slepý pokus. Jestliže se provádí řada zkoušek, odebere se tato vrstva pro slepý pokus z nepoužitého pruhu na desce; jestliže se provádějí jednotlivé zkoušky, odebere se z jednoho z pruhů obsahujících standardní roztok z oblasti pod plochou obsahující bifenyl.

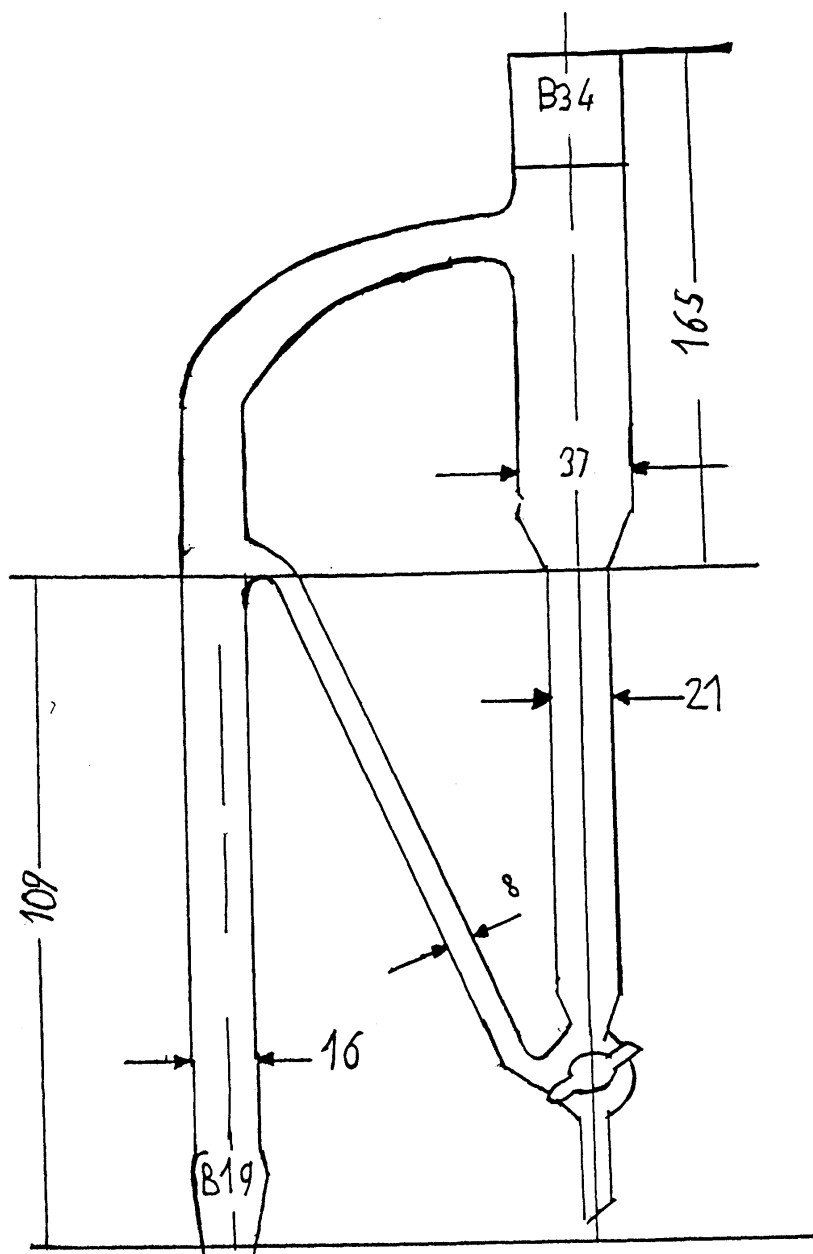
d) Spektrofotometrické stanovení

Horní vrstva se dekanuje do spektrofotometrických kyvet a stanoví se absorbance při 248 nm měření proti extraktu z plochy neobsahující bifenyly (slepému pokusu).

6. Výpočet a výsledky

Sestrojí se kalibrační křivka vynesemím hodnot odpovídající absorbance stanovené spektrofotometricky pro 30, 50 a 70 μg bifenyly. Sestrojená přímka prochází počátkem. Tento graf umožňuje odečíst obsah bifenyly ve vzorcích v ppm přímo z hodnot absorbance jejich extraktů.

7. Modifikovaný separátor podle Clevengera



Kvantitativní metoda zkoušení reziduí 2-fenylfenolu a 2-fenylfenolátu sodného v citrusových plodech

1. Účel a rozsah

Níže popsaná metoda umožňuje provést kvantitativní stanovení reziduí 2-fenylfenolu a 2-fenylfenolátu sodného v celých citrusových plodech. Metoda poskytuje v případě 2-fenylfenolu nebo 2-fenylfenolátu sodného při obsahu řádově 12 ppm výsledky se střední odchylkou mezi 10 a 20 % směrem dolů.

2. Podstata metody

Extrakt se po destilaci v kyselém prostředí a extrakci diisopentyletherem přečistí a po reakci s roztokem 4-amino-1-fenyl-2,3-dimethyl-2,5-dihydropyrazol-5-onu vznikne červené zabarvení, jehož intenzita se stanoví spektrofotometricky při 510 nm.

3. Reakční činidla

- 70% kyselina orthofosforečná,
- emulze silikonového odpěňovače,
- diisopentylether, p.a.,
- přečištěný cyklohexan; třikrát se protřepe se 4% roztokem hydroxidu sodného, třikrát se promyje destilovanou vodou,
- 4% roztok hydroxidu sodného,
- tlumivý roztok o pH 10,4: do 2 l odměrné baňky se odváží 6,64 g kyseliny borité, 8,00 g chloridu draselného a přidá se 93,1 ml 1M roztoku hydroxidu sodného, po zamíchání se baňka doplní destilovanou vodou po rysku,
- činidlo I: 1,0 g 4-amino-1-fenyl-2,3-dimethyl-2,5-dihydropyrazol-5-onu se rozpustí ve 100 ml destilované vody,
- činidlo II: 2,0 g hexakynoželezitanu draselného se rozpustí ve 100 ml destilované vody. Činidla I a II musí být přechovávána v lahvích z tmavého skla a jsou stálá pouze asi dva týdny,
- silikagel,
- standardní roztok: v 1 ml 0,1M hydroxidu sodného se rozpustí 10 mg čistého 2-fenylfenolu; doplní se do 100 ml 0,2M roztokem boritanu sodného (1 ml obsahuje 100 µg); standardní roztok se zředí tlumivým roztokem v poměru 1:10.

4. Přístroje a pomůcky

- mlýnek nebo drtič,
- mixér,
- destilační baňka na 1 litr s modifikovaným separátorem podle Clevengera a zpětný chladič,

- infračervená lampa,
- 200 ml dělicí nálevka,
- odměrné válce o objemu 25 a 100 ml,
- odměrné baňky o objemu 25 a 100 ml,
- pipety o objemu 1 až 10 ml,
- dělené pipety o objemu 0,5 ml,
- spektrofotometr s 5 cm kyvetami.

5. Metoda

Všechny plody ve vzorku pro zkoušku se nakrájejí na půlky. Z každého plodu se ponechá půlka pro kvalitativní zkoušku na rezidua difenylu, 2-fenylfenolu nebo 2-fenylfenolátu sodného. Zbylé půlky se shromáždí a rozemelou v mlýnku nebo se rozdrtí, aby vznikla homogenní směs. Z této směsi se odeberou alespoň dva dílčí vzorky po 250 g ke stanovení.

Každý dílčí vzorek se umístí do mixéru s 500 ml vody a míší se, dokud nevznikne velmi jemná homogenní směs, ve které již nelze rozeznat olejová oka. Podle předpokládaného obsahu 2-fenylfenolu se odebere 150 až 300 g-ový vzorek homogenátu a umístí se do 1 l destilační baňky a zředí se vodou na hmotnost 500 g. Po přidání 10 ml 70% kyseliny orthofosforečné, několika varných kamínků a 0,5 ml odpěňovací emulze se na baňku nasadí separátor a zpětný chladič. Do separátoru se odměří 10 ml diisopentyletheru a baňka se zvolna zahřívá infračervenou lampou tak, aby nedošlo k varu nebo pění obsahu. Po šestihodinové extrakci se obsah separátoru převede do 200 ml dělicí nálevky a separátor i chladič se vypláchnou 60 ml cyklohexanu a poté 60 ml vody. Oplach se přidá k obsahu dělicí nálevky. Směs se intenzivně protřepe a vodná fáze se po oddělení fází odstraní.

Extrakce 2-fenylfenolu se provede tak, že se organická fáze pětkrát, vždy po 3 min, intenzivně protřepe s 10 ml 4% roztoku hydroxidu sodného. Alkalické roztoky se spojí, neutralizují se na pH 9 - 10 kyselinou orthofosforečnou s použitím fenolftaleinového papírku a zředí na 100 ml destilovanou vodou. Lehce zakalený roztok lze vyčeřit přidáním špetky silikagelu. Roztok se poté protřepe a zfiltruje přes suchý, jemný filtr. Vzhledem k tomu, že zbarvení se vyvine s největší citlivostí a přesností při 10 - 70 µg 2-fenylfenolu, odebere se pipetou v závislosti na očekávaném množství 2-fenylfenolu alikvotní podíl 0,5 - 10 ml roztoku. Vzorek se umístí do 25 ml odměrné baňky; k obsahu se přidá 0,5 ml činidla I, 10 ml tlumivého roztoku a poté 0,5 ml činidla II. Směs se doplní tlumivým roztokem po rysku a intenzivně se protřepe. Po pěti minutách se změří absorbance červeného roztoku spektrofotometrem při 510 nm proti slepému pokusu, který neobsahuje extrakt. Intenzita zbarvení se nemění po dobu 30 min. Vyhodnocení se provede odečtem z kalibrační křivky sestavené za stejných podmínek s použitím standardního roztoku 2-fenylfenolu.

6. Poznámky

Doporučuje se, aby se každé spektrofotometrické stanovení provádělo dvakrát s různými objemy neutralizovaného alkalického extraktu.

Neošetřené citrusové plody dávají touto metodou pozitivní nález s hodnotou 0,5 ppm u pomerančů a 0,8 ppm u citrónů.

Modifikovaný separátor podle Clevengera je uveden v příloze č. 9.

Stanovení obsahu kyseliny erukové v olejích a tucích určených jako takových k lidské spotřebě a v tukové nebo olejové složce potravin, do kterých byly oleje nebo tuky přidány

I. Úvod

1. Příprava vzorku

1.1 Všeobecně

Hmotnost vzorku dodaného laboratoři ke zkoušce je za normálních podmínek 50 g, pokud není požadováno větší množství.

1.2. Příprava vzorku ke zkoušce v laboratoři

Vzorek musí být před zkouškou homogenizován.

1.3. Skladovací nádoby

Takto připravený vzorek se skladuje ve vzduchotěsné a vodotěsné nádobě.

2. Činidla

2.1. Voda

2.1.1. K rozpouštění, ředění a promývání se použije destilovaná nebo demineralizovaná voda ekvivalentní čistoty.

2.1.2. Jestliže není při zmínce o rozpouštění nebo ředění uvedeno žádné jiné činidlo, jde o rozpouštění nebo ředění vodou.

2.2. Chemikálie

Používají se pouze chemikálie analytické čistoty (p. a.), pokud není uvedeno jinak.

3. Přístroje a pomůcky

3.1. Seznam přístrojů

Tento seznam obsahuje pouze položky pro speciální účel a se specifikací.

3.2. Analytické váhy

Pojmem analytické váhy se rozumějí váhy s citlivostí 0,1 mg nebo větší.

4. Vyjádření výsledků

4.1. Výsledky

V protokolu o zkoušce se uvede střední hodnota nejméně ze dvou stanovení s uspokojivou opakovatelností.

4.2. Výpočet procentního obsahu

Pokud není stanoveno jinak, budou výsledky vyjádřeny v hmotnostních procentech z celkového obsahu mastných kyselin ve vzorku přijatém laboratoří.

4.3. Počet platných desetinných míst

Počet platných desetinných míst v takto vyjádřeném výsledku je určen přesností metody.

II. Stanovení kyseliny erukové

1. Předmět a rozsah použití

Touto metodou se stanoví obsah kyseliny erukové

- v olejích a tucích obsahujících kyselinu cetolejovou (*Z*- izomer kyseliny dokosenové, který se vyskytuje v rybích olejích) a
- v hydrogenovaných olejích a tucích obsahujících *E*- a *Z*- izomery kyseliny dokosenové.

2. Definice

Pojmem obsah kyseliny erukové se rozumí obsah kyseliny erukové stanovený popsanou metodou.

3. Princip metody

Methylestery jednotlivých mastných kyselin oleje nebo tuku se rozdělí tenkovrstvou argentační chromatografií při nízké teplotě a kvantitativně stanoví plynovou chromatografií s kapalnou stacionární fází.

4. Reakční činidla

4.1. Čerstvě destilovaný diethylether bez peroxidů

4.2. *n*-hexan

4.3. Silikagel G pro chromatografií na tenké vrstvě

4.4. Silikagel pro kolonovou chromatografií

4.5. Roztok dusičnanu stříbrného o koncentraci 200 g/l. Ve vodě se rozpustí 24 g dusičnanu stříbrného a doplní se vodou na 120 ml.

4.6. Roztok methylesteru kyseliny erukové 5 mg/ml. V několika ml *n*-hexanu se rozpustí 50 mg methylesteru kyseliny erukové a doplní se *n*-hexanem do 10 ml.

4.7. Methylester kyseliny tetrakosanové jako vnitřní standardní roztok 0,25 mg/ml.

V několika ml *n*-hexanu se rozpustí 25 mg methylesteru kyseliny tetrakosanové (jako v bodě 4.6.) a doplní se *n*-hexanem do 100 ml.

4.8. Vyvíjecí rozpouštědlo: toluen: *n*-hexan v poměru 90:10 (objemově).

4.9. Roztok 2,7-dichlorfluoresceinu o koncentraci 0,5 g/l. Za současného zahřívání a míchání se rozpustí 50 mg 2,7-dichlorfluoresceinu ve 100 ml 50% vodného roztoku methanolu.

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Zařízení pro chromatografií na tenké vrstvě a dále zejména:

5.1.1. Mrazicí jednotka schopná udržet vyvíjecí komoru a její obsah při teplotě od -20 °C do -25 °C.

5.1.2. Skleněné desky 200×200 mm.

5.1.3. UV lampa

5.1.4. Skleněné kolony o délce asi 200 mm o vnitřním průměru asi 10 mm s filtrem ze skelné vaty nebo s fritou, případně malé nálevky s fritou.

5.1.5. Aplikátor pro nanášení roztoků do úzkého pásku nebo proužku na chromatografické (TLC) desky.

5.2. Plynový chromatograf s kapalnou stacionární fází s elektronickým integrátorem, jak je popsáno v oddílu III přílohy VI k nařízení Komise Evropského hospodářského společenství č. 72/77.

6. Postup

6.1. Příprava methylesterů mastných kyselin

Z přibližně 400 mg olejové nebo tukové složky zkoušeného vzorku se připraví roztok obsahující asi 20 až 50 mg/ml methylesterů mastných kyselin v *n*-hexanu metodou popsanou v oddílu II odst. 3 přílohy VI k nařízení Komise Evropského hospodářského společenství č. 72/77.

6.2 Chromatografie na tenké vrstvě

6.2.1. Příprava desek

Do 500 ml baňky s kulatým dnem se vsype 60 g silikagelu (4.3.), přidá se 120 ml roztoku dusičnanu stříbrného (4.5.) a třepe se 1 min do vytvoření zcela homogenní suspenze. Tato suspenze se poté nanese obvyklým způsobem na desky. Tloušťka vrstvy musí být přibližně 0,5 mm. Toto množství suspenze je dostatečné pro přípravu pěti desek o rozměrech 200×200 mm.

Desky se nechají částečně vyschnout na vzduchu (nejlépe v temnu po dobu asi 30 min). Desky se úplně vysuší a aktivují v sušárně po dobu 2,5 h při teplotě 100 °C. Po aktivaci se desky co nejdříve použijí nebo se přechovávají v temnu a před použitím se znovu aktivují. Dostačující je aktivace při 110 °C po dobu 1 h, pokud ovšem přitom deska neztmavne. Před použitím se v nanesené vrstvě sorbentu vyryjí rýhy 10 mm od postranních okrajů a od horního okraje každé desky, aby se v průběhu vyvíjení snížily okrajové efekty.

6.2.2. Nanášení methylesterů

Aplikátorem (5.1.5.) se nanese do úzkého, asi 50 mm dlouhého proužku, nejméně 40 mm od okraje desky a 10 mm od spodního okraje desky 50 µl roztoku methylesterů (6.1.) připravených ze vzorku. Podobným způsobem se nanese 100 µl směsného roztoku obsahujícího stejné objemy připraveného roztoku methylesterů (6.1.) a roztoku methylesteru kyseliny erukové (4.6.). Vzhledem ke křehkosti nanesené vrstvy sorbentu se postupuje při nanášení roztoků zvláště opatrně. Na desku lze případně nanést také 50 µl roztoku methylesteru kyseliny erukové (4.6.), který po vyvíjení pomůže při identifikaci proužku methylesteru kyseliny erukové. Po nanesení methylesterů se spodní okraj desky postaví do diethyletheru na dobu, než ether dostoupí asi 5 mm nad zónu nanesených vzorků. Tak se methylestery koncentrují v úzkém proužku.

6.2.3. Vyvíjení desek

Do vyvíjecí komory se nalije vyvíjecí rozpouštědlo do výšky asi 5 mm (4.8.) a komora uzavřená víčkem se uloží do mrazicí jednotky (5.1.1.) udržované při teplotě -25° C nebo co nejbližší této teploty. V některých případech může být vhodné vyvíjecí komoru obložit. Po dvou hodinách se deska opatrně umístí do komory a rozpouštědlo se nechá stoupat asi do jedné poloviny až dvou třetin výšky desky. Deska se vyjme a rozpouštědlo se z ní jemně odpaří v proudu dusíku. Deska se znovu vloží do komory a rozpouštědlo se ponechá stoupat až k vrchnímu okraji desky. Deska se vyjme a jako v předchozím případě se vysuší v proudu dusíku a poté se opatrně postříká roztokem 2,7-dichlorfluoresceinu (4.9.).

Deska se prohlédne pod ultrafialovým světlem a pruh obsahující methylester kyseliny erukové ve vzorku se určí zvýrazněným pruhem vzorku, ke kterému byl přidán methylester kyseliny erukové.

6.2.4. Rozdělení methylesterů

Proužek methylesteru kyseliny erukové pocházející ze vzorku se seškrábne do 50 ml kádinky tak, aby nedošlo ke ztrátám. Obdobně se do jiné 50 ml kádinky přenese silikagel umístěný nad a pod proužkem methylesteru kyseliny erukové. Tento pruh obsahuje všechny ostatní frakce methylesterů mastných kyselin. Do každé kádinky se přidá 1,0 ml standardního roztoku methylesteru kyseliny tetrakosanové (4.7.) a 10 ml diethyletheru (4.1.). Obsah kádinek se promíchá a přenese se na separační kolony či nálevky (5.1.4.), z nichž každá obsahuje asi 1 g silikagelu (4.4.). Methylestery se extrahují třemi nebo čtyřmi 10 ml dávkami diethyletheru a eluáty se zachycují do malých baněk. Každý filtrát se odpaří na malý objem v proudu dusíku a methylestery se přelijí do

malých zkumavek s kónickým dnem. Zbytek rozpouštědla se odpaří v proudu dusíku tak, aby se methylestery zkoncentrovaly na dně zkumavek. Methylestery se rozpustí v 25 - 50 μl *n*-hexanu (4.2.).

6.3. Plynová chromatografie s kapalnou stacionární fází

6.3.1. Provede se postup popsany v oddílu III přílohy VI k nařízení Komise Evropského hospodářského společenství č. 72/77 a zkouší se 1 - 2 μl roztoků methylesterů získaných z frakce obsahující methylester kyseliny erukové a z frakcí obsahujících zbytek methylesterů mastných kyselin.

6.3.2. Elektronickým integrátorem se stanoví následující plochy píků:

- z chromatogramu frakce obsahující methylester kyseliny erukové plochy píků methylesteru kyseliny erukové (E), vnitřního standardu (L_1), celkových methylesterů s výjimkou vnitřního standardu (EF),
- z chromatogramu frakcí obsahujících zbytek methylesterů mastných kyselin plochy píků celkových methylesterů mimo vnitřního standardu (RF) a vnitřního standardu (L_2).

7. Vyjádření výsledků

7.1. Metoda výpočtu a vzorec

7.1.1. Obsah kyseliny erukové ve vzorku vyjádřený jako procentní podíl methylesteru kyseliny erukové z celkových methylesterů mastných kyselin připravených ze vzorku je dán vzorcem:

$$\frac{E}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times 100$$

kde

E, EF, RF, L_1 a L_2 jsou plochy píků podle 6.3.2., v případě nutnosti korigované kalibračními faktory.

Obsah methylesteru kyseliny erukové daný výše uvedeným vzorcem odpovídá obsahu kyseliny erukové vyjádřenému v procentech z celkového množství mastných kyselin ve vzorku.

7.1.2. Jestliže jsou plochy píků vyjádřeny v procentech, pak lze hodnoty EF a RF vypočítat následovně:

$$EF = 100 - L_1$$

$$RF = 100 - L_2$$

- 7.1.3. Metoda výpočtu podle odstavce 7.1.1. předpokládá, že množství kyseliny tetrakosanové ve vzorku je zanedbatelné. Jestliže se ukáže, že ve vzorku je významné množství této kyseliny, hodnota pro kyselinu tetrakosanovou (L_2) získaná z chromatogramu frakcí obsahujících zbylé methylestery mastných kyselin musí být snížena takto:

$$L_2 - T_2$$

kde

$$T_2 = \frac{T_0 P_2}{P_0}$$

kde

T_2 je plocha píku methylesteru kyseliny tetrakosanové pocházející ze vzorku, tvořící část plochy píku vnitřního standardu v chromatogramu zbývajících frakcí methylesterů mastných kyselin,

P_2 je plocha píku methylesteru kyseliny palmitové z chromatogramu zbylé frakce,

T_0 je plocha píku methylesteru kyseliny tetrakosanové z chromatogramu methylesterů celkových mastných kyselin stanovených metodou zkoušení podle článku 2 Směrnice Komise 80/891/EHS,

P_0 je plocha píku methylesteru kyseliny palmitové z chromatogramu methylesterů celkových mastných kyselin stanovených metodou zkoušení podle článku 2 směrnice Komise č. 80/891/EHS.

7.1.4. Odvození vzorce

Podíl mastných kyselin ve frakci obsahující methylester kyseliny erukové vyjádřený v procentech z celkového obsahu mastných kyselin ve vzorku je dán vzorcem:

$$\frac{\frac{EF}{L_1}}{\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2}} \times 100 \quad \text{nebo} \quad \frac{EF}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times 100$$

Podíl kyseliny erukové ve frakci obsahující methylester kyseliny erukové je dán vztahem:

$$\frac{E}{EF}$$

Odtud obsah kyseliny erukové ve vzorku vyjádřený v procentech z celkového obsahu mastných kyselin je dán vztahem:

$$\frac{\frac{EF}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times \frac{E}{EF}}{\frac{EF}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times \frac{E}{EF}} \times 100 \quad \text{nebo} \quad \frac{E}{L_1 \left(\frac{EF}{L_1} + \frac{RF}{L_2} \right)} \times 100$$

7.1.5. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky získanými ze dvou stanovení provedených současně nebo rychle po sobě ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 10 % výsledné hodnoty nebo 0,5 g na 100 g vzorku. Rozhodující je vyšší hodnota.

Metody zkoušení k ověření složení některých cukrů určených k lidské spotřebě

1. Příprava vzorků ke zkoušce

Vzorek doručený do laboratoře se důkladně promíchá.

Pro zkoušku se ze vzorku oddělí množství nejméně 200 g a okamžitě přenese do čisté, suché, vodotěsné nádoby opatřené vzduchotěsným uzávěrem.

2. Reakční činidla, přístroje a pomůcky

Při popisu přístrojů a pomůcek jsou uváděny odkazy pouze pro speciální zařízení a přístrojů, nebo přístroje, které musí odpovídat zvláštním požadavkům.

Pokud je zmiňována voda, rozumí se destilovaná voda nebo demineralizovaná voda se srovnatelnou čistotou.

Veškerá činidla musí být analytické čistoty, pokud není stanoveno jinak.

Pokud je odkazováno na roztok činidla bez dalšího upřesnění, jde o vodný roztok.

3. Vyjádření výsledků

V protokolu o zkoušce se uvede výsledek získaný jako průměrná hodnota ze dvou stanovení s uspokojivou opakovatelností.

Pokud není uvedeno jinak, jsou výsledky vyjádřeny v procentech hmotnostních původního laboratorního vzorku tak, jak byl do laboratoře doručen.

Počet platných číslic v takto vyjádřeném výsledku je určen přesností metody.

Metoda stanovení ztráty hmotnosti sušením pro některé cukry určené k lidské spotřebě

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení ztráty hmotnosti sušením

- v cukru polobílém,
- v cukru nebo v cukru bílém,
- v cukru extra bílém.

2. Definice

Ztrátou hmotnosti sušením se rozumí hodnota ztráty hmotnosti sušením stanovená popsanou metodou.

3. Podstata metody

Ztráta hmotnosti sušením se stanoví sušením při teplotě $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

4. Přístroje a pomůcky

- 4.1. Analytické váhy vážící s přesností 0,1 mg.
- 4.2. Sušárna s vhodnou ventilací, řízená termostatem, umožňující udržovat teplotu $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$.
- 4.3. Kovová váženka s plochým dnem, odolná vůči působení vzorku a testovacím podmínkám, s průměrem nejméně 100 mm a s hloubkou nejméně 30 mm.
- 4.4. Exsikátor s čerstvě aktivovaným silikagelem nebo s rovnocenným sušidlem s indikátorem obsahu vlhkosti.

5. Postup

Poznámka:

Operace popsané v bodě 5.1 až 5.7 musí být provedeny okamžitě po otevření nádoby se vzorkem.

- 5.1. Miska (4.3.) se vysuší do konstantní hmotnosti v sušárně (4.2.) při teplotě $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Miska se nechá v exsikátoru (4.4.) vychladnout nejméně po dobu 30 až 35 min a poté se zváží s přesností na 0,1 mg.

Do misky se naváže přibližně 20 až 30 g vzorku s přesností na 0,1 mg.

Miska se vloží do sušárny (4.2.) o teplotě $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$, kde se ponechá 3 h.

Miska se nechá vychladnout v exsikátoru (4.4.) a zváží se s přesností na 0,1 mg.

Miska se znovu vloží na 30 minut do sušárny o teplotě $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Nechá se vychladnout v exsikátoru (4.4.) a zváží se s přesností na 0,1 mg. Pokud je rozdíl mezi dvěma váženými větší než 1 mg, postup se opakuje. Zvýší-li se hmotnost, použije se k výpočtu nejnížší zaznamenaná hodnota.

Celkový čas sušení nesmí být delší než čtyři hodiny.

6. Vyjádření výsledků

6.1. Vzorec a postup výpočtu

Ztráta hmotnosti sušením v hmotnostních procentech vzorku je dána vzorcem:

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

kde:

m_0 je počáteční hmotnost zkušební vzorku (g),

m_1 je hmotnost zkušební vzorku po vysušení (g).

6.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou z téhož vzorku týměž pracovníkem za totožných podmínek nesmí být větší než 0,02 g na 100 g vzorku.

Metoda stanovení sušiny pro některé cukry určené k lidské spotřebě

I. Metoda sušení ve vakuové sušárně

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení obsahu sušiny

- ve škrobovém sirupu,
- v sušeném škrobovém sirupu,
- v monohydrátu glukosy,
- v glukose bezvodé.

2. Definice

Obsahem sušiny se rozumí obsah sušiny stanovený popsanou metodou.

3. Podstata metody

Sušina se stanoví při teplotě $(70 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ve vakuové sušárně při tlaku nejvýše 3,3 kPa (34 mbar). Zkušební vzorky škrobového sirupu nebo sušeného škrobového sirupu se před sušením upraví smícháním s vodou a s křemelinou.

4. Reakční činidla

- 4.1. Křemelina: přečistí se v Büchnerově nálevce opakovaným promýváním zředěnou kyselinou chlorovodíkovou (1 ml koncentrované kyseliny o hustotě 1,19 g/ml na litr vody při $20 ^\circ\text{C}$), dokud filtrát nevykazuje zřetelně kyselou reakci. Křemelina na filtru se pak promývá vodou tak dlouho, dokud hodnota pH filtrátu nevystoupí nad 4; pak se křemelina vysuší v sušárně při $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$ a uloží se do vzduchotěsné nádoby.

5. Přístroje a pomůcky

- 5.1. Vakuová sušárna, utěsněná, řízená termostatem, vybavená teploměrem a vakuovým manometrem. Musí být konstruována tak, aby byl zajištěn rychlý přestup tepla do váženek uložených na policích.
- 5.2. Aparaturu k vysoušení vzduchu tvoří skleněná kolona naplněná čerstvě aktivovaným silikagelem nebo rovnocenným vysoušedlem, s indikátorem obsahu vlhkosti. Tato kolona obsahující koncentrovanou kyselinu sírovou je sériově propojena s pračkou plynů připojenou na vstup vzduchu do sušárny.
- 5.3. Vývěva umožňující udržovat v sušárně tlak 3,3 kPa (34 mbar) nebo nižší.
- 5.4. Kovová váženka s plochým dnem odolná vůči působení vzorků a podmínkám zkoušky s průměrem nejméně 100 mm a s hloubkou nejméně 300 mm.
- 5.5. Skleněná tyčinka o takové délce, aby nemohla zcela zapadnout do váženky.
- 5.6. Exsikátor s čerstvě aktivovaným silikagelem nebo s rovnocenným vysoušedlem s indikátorem obsahu vlhkosti.

5.7. Analytické váhy vážící s přesností na 0,1 mg.

6. Postup

6.1. Do váženky (5.4.) se skleněnou tyčinkou (5.5.) se převede přibližně 30 g křemeliny (4.1.), vše vloží se do sušárny (5.1.) s teplotou $(70 \pm 1) ^\circ\text{C}$ a tlak se sníží nejméně na 3,3 kPa (34 mbar).

Suší se po dobu nejméně 5 h, přičemž se přes aparaturu pro vysoušení vzduchu do sušárny zavádí pomalý proud vzduchu. Občas se zkontroluje tlak a podle potřeby se upraví.

6.2. Atmosférický tlak v sušárně se opět dosáhne opatrným zvýšením přívodu suchého vzduchu. Miska i se skleněnou tyčinkou se okamžitě přemístí do exsikátoru (5.6.), kde se nechá vychladnout, a pak se zváží.

6.3. Do kádinky o obsahu 100 ml se s přesností na 1 mg naváží přibližně 10 g zkoušeného vzorku.

6.4. Zkušební vzorek se zředí 10 ml teplé vody a roztok se pomocí skleněné tyčinky (5.5.) kvantitativně převede do váženky.

6.5. Miska se zkušebním vzorkem a skleněnou tyčinkou se vloží do sušárny a tlak se sníží nejméně na 3,3 kPa (34 mbar). Suší se při $(70 \pm 1) ^\circ\text{C}$, přičemž se sušárnou nechá procházet pomalý proud suchého vzduchu.

Sušení se provádí po dobu 20 hodin; k největšímu úbytku vlhkosti má dojít ke konci prvního dne. Je nezbytné udržovat vývěvu v chodu při nastaveném tlaku a nechat pomalu proudit do sušárny suchý vzduch tak, aby se během noci tlak udržoval přibližně na hodnotě 3,3 kPa (34 mbar) nebo nižší.

6.6. Atmosférického tlaku v sušárně se opět dosáhne opatrným zvýšením přívodu suchého vzduchu. Váženka i s obsahem se okamžitě přemístí do exsikátoru, kde se nechá vychladnout, a poté se zváží s přesností na 1 mg.

6.7. Operace (6.5.) se opakuje po další 4 hodiny. V sušárně se obnoví atmosférický tlak a miska se ihned vloží do exsikátoru. Nechá se vychladnout a vážením se zjistí, zda již bylo dosaženo konstantní hmotnosti. Za konstantní hmotnost se považuje takový výsledek, kdy rozdíl mezi dvěma váženími téže misky není větší než 2 mg. V opačném případě se opakuje operace 6.7.

6.8. Pro stanovení sušiny ve vzorcích bezvodé glukosy nebo v monohydrátu glukosy není použití křemeliny a vody zapotřebí.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a postup výpočtu

Obsah sušiny vyjádřený v procentech hmotnosti vzorku se vypočítá podle tohoto vzorce:

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

kde:

m_0 je počáteční hmotnost zkušební vzorku (g),

m_1 je hmotnost váženky s křemelinou, skleněnou tyčinkou a zbytkem zkušební vzorku po sušení (g),

m_2 je hmotnost váženky s křemelinou a skleněnou tyčinkou (g).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 0,12 g na 100 g vzorku.

Metoda stanovení celkové sušiny pro některé cukry určené k lidské spotřebě (Refraktometrická metoda)

1. Předmět a oblast použití

Metoda stanoví obsah sušiny

- v tekutém cukru,
- v tekutém bílém cukru,
- v tekutém invertním cukru,
- v tekutém bílém invertním cukru,
- v sirupu z invertního cukru,
- v sirupu z bílého invertního cukru.

2. Definice

Obsahem sušiny se rozumí obsah sušiny stanovený popsanou metodou.

3. Podstata metody

Stanoví se index lomu zkušební vzorku při 20 °C a podle tabulek v uvedených v příloze č. 39 se převede na obsah sušiny.

4. Přístroje a pomůcky

4.1 Refraktometr s přesností odečtu na čtyři desetinná místa, vybavený teploměrem a oběhovým vodním čerpadlem spojeným s vodní lázní, která je udržována termostatem na teplotě $(20 \pm 0,5)$ °C.

4.2 Světelný zdroj sestávající ze sodíkové výbojky.

5. Postup

5.1 Pokud jsou ve vzorku přítomny krystaly, rozpustí se zředěním vzorku v hmotnostním poměru 1:1.

5.2 Refraktometrem (4.1.) se změří index lomu vzorku při 20 °C.

6. Vyjádření výsledků a jejich výpočet

Obsah sušiny se vypočte z indexů lomu pro roztoky sacharózy při 20° C podle uvedené tabulky a jako korekce na přítomnost invertního cukru v zkoušeném vzorku se k výsledku z tabulek přičte na každé 1 % invertního cukru hodnota 0,022.

Pokud byl vzorek zředěn vodou v hmotnostním poměru 1:1, musí se obsah vypočtené sušiny vynásobit dvěma.

7. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 0,2 g sušiny na 100 g vzorku.

Metoda stanovení redukujících cukrů vyjádřených jako invertní cukry (Metoda podle výzkumného ústavu Berlin Institut)

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení redukujících cukrů vyjádřených jako invertní cukr v cukru polobílém.

2. Definice

Redukujícími cukry vyjádřenými jako invertní cukr se rozumí obsah redukujících cukrů stanovený popsanou metodou.

3. Podstata metody

Roztok vzorku s obsahem redukujících cukrů se použije pro redukcí roztoku měďnatého komplexu. Vzniklý oxid měďný se pak oxiduje roztokem jódu o známé koncentraci, jehož přebytek se stanoví zpětnou titrací odměrným roztokem thiosíranu sodného o známé koncentraci.

4. Reakční činidla

4.1. Měďnatý roztok (Müllerův roztok)

4.1.1. Ve 400 ml vroucí vody se rozpustí 35 g síranu měďnatého pentahydrátu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) a nechá se vychladnout.

4.1.2. V 500 ml vroucí vody se rozpustí 173 g vinanu sodnodraselného tetrahydrátu (Rochellova nebo Seignettova sůl, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) a 68 g bezvodého uhličitanu sodného a nechá se vychladnout.

4.1.3. Oba roztoky (4.1.1. a 4.1.2.) se převedou do litrové odměrné baňky a doplní se vodou do 1 litru. Po přidání 2 g aktivního uhlí se obsah protřepe, nechá se několik hodin stát a poté se přefiltruje přes hustý papírový nebo membránový filtr.

Pokud se v průběhu skladování roztoku objeví malá množství oxidu měďného, je třeba roztok znovu přefiltrovat.

4.2. Kyselina octová, roztok 5 mol/l.

4.3. Roztok jódu o koncentraci 0,01665 mol/l (4,2258 g/l).

4.4. Roztok thiosíranu sodného o koncentraci 0,0333 mol/l.

4.5. Roztok škrobu: do litru vroucí vody se přilije směs 5 g rozpustného škrobu rozmíchaného ve 30 ml vody, povaří se 3 min a nechá vychladnout. V případě potřeby se přidá 10 mg jodidu rtuťnatého jako konzervačního činidla.

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Erlenmeyerova baňka, 300 ml; přesné byrety a pipety.

5.2. Vodní lázeň, vroucí.

6. Postup

- 6.1. Do 300 ml Erlenmeyerovy baňky se naváží část vzorku (10 g nebo méně), který neobsahuje více než 30 mg invertního cukru, a rozpustí se v cca 100 ml vody.

Do baňky s roztokem vzorku se odpipetuje 10 ml měďnatého roztoku (4.1.), obsah se krouživým pohybem zamíchá a baňka se vloží do vroucí vodní lázně (5.2.) na dobu přesně 10 min.

Hladina roztoku v Erlenmeyerově baňce musí být nejméně 20 mm pod úrovní hladiny ve vodní lázni. Baňka se rychle ochladí proudem studené vody, přičemž se roztok nesmí promíchávat, aby nedošlo k opětovné oxidaci vysráženého oxidu měďného vzdušným kyslíkem.

Bez protřepávání obsahu se pipetou přidá 5 ml roztoku kyseliny octové (4.2.) o koncentraci 5 mol/l a ihned poté se byretou přidá přebytek (20 až 40 ml) roztoku jódu (4.3.) o koncentraci 0,01665 mol/l.

Sraženina mědi se mícháním rozpustí a přebytek jódu se titruje roztokem thiosíranu sodného (4.4.) o koncentraci 0,0333 mol/l při použití roztoku škrobu (4.5.) jako indikátoru. Indikátor se přidává ke konci titrace.

- 6.2. S vodou se provede slepý pokus, která se opakuje vždy při použití nového měďnatého roztoku (4.4.). Titrační spotřeba nepřekročí 0,1 ml.
- 6.3. S cukerným roztokem se za chladu provede kontrolní zkouška. Roztok se nechá stát při laboratorní teplotě po dobu 10 min, aby mohlo dojít k reakci jiných, eventuálně přítomných redukcujících látek, jako je například oxid siřičitý.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a postup výpočtu

Objem spotřebovaného roztoku jódu se rovná objemu (ml) přebytku přidaného roztoku jódu (0,01665 mol/l) minus objem (ml) roztoku thiosíranu sodného (0,0333 mol/l) spotřebovaného při titraci.

Objem (ml) spotřebovaného roztoku jódu (0,01665 mol/l) se upraví odečtením:

- 7.1.1. počtu ml spotřebovaných při slepém pokusu s vodou (6.2.),
- 7.1.2. počtu ml spotřebovaných při kontrolní zkoušce s cukerným roztokem za chladu (6.3.),
- 7.1.3. objemu 2,0 ml na každých 10 g sacharosy přítomné v použitém alikvotním podílu nebo úměrného množství, obsahuje-li vzorek méně než 10 g sacharosy (korekce na sacharosu).

Po provedení těchto korekcí odpovídá spotřeba 1 ml jodového roztoku (4.3.) 1 mg invertního cukru.

Obsah invertního cukru v procentech vzorku se vypočítá podle vzorce:

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

kde:

V_1 - počet ml jodového roztoku (4.3.) po korekci,

m_0 . hmotnost použitého vzorku (g).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 0,02 g na 100 g vzorku.

Metoda stanovení redukcujících cukrů vyjádřených jako invertní cukr

(Metoda podle Knighta a Allena)

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení redukcujících cukrů vyjádřených jako invertní cukr

- v cukru nebo v cukru bílém,
- v cukru extra bílém.

2. Definice

Redukujícími cukry vyjádřenými jako invertní cukr se rozumí obsah redukcujících cukrů stanovený popsanou metodou.

3. Podstata metody

K roztoku vzorku se přidá v přebytku činidlo a jeho zredukovaný a nezredukovaný podíl se pak stanoví zpětnou titrací roztokem měďnaté disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctvé.

4. Reakční činidla

- 4.1. Disodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctvé, roztok 0,0025 mol/l: rozpustí se 0,930 g disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctvé ve vodě a doplní se vodou do jednoho litru.
- 4.2. Roztok indikátoru murexidu: 0,25 g murexidu se přidá do 50 ml vody a smíchá se s 20 ml vodného roztoku methylenové modři o koncentraci 0,2 g/100 ml.
- 4.3. Měďnaté činidlo: v 600 ml vody obsahující 40 ml hydroxidu sodného o koncentraci 1,0 mol/l se rozpustí 25 g bezvodého uhličitanu sodného a 25 g tetrahydrátu vinanu sodnodraselného. V cca 100 ml vody se rozpustí 6,0 g pentahydrátu síranu měďnatého, vzniklý roztok se přidá k roztoku vinanu a doplní vodou do jednoho litru.
Poznámka: Roztok má omezenou trvanlivost (jeden týden).
- 4.4. Standardní roztok invertního cukru: v odměrné baňce o objemu 250 ml se rozpustí 23,750 g čisté sacharosy (4.5.) v cca 120 ml vody. Přidá se 9 ml kyseliny chlorovodíkové ($\rho_{20} = 1,16$) a nechá se stát při laboratorní teplotě po dobu 8 dní. Roztok se doplní do 250 ml a ukončení hydrolýzy se zkontroluje odečtem na polarimetru nebo sacharometru při použití trubice o délce 200 mm. Zjištěná hodnota se má rovnat $(11,80 \pm 0,05) ^\circ\text{S}$ (viz poznámka). 200 ml tohoto roztoku se odpipetuje do odměrné baňky o objemu 2000 ml, zředí se vodou a za stálého protřepávání (aby nedošlo k nadměrnému místnímu zalkalizování roztoku) se přidá 71,4 ml roztoku hydroxidu sodného (1 mol/l), ve kterém jsou rozpuštěny 4 g kyseliny benzoové. Roztok se doplní na 2000 ml, tj. aby obsahoval 1 g invertního cukru ve 100 ml; hodnota pH roztoku se má pohybovat kolem 3.

Tento stálý zásobní roztok se ředí pouze bezprostředně před použitím.

- 4.5. Čistá sacharosa: vzorek čisté sacharosy s obsahem invertního cukru nejvýše 0,001 g/100 g.

5. Přístroje a pomůcky

- 5.1 Zkumavky 150 x 20 mm.
- 5.2 Bílá porcelánová miska.
- 5.3 Analytické váhy vážící s přesností na 0,1 mg.

6. Postup

- 6.1 Ve zkumavce (5.1.) se rozpustí 5 g vzorku cukru v 5 ml studené vody, přidají se 2,0 ml měďnatého činidla (4.3.) a obsah se promíchá. Zkumavka se ponoří do lázně s vroucí vodou na dobu 5 min a poté se ve studené vodě ochladí.
- 6.2. Roztok se ze zkumavky kvantitativně, s použitím co nejmenšího množství vody, převede do bílé porcelánové misky (5.2.), přidají se tři kapky indikátoru (4.2.) a titruje se roztokem disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové (4.1.). Titrační spotřeba v ml se označí jako V_0 .

Těsně před ukončením titrace se barva roztoku změní ze zelené přes šedou na purpurovou v bodě ekvivalence. Purpurová barva pomalu mizí v důsledku oxidace oxidu měďného na oxid měďnatý; rychlost oxidace závisí na koncentraci přítomné zredukované mědi. Proto je při titraci nutné dosáhnout bodu ekvivalence co možná nejrychleji.

- 6.3. Sestrojí se kalibrační křivka na základě přidavku známého množství invertního cukru (příslušně zředěný roztok 4.4.) k 5 g čisté sacharosy (4.5.) a odpovídajícího množství studené vody tak, aby celkový objem přidaného roztoku činil 5 ml. Titrační spotřeba (ml) se vynese do grafu proti procentnímu obsahu invertního cukru přidaného k 5 g sacharosy; výslednou křivkou je přímka v rozmezí 0,001 až 0,019 g na 100 g invertního cukru, resp. 100 g vzorku.

7. Vyjádření výsledků

7.1 Postup výpočtu

Z kalibrační křivky se odečte obsah invertního cukru (v procentech) odpovídající spotřebě V_0 v ml disodné soli kyseliny ethylendiamintetraoctové při zkoušení vzorku.

- 7.2. Pokud se předpokládá vyšší koncentrace než 0,017 g invertního cukru ve 100 g zkoušeného vzorku, musí se příslušně snížit množství vzorku v bodě 6.1., zkoušený vzorek se však musí doplnit do 5 g čistou sacharosou (4.5.).

7.3. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 0,005 g na 100 g vzorku.

8. Poznámka

Při převodu hodnoty ve °S na polarimetrické úhlové stupně se hodnota uvedená v °S dělí 2,889 (polarimetrická trubice o délce 200 mm; sodíková výbojka jako světelný zdroj; přístroj umístěný v místnosti, ve které je možné udržovat teplotu kolem 20 °C).

Metoda stanovení redukcujících cukrů vyjádřených jako invertní cukr nebo glukosový ekvivalent

(Metoda podle Luffa a Schoorla)

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení

- 1.1. obsahu redukcujících cukrů vyjádřený jako invertní cukr
 - v tekutém cukru,
 - v tekutém bílém cukru,
 - v tekutém invertním cukru,
 - v tekutém bílém invertním cukru,
 - v sirupu z invertního cukru,
 - v sirupu z invertního cukru bílého.
- 1.2. obsahu redukcujících cukrů vyjádřeného a vypočteného (vztaženo na sušinu) jako glukosový ekvivalent
 - ve škrobovém sirupu,
 - v sušeném škrobovém sirupu.
- 1.3. obsahu redukcujících cukrů vyjádřeného jako D-glukosa
 - v glukosy monohydrátu,
 - v bezvodé glukose.

2. Definice

Redukujícími cukry vyjádřenými jako invertní cukry, D-glukosa nebo jako glukosový ekvivalent se rozumí obsah redukcujících cukrů vyjádřený nebo vypočtený jako invertní cukr, D-glukosa nebo glukosový ekvivalent stanovený popsanou metodou.

3. Podstata metody

Vzorek s redukcujícími cukry se zahřeje (a v případě potřeby vyčeří) za standardních podmínek k bodu varu s měďnatým roztokem, která se částečně redukuje na Cu (I). Přebytek Cu (II) se poté stanoví jodometricky.

4. Reakční činidla

- 4.1. Carrezův roztok I: 21,95 g dihydrátu octanu zinečnatého, nebo 24 g trihydrátu octanu zinečnatého, se spolu s přidávanými 3 ml ledové kyseliny octové rozpustí ve vodě a doplní vodou do 100 ml.
- 4.2. Carrezův roztok II: 10,6 g trihydrátu hexakynoželeznanu draselného se rozpustí ve vodě a doplní vodou do 100 ml.
- 4.3. Luff-Schoorlovo činidlo: připraví se tyto roztoky:
 - 4.3.1. Roztok síranu měďnatého: 25 g pentahydrátu síranu měďnatého neobsahujícího železo se rozpustí ve 100 ml vody.

- 4.3.2. Roztok kyseliny citronové: 50 g monohydrátu kyseliny citronové se rozpustí v 50 ml vody.
- 4.3.3. Roztok uhličitanu sodného: 143,8 g bezvodého uhličitanu sodného se rozpustí v cca 300 ml horké vody a nechá se vychladnout.
- 4.3.4. K roztoku uhličitanu sodného (4.3.3.) v litrové odměrné baňce se za mírného promíchávání krouživým pohybem přidává roztok kyseliny citronové (4.3.2.). Obsah se míchá, dokud se nepřestane vyvíjet plyn, pak se přidá roztok síranu měďnatého (4.3.1.) a vodou se doplní do 1000 ml. Roztok se nechá stát přes noc, v případě potřeby se potom přefiltruje. Provede se kontrola koncentrace roztoku činidla podle metody popsané v bodě 6.1. (Cu 0,1 mol/l; uhličitan sodný 1 mol/l).
- 4.4. Roztok thiosíranu sodného, 0,1 mol/l.
- 4.5. Roztok škrobu: do jednoho litru vroucí vody se přilije 5 g rozpustného škrobu rozmíchaného ve 30 ml vody. Povaří se 3 minuty a nechá se vychladnout; je-li třeba, přidá se 10 mg jodidu rtuťnatého jako konzervační činidlo.
- 4.6. Kyselina sírová, 3 mol/l.
- 4.7. Roztok jodidu draselného, 30 % hmot.
- 4.8. Úlomky pemzy, vyvařené v kyselině chlorovodíkové, promyté vodou do vymizení kyselé reakce a vysušené.
- 4.9. Isopentylalkohol.
- 4.10. Hydroxid sodný, 0,1 mol/l.
- 4.11. Kyselina chlorovodíková, 0,1 mol/l.
- 4.12. Fenolftalein, 1%ní roztok v ethanolu.
5. Přístroje a pomůcky
- 5.1. Erlenmeyerova baňka o objemu 300 ml se zpětným chladičem.
- 5.2. Stopky.
6. Postup
- 6.1. Stanovení titru Luff-Schoorlova činidla (4.3.):
- 6.1.1. Ke 25 ml Luff-Schoorlova činidla (4.3.) se přidají 3 g jodidu draselného a 25 ml kyseliny sírové o koncentraci 3 mol/l (4.6.).
- Titruje se roztokem thiosíranu sodného o koncentraci 0,1 mol/l (4.4.) za použití škrobového roztoku (4.5.) jako indikátoru, který se přidá až ke konci titrace. Pokud není spotřeba roztoku thiosíranu o koncentraci 0,1 mol/l rovna 25 ml, musí být činidlo připraveno znovu.
- 6.1.2. Odpijetuje se 10 ml činidla do 100 ml odměrné baňky a doplní se vodou po rysku.
- 10 ml takto zředěného činidla se odpijetuje do Erlenmeyerovy baňky obsahující 25 ml kyseliny chlorovodíkové o koncentraci 0,1 mol/l (4.11.) a zahřívá se po dobu jedné hodiny na vroucí vodní lázni. Pak se roztok ochladí, doplní se na původní objem čerstvě

převařenou vodou a titruje roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,1 mol/l (4.10.) za použití fenolftaleinu (4.12.) jako indikátoru.

Spotřeba roztoku hydroxidu sodného, 0,1 mol/l (4.10.) musí být mezi 5,5 a 6,5 ml.

- 6.1.3. 10 ml zředěného činidla (6.1.2.) se titruje kyselinou chlorovodíkovou, 0,1 mol/l (4.11.) za použití fenolftaleinu (4.12.) jako indikátoru. Bod ekvivalence při titraci je charakterizován ztrátou fialového zbarvení.

Spotřeba roztoku kyseliny chlorovodíkové, 0,1 mol/l (4.11.) musí být mezi 6,0 a 7,5 ml.

- 6.1.4. Hodnota pH Luff-Schoorlova činidla musí být mezi 9,3 a 9,4 při 20 °C.

6.2. Příprava roztoku

- 6.2.1. Naváží se 5 g vzorku s přesností na 1 mg a kvantitativně se převede do odměrné baňky o objemu 250 ml obsahující 200 ml vody. V případě potřeby se vyčeří přidáním 5 ml Carrezova roztoku I (4.1.), pak se přidá 5 ml Carrezova roztoku II (4.2.). Po přidavku každého roztoku se obsah zamíchá. Roztok se doplní vodou do 250 ml a dobře promíchá. V případě potřeby se roztok přefiltruje.

- 6.2.2. Roztok (6.2.1.) se zředí v takovém poměru, aby obsah redukujících cukrů vyjádřených jako glukosa se v 25 ml roztoku pohyboval v rozmezí 15 až 60 mg.

6.3. Titrace podle Luff-Schoorlovy metody

Do 300 ml Erlenmeyerovy baňky (5.1.) se odpipetuje 25 ml Luff-Schoorlova činidla (4.3.), do baňky se pak pipetou odměří 25 ml roztoku cukru (6.2.2.) a vloží se dva úlomky pemzy (4.8.). K baňce (5.1.) se připojí zpětný chladič a aparatura se ihned umístí na drátěnou azbestovou síťku nad plamen Bunsenova kahanu. Síťka má v azbestové části vyříznutý kruhový otvor o stejném průměru, jako je dno baňky. Kapalina se přibližně během dvou minut uvede do varu a nechá se mírně vařit po dobu 10 min. Pak se ihned ochladí ve studené vodě a po 5 min se titruje podle tohoto postupu:

Přidá se 10 ml roztoku jodidu draselného (4.7.), bezprostředně poté se přidá opatrně (s ohledem na bouřlivý vývoj plynu) 25 ml kyseliny sírové o koncentraci 3 mol/l (4.6.). Titruje se roztokem thiosíranu sodného o koncentraci 0,1 mol/l (4.4.), dokud se roztok téměř neodbarví, pak se přidá jako indikátor několik ml roztoku škrobu (4.5.) a pokračuje se v titraci až do vymizení modrého zbarvení.

Provede se slepý pokus s 25 ml vody místo 25 ml roztoku cukru (6.2.2.).

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a postup výpočtu

Z níže uvedené tabulky se odečte nebo se stanoví interpolací hmotnost glukosy nebo invertního cukru v mg, odpovídající rozdílu mezi oběma titračními spotřebami, vyjádřenými v ml roztoku thiosíranu sodného o koncentraci 0,1 mol/l.

Výsledek se vyjádří v hmotnostních procentech invertního cukru nebo D-glukosy, vztažených na sušinu.

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 0,2 ml.

8. Poznámka

Před okyselením kyselinou sírovou se může přidat malé množství isopentylalkoholu (4.9.), aby se omezila tvorba pěny.

Tabulka hodnot pro Luff-Schoorlovo činidlo

0,1 mol/l thiosíranu sodného	Glukosa, fruktosa, invertní cukr $C_6H_{12}O_6$		
	ml	mg	rozdíl
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 stanovení redukujících cukrů vyjádřených jako invertní cukr

(Metoda podle Lanea a Eynona – modifikace s konstantním objemem)

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení redukujících cukrů vyjádřených jako invertní cukr

- v tekutém cukru,
- v tekutém cukru bílém,
- v tekutém invertním cukru,
- v tekutém bílém invertním cukru,
- v sirupu z invertního cukru,
- v sirupu z invertního cukru bílého.

2. Definice

Redukujícími cukry vyjádřenými jako invertní cukr se rozumí obsah redukujících cukrů stanovený popsanou metodou.

3. Podstata metody

Roztokem zkušební vzorku se titruje za bodu varu určité množství Fehlingova roztoku s použitím methylenové modři jako indikátoru.

4. Reakční činidla

4.1. Fehlingův roztok:

4.1.1. Roztok A:

69,3 g pentahydrátu síranu měďnatého se rozpustí ve vodě a doplní se na 1 000 ml.

4.1.2. Roztok B:

346,0 g tetrahydrátu vinanu sodnodraselného a 100 g hydroxidu sodného se rozpustí ve vodě a doplní na 1 000 ml. Čirý roztok se oddělí dekantací od usazeniny, která se může někdy vytvořit.

Poznámka:

Tyto dva roztoky je třeba skladovat v hnědých nebo jantarově žlutě zbarvených lahvích.

4.2. Roztok hydroxidu sodného, 1 mol/l.

4.3. Standardní roztok invertního cukru: 23,750 g čisté sacharosy se rozpustí v cca 120 ml vody v 250 ml odměrné baňce, přidá se 9 ml kyseliny chlorovodíkové (hustota 1,16 g/ml) a nechá se stát při laboratorní teplotě po dobu 8 dní. Roztok se doplní do 250 ml a ukončení hydrolýzy se zkontroluje polarimetrem nebo sacharometrem s délkou trubice 200 mm. Odečtená hodnota se má rovnat $(11,80 \pm 0,05) ^\circ\text{S}$ (viz poznámka 8). 200 ml tohoto roztoku se odpipetuje do 2000 ml odměrné baňky, zředí se vodou a za stálého protřepávání (aby nedošlo k nadměrné místní alkalizaci roztoku) se přidá 71,4 ml roztoku hydroxidu sodného o koncentraci 1 mol/l (4.2.), ve kterém jsou rozpuštěny 4 g kyseliny benzoové. Baňka se doplní do 2000 ml, aby výsledný roztok obsahoval 1 g invertního cukru ve 100 ml. Hodnota pH roztoku má být přibližně rovna 3.

Tento stabilní zásobní roztok by se měl ředit až těsně před použitím.

Při přípravě roztoku invertního cukru o koncentraci 0,25 g/100 ml se 250 ml odměrná baňka naplní po rysku zásobním roztokem o koncentraci 1 g/100 ml při 20 °C. Obsah se kvantitativně převede do 1000 ml odměrné baňky a doplní se vodou po rysku při 20 °C.

- 4.4. Roztok methylenové modři, 1 g/100 ml.
5. Přístroje a pomůcky
 - 5.1. Varné baňky s úzkým hrdlem o objemu 500 ml.
 - 5.2. Byreta o objemu 50 ml, dělená po 0,05 ml, s postranním kohoutem.
 - 5.3. Pipety s ryskami na 20, 25 a 50 ml.
 - 5.4. Odměrné baňky o objemu 250, 1 000 a 2 000 ml.
 - 5.5. Zařízení k ohřevu, vhodné pro udržování varu za podmínek uvedených v bodě 6.1. a umožňující sledovat barevnou změnu v bodě ekvivalence, aniž se varná baňka (5.1.) musí přemísťovat.
 - 5.6. Stopky ukazující s přesností nejméně na 1 s.
6. Postup
 - 6.1. Stanovení titru Fehlingova roztoku
 - 6.1.1. Do čisté a suché kádinky se odpipetuje 50 ml roztoku B (4.1.2.), poté 50 ml roztoku A (4.1.1.) a dobře se promíchá.
 - 6.1.2. Byreta se propláchne a naplní 0,25 % (0,25 g/100 ml) standardním roztokem invertního cukru (4.3.).
 - 6.1.3. Do 500 ml varné baňky (5.1.) se odpipetuje alikvotní podíl 20 ml směsného roztoku A a B (6.1.1.) a přilije se 15 ml vody. Z byrety se do baňky odměří 39 ml roztoku invertního cukru, přidá se několik varných kamínků a obsah se jemným krouživým pohybem promíchá.
 - 6.1.4. Obsah baňky se zahřeje k varu a nechá se vařit po dobu přesně 2 min. Během dalšího postupu se baňka nesmí sejmout ze zdroje tepla a přerušit var.

Na konci dvouminutového varu se přidají tři nebo čtyři kapky roztoku methylenové modři (4.4.). Barva roztoku musí být výrazně modrá.
 - 6.1.5. Pokračuje se v přidávání standardního roztoku invertního cukru z byrety, zpočátku po 0,2 ml, pak po 0,1 ml a nakonec po kapkách, až se dosáhne bodu ekvivalence. Ten je indikován vymizením modrého zbarvení přítomné methylenové modři. Barva roztoku je načervenalá následkem přítomnosti suspenze oxidu měďného.
 - 6.1.6. Bodu ekvivalence při titraci by mělo být dosaženo do tří minut od začátku varu roztoku. Konečná spotřeba V_0 se musí pohybovat v rozmezí 39,0 až 41,0 ml. Je-li hodnota V_0 mimo hranice toto rozmezí, upraví se koncentrace mědi ve Fehlingově roztoku A (4.1.1.) a stanovení titru se opakuje.

6.2. Příprava roztoku vzorku

Koncentrace roztoku zkušební vzorku se má pohybovat v rozmezí 250 až 400 mg invertního cukru ve 100 ml.

6.3. Orientační zkouška

6.3.1. Je nutné provést orientační zkoušku ke zjištění potřebného přídatku vody k 20 ml směsného roztoku A a B, který zajistí, že konečný objem po titraci bude činit 75 ml.

Postupuje se shodně s návodem v bodě 6.1.4., pouze místo standardního roztoku invertního cukru se použije roztok vzorku, tj. do baňky se byretou odměří 25 ml roztoku vzorku, přidá se 15 ml vody, nechá se 2 min povařit a roztok se pak titruje až do dosažení bodu ekvivalence, jak je popsáno v bodě 6.1.5.

6.3.2. Pokud po přidavku roztoku methylenové modři přetrvává načervenalé zbarvení, je použitý roztok vzorku příliš koncentrovaný. V tomto případě se zkouška přeruší a provede se opakované stanovení s nižší koncentrací roztoku vzorku.

Je-li k dosažení načervenalého zbarvení zapotřebí více než 50 ml roztoku vzorku, musí se použít roztok vzorku s vyšší koncentrací.

Množství vody, které se má přidat, se vypočítá odečtením objemu směsného Fehlingova roztoku (20 ml) a objemu roztoku vzorku od 75 ml.

6.4. Konečná zkouška roztoku vzorku

6.4.1. Do varné baňky se odpipetuje 20 ml směsného Fehlingova roztoku a množství vody stanovené podle bodu 6.3.

6.4.2. Z byrety se odměří roztok vzorku v množství stanoveném podle bodu 6.3., sníženém o 1 ml. Přidá se několik varných kamínků, obsah baňky se krouživým pohybem promíchá, povaří a titruje jako v předchozím stupni (6.3.). Bodu ekvivalence při titraci musí být dosaženo během 1 min od přidání roztoku methylenové modři. Spotřeba při konečné titraci se rovná V_1 .

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a postup výpočtu

Obsah redukujících cukrů ve vzorku vyjádřený jako invertní cukr se vypočítá podle vzorce:

% redukujících cukrů (jako invertní cukr):

$$\frac{V_0 \times 25 \times f}{C \times V_1}$$

kde:

C - koncentrace roztoku zkušební vzorku (g/100 ml),

V_0 - spotřeba standardního roztoku invertního cukru (ml) při stanovení titru,

V_1 - spotřeba roztoku zkušební vzorku (ml) při přesné zkoušce (6.4.2.),

f - korekční faktor zohledňující koncentraci sacharosy přítomné v roztoku zkušební vzorku; hodnoty jsou uvedeny v níže uvedené tabulce:

Sacharosa (g ve směsi)	Korekční faktor f
0,0	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

Korekce pro jiná množství sacharosy v roztoku zkušební vzorku se mohou vypočítat z tabulkových hodnot interpolací.

Poznámka:

Přibližná koncentrace sacharosy se může stanovit odečtením koncentrace rozpuštěných tuhých látek z invertního cukru (pro tento výpočet je použita hodnota f rovna 1,0) od koncentrace veškerých rozpuštěných látek vyjádřených jako sacharosa a stanovených na základě indexu lomu podle přílohy č. 15 k této vyhlášce.

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 1,0 % jejich aritmetického průměru.

8. Poznámka

Při převodu hodnoty ve °S na polarimetrické úhlové stupně se tato hodnota udaná v °S dělí faktorem 2,889 (polarimetrická trubice o délce 200 mm; sodíková výbojka jako zdroj světla; přístroj umístěný v místnosti, ve které je možno udržovat teplotu blízkou 20 °C).

Metoda stanovení glukosového ekvivalentu pro některé cukry určené k lidské spotřebě
(Metoda podle Lanea a Eynona s konstantním titrem)

1. Předmět a oblast použití
Tato metoda slouží ke stanovení glukosového ekvivalentu
 - ve škrobovém sirupu,
 - v sušeném škrobovém sirupu,
 - v monohydrátu glukosy,
 - v glukose bezvodé.
2. Definice
 - 2.1. Redukční silou se rozumí obsah redukujících cukrů stanovený popsanou metodou, vyjádřených jako bezvodá D-glukosa a udávaný v procentech hmotnosti vzorku.
 - 2.2. Glukosovým ekvivalentem se rozumí redukční síla vypočtená v procentech hmotnosti sušiny vzorku.
3. Podstata metody
Roztokem zkušební vzorku se za přesně určených podmínek titruje za bodu varu určitý objem směsného Fehlingova roztoku s použitím methylenové modři jako indikátoru.
4. Reakční činidla
 - 4.1. Fehlingův roztok:
 - 4.1.1. Roztok A:

Ve vodě se rozpustí 69,3 g pentahydrátu síranu měďnatého a v odměrné baňce o objemu 1 000 ml se doplní po rysku.
 - 4.1.2. Roztok B:

Ve vodě se rozpustí 346,0 g tetrahydrátu vinanu sodno-draselného a 100 g hydroxidu sodného a v odměrné baňce o objemu 1000 ml doplní vodou po rysku. Čirý roztok se dekantací oddělí od usazeniny, který se někdy může vytvořit.

Poznámka: Tyto dva roztoky (4.1.1. a 4.1.2.) je třeba skladovat v hnědých nebo jantarově žlutě zbarvených lahvích.
 - 4.1.3. Příprava směsného Fehlingova roztoku

Do čisté kádinky se odpipetuje 50 ml roztoku B (4.1.2.) a poté 50 ml roztoku A (4.1.1.) a dobře se promíchají.

Poznámka: Směsný Fehlingův roztok se nesmí uchovávat, nýbrž se musí každý den připravovat čerstvý a standardizovaný (6.1.).
 - 4.2. Bezvodá D-glukosa (C₆H₁₂O₆)

Tento materiál je nutno před použitím 4 h sušit ve vakuové sušárně při teplotě 100 ± 1 °C nebo nižší a při tlaku asi 10 kPa (103 mbar).
 - 4.3. Standardní roztok glukosy, 0,600 g/100 ml

S přesností na 0,1 mg se naváží 0,6 g bezvodé glukosy (4.2.), rozpustí se ve vodě, kvantitativně převede do odměrné baňky o objemu 100 ml (5.4.), doplní vodou po rysku a promíchá.

Tento roztok je nutno připravit čerstvý každý den, kdy bude používán.

- 4.4. Roztok methylenové modři, 0,1 g/100 ml vody
Rozpustí se 0,1 g methylenové modři ve 100 ml vody.
5. Přístroje a pomůcky
 - 5.1. Varné baňky s úzkým hrdlem o objemu 250 ml.
 - 5.2. Byreta o objemu 50 ml, s postranním kohoutem a dělená po 0,05 ml.
 - 5.3. Pipety nedělené s ryskami 25 ml a 50 ml.
 - 5.4. Odměrné baňky o objemu 100 a 500 ml.
 - 5.5. Zařízení k ohřevu, vhodné pro udržování varu v souladu s podmínkami popsány v bodě 6.1. a umožňující sledovat barevnou změnu v bodě ekvivalence, aniž se varná baňka (5.1.) odstraní ze zdroje tepla (viz bod 6.1. poznámka 1).
 - 5.6. Stopky ukazující s přesností nejméně na 1 s.
6. Postup
 - 6.1. Standardizace Fehlingova roztoku
 - 6.1.1. Do čisté suché varné baňky (5.1.) se odpipetuje 25 ml Fehlingova roztoku (4.1.3.).
 - 6.1.2. Byreta (5.2.) se naplní standardním roztokem glukosy (4.3.) a meniskus se nastaví na nulovou rysku.
 - 6.1.3. Do varné baňky (5.1.) se z byrety napustí 18 ml standardního roztoku glukosy (4.3.) a obsah se krouživým pohybem promíchá.
 - 6.1.4. Varná baňka se umístí na zařízení k ohřevu (5.5.), předem nastavené tak, aby var nastal za (120 ± 15) s.
V celém průběhu titrace nesmí být zařízení k ohřevu nastavováno jinak (viz poznámka 1)
 - 6.1.5. Jakmile se roztok začne vařit, spustí se stopky.
 - 6.1.6. Obsah baňky se povaří 120 sekund (podle stopek). Ke konci se přidá 1 ml roztoku methylenové modři (4.4.).
 - 6.1.7. Po 120 s, měřeno stopkami, od začátku varu se začne z byrety (6.1.2.) do varné baňky (5.1.) přidávat standardní roztok glukosy po 0,5 ml dávkách, dokud se methylenová modř neodbarví (viz poznámky 2 a 3).
Zaznamená se celkový objem přidaného standardního roztoku glukosy (X ml) včetně předposlední 0,5 ml dávky.
 - 6.1.8. Stupně v bodech 6.1.1. a 6.1.2. se zopakují.

- 6.1.9. Z byrety se do varné baňky (5.1.) napustí ($X - 0,3$) ml standardního roztoku glukosy.
- 6.1.10. Stupně v bodech 6.1.4., 6.1.5. a 6.1.6. se zopakují.
- 6.1.11. Po 120 s, měřeno stopkami, od počátku varu se začne z byrety do varné baňky (5.1.) přidávat standardní roztok glukosy, zpočátku po 0,2 ml dávkách a nakonec po kapkách, dokud se methylenová modř právě neodbarví.
- Ke konci tohoto postupu musí být doba mezi dvěma po sobě následujícími přídávky standardního roztoku glukosy 10 až 15 s.
- Toto přidávání musí být provedeno během 60 s a celková doba varu tedy nesmí překročit 180 s.
- K tomuto účelu může být zapotřebí provést třetí titraci s poněkud větší, příslušně upravenou počáteční dávkou standardního roztoku glukosy (6.1.9.).
- 6.1.12. Zaznamená se celková spotřeba (V_0 ml) standardního roztoku při závěrečné titraci (viz poznámka 4).
- 6.1.13. Hodnota V_0 musí být v rozmezí 19,0 - 21,0 ml standardního roztoku glukosy (4.3.).
- Pokud se hodnota V_0 nachází mimo toto rozmezí, příslušně se upraví koncentrace Fehlingova roztoku A (4.1.1.) a standardizační proces se zopakuje.
- 6.1.14. Vzhledem k tomu, že hodnota V_0 je přesně známa, je třeba pro každodenní standardizaci provést jednu titraci s počátečním přídávkem standardního roztoku glukosy $V_0 - 0,5$.

Poznámka 1: Tímto je zajištěno, že jakmile nastane var, je vývin páry rychlý a nepřerušovaný během celé titrační procedury a v co nejvíc se zabrání vniknutí vzduchu do titrační baňky a opětovné oxidaci jejího obsahu.

Poznámka 2: Odbarvení roztoku methylenové modři je nejlépe pozorovatelné v horních vrstvách obsahu titrační baňky a v oblasti menisku, tj. v místech, které v podstatě neobsahují sražený červený oxid měďnatý. Odbarvení je snadněji pozorovatelné za nepřímého osvětlení. Je výhodné použít stínítko za titrační baňkou.

Poznámka 3: Byreta by měla být během stanovení co nejlépe chráněna před zdrojem tepla.

Poznámka 4: Vzhledem k tomu, že nelze zcela vyloučit subjektivní faktor, musí každý pracovník provádět svou vlastní standardizační titraci a při výpočtu musí použít svou vlastní hodnotu V_0 (7.1.).

6.2. Orientační zkouška připraveného vzorku

- 6.2.1. Pokud není známa přibližná hodnota redukční síly (2.1.) připraveného vzorku, je nutno provést předběžnou zkoušku, aby se získala tato přibližná hodnota, a mohla tak být vypočtena hmotnost zkušební vzorku (6.3.).

Tato zkouška se provádí takto:

- 6.2.2. Připraví se Z % (m/V) roztok vzorku, „Z“ má přibližnou hodnotu.
- 6.2.3. Postupuje se jako v bodě 6.1.2. s použitím roztoku vzorku (6.2.2.) namísto standardního roztoku glukosy.

- 6.2.4. Postupuje se jako v bodě 6.1.1.
- 6.2.5. Postupuje se jako v bodě 6.1.3. s použitím 10 ml roztoku vzorku namísto 18,0 ml standardního roztoku glukosy.
- 6.2.6. Postupuje se jako v bodě 6.1.4.
- 6.2.7. Obsah baňky se zahřeje k varu. Přidá se 1 ml roztoku methylenové modři (4.4.).
- 6.2.8. Jakmile začne var, spustí se stopky (5.6.) a začne se přidávat roztok vzorku z byrety do baňky po 1,0 ml dávkách s odstupem asi 10 sekund, a to až do odbarvení methylenové modři.
- Zaznamená se celková spotřeba standardního roztoku glukosy (Y ml) včetně předposlední 0,5 ml dávky.
- 6.2.9. Hodnota Y nesmí přesáhnout 50 ml. Pokud se to stane, je třeba zvýšit koncentraci roztoku vzorku a titraci zopakovat.
- 6.2.10. Přibližná hodnota redukční síly připraveného vzorku v % je přibližně dána výrazem:

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

6.3 Zkušební vzorek

S přesností na 0,1 mg se odváží takové množství připraveného vzorku (mg), které obsahuje 2,85 až 3,15 g redukujících cukrů vyjádřených jako bezvodá dextrosa (D-glukosa). Při výpočtu se použije buď známá přibližná hodnota redukční síly (2.1.), nebo přibližná hodnota získaná v bodě 6.2.10.

6.4 Zkušební roztok

Zkušební vzorek se v odměrné baňce o objemu 500 ml rozpustí ve vodě a vodou doplní po rysku.

6.5 Stanovení

- 6.5.1 Postupuje se jako v bodě 6.1.1.
- 6.5.2 Byreta (5.2.) se naplní zkušebním roztokem (6.4.) a meniskus se nastaví na nulu.
- 6.5.3 Z byrety se do varné baňky napustí 18,5 ml roztoku zkušebního roztoku. Kroužením se obsah baňky zamíchá.
- 6.5.4 Postupuje se jako v bodě 6.1.4.
- 6.5.5 Postupuje se jako v bodě 6.1.5.
- 6.5.6 Postupuje se jako v bodě 6.1.6.

- 6.5.7 Postupuje se jako v bodě 6.1.7., s použitím zkušební roztoku namísto standardního roztoku glukosy.
- 6.5.8 Postupuje se jako v bodě 6.1.8.
- 6.5.9 Postupuje se jako v bodě 6.1.9., s použitím zkušební roztoku namísto standardního roztoku glukosy.
- 6.5.10 Postupuje se jako v bodě 6.1.10.
- 6.5.11 Postupuje se jako v bodě 6.1.11., s použitím zkušební roztoku namísto standardního roztoku glukosy.
- 6.5.12 Zaznamená se objem (V_1) spotřebovaného zkušební roztoku při závěrečné titraci.
- 6.5.13 Hodnota V_1 musí být v rozmezí 19,0 až 21,0 ml zkušební roztoku.
Pokud se hodnota V_1 nachází mimo toto rozmezí, upraví se koncentrace zkušební roztoku a stupně 6.5.1. až 6.5.12. se zopakují.
- 6.5.14 Provedou se dvě stanovení s použitím téhož zkušební roztoku.

6.6 Obsah sušiny

Metodou 2 se stanoví obsah sušiny připraveného vzorku.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorce a postup výpočtu

7.1.1. Redukční síla

Redukční síla vyjádřená v hmotnostních procentech připraveného vzorku je dána výrazem:

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

kde

- V_0 - objem (ml) standardního roztoku glukosy (4.3.) spotřebovaný při standardizační titraci (6.1.),
 V_1 - objem (ml) zkušební roztoku (6.4.) spotřebovaného při titraci v postupu stanovení (6.5.),
 M - hmotnost zkušební vzorku (g) (6.3.) použitého k přípravě 500 ml zkušební roztoku.

7.1.2. Glukosový ekvivalent

Glukosový ekvivalent vypočtený v hmotnostních procentech sušiny připraveného vzorku je dán výrazem:

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

kde

RP - redukční síla vypočtená v hmotnostních procentech připraveného vzorku (7.1.1.),

D - obsah sušiny připraveného vzorku v hmotnostních procentech.

7.1.3. Výsledkem je aritmetický průměr výsledků dvou stanovení za předpokladu, že je splněn požadavek kladený na opakovatelnost (7.2.).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 1,0 % jejich aritmetického průměru.

Metoda stanovení síranového popela pro některé cukry určené k lidské spotřebě

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení obsahu síranového popela

- ve škrobovém sirupu,
- v sušeném škrobovém sirupu,
- v monohydrátu glukosy,
- v glukose bezvodé.

2. Definice

Obsahem síranového popela se rozumí obsah síranového popela stanovený uvedenou metodou.

3. Podstata metody

Po spálení navážky zkušební vzorku v oxidační atmosféře při 525 °C za přítomnosti kyseliny sírové je stanovena jeho zbytková hmotnost a je vyjádřena v procentech hmotnosti vzorku.

4. Reakční činidla

- 4.1. Kyselina sírová, zředěný roztok: pomalu a opatrně se přidává 100 ml koncentrované kyseliny sírové (hustota při 20 °C = 1,84 g/ml; 96% hmot.) do 300 ml vody za současného míchání a chlazení.

5. Přístroje a pomůcky

- 5.1. Elektrická muflová pec, vybavená pyrometrem a umožňující provoz při teplotě (525 ± 25) °C.
- 5.2. Analytické váhy, vážící s přesností na 0,1 mg.
- 5.3. Kelímek pro stanovení popela, platinový či křemenný, vhodného objemu.
- 5.4. Exsikátor obsahující čerstvě aktivovaný silikagel nebo ekvivalentní vysoušedlo s indikátorem obsahu vlhkosti.

6. Postup

Kelímek (5.3.) se ohřeje na spalovací teplotu, ponechá se v exsikátoru vychladnout a zváží se. Do kelímku se přesně (na 0,1 mg) odváží 5 g škrobového sirupu nebo sušeného škrobového sirupu, případně 10 g monohydrátu glukosy nebo glukosy bezvodé.

Přidá se 5 ml roztoku kyseliny sírové (4.1.) (viz poznámka 8.1) a vzorek se v kelímku opatrně zahřívá nad plamenem nebo na varné plotýnce tak dlouho, dokud zcela nezuhelnatí. Zuhelnatění, během něhož hoří páry ze vzorku (viz poznámka 8.2), se musí provádět v digestoři.

Kelímek (5.3.) se umístí do muflové pece (5.1.), predehřáté na (525 ± 25) °C, a ponechá se v ní, dokud nevznikne bílý popel. To obvykle trvá dvě hodiny (viz poznámka 8.3).

Vzorek se nechá asi 30 min vychladnout v exsikátoru (5.4.) a poté se zváží.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a postup výpočtu

Obsah síranového popela vyjádřený v hmotnostních procentech vzorku určeného ke zkoušce je dán vzorcem:

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

kde

m_1 - hmotnost popela (g),

m_0 - hmotnost navážky zkušební vzorku (g).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou z téhož vzorku tímtež pracovníkem za totožných podmínek nesmí být větší než 2,0 % jejich aritmetického průměru.

8. Poznámky

8.1. Kyselina sírová se přidává po malých dávkách, aby se zabránilo přílišnému pění.

8.2. Při prvním spalování je třeba postupovat nanejvýš obezřetně, aby nedošlo ke ztrátám vzorku nebo popela kvůli přílišnému botnutí vzorku.

8.3. Pokud je obtížné dosáhnout úplného spálení (tj. zůstávají černé částice), je třeba kelímek z muflové pece vyjmout, zbytek po ochlazení zvlhčit několika kapkami vody a opět vložit do pece.

Metoda stanovení polarizace pro některé cukry určené k lidské spotřebě

1. Předmět a oblast použití

Metoda slouží ke stanovení polarizace

- v cukru polobílém,
- v cukru nebo v cukru bílém,
- v cukru extra bílém.

2. Definice

Polarizací se rozumí schopnost cukerného roztoku obsahujícího 26 g cukru na 100 ml, který je uzavřen v trubici o délce 200 mm, stáčet rovinu polarizovaného světla.

3. Podstata metody

Polarizace se stanovuje sacharimetrem nebo polarimetrem za podmínek popsanych v níže uvedené metodě.

4. Reakční činidla

4.1. Čerčící činidlo: roztok zásaditého octanu olovnatého.

Do asi 1 000 ml čerstvě převařené vody se přidá 560 g suchého zásaditého octanu olovnatého. Směs se 30 min vaří a poté se nechá stát přes noc.

Kapalná vrstva se dekantuje a zředí čerstvě převařenou vodou tak, aby vznikl roztok o hustotě 1,25 g/ml (při 20 °C).

Tento roztok je třeba chránit před přístupem vzduchu.

4.2. Diethylether

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Sacharimetr kalibrováný na normální hmotnost 26 g sacharosy, popřípadě polarimetr

Tento přístroj musí být umístěn v místnosti, ve které je možno udržovat teplotu okolo 20 °C. Přístroj se kalibruje standardními křemennými deskami.

5.2. Světelný zdroj skládající se ze sodíkové výbojky.

5.3. Přesné polarimetrické trubice o délce 200 mm s tolerancí $\pm 0,02$ mm.

5.4. Analytické váhy, vážící s přesností na 0,1 mg.

5.5. Jednotlivě kalibrované odměrné baňky o objemu 100 ml se zátkami. Baňky se skutečným objemem v rozmezí $(100,00 \pm 0,01)$ ml mohou být použity bez korekce. Baňky s objemem mimo uvedené rozmezí mohou být použity pouze s náležitou korekcí na 100 ml.

5.6. Vodní lázeň s termostatem nastaveným na $(20 \pm 0,1)^\circ \text{C}$.

6. Postup

6.1. Příprava roztoku

Co nejrychleji se naváží ($26 \pm 0,002$) g vzorku a kvantitativně se převede do odměrné baňky o objemu 100 ml (5.5) obsahující asi 60 ml vody.

Vzorek se rozpustí promícháváním bez zahřívání.

Pokud je třeba roztok vyčěřit, přidá se 0,5 ml činidla zásaditého octanu olovnatého (4.1.).

Roztok se míchá krouživým pohybem baňky a stěny baňky se oplachují tak dlouho, dokud meniskus nevystoupí asi 10 mm pod kalibrační rysku.

Baňka se umístí na vodní lázeň (5.6.) udržovanou při ($20 \pm 0,1$) °C a ponechá se zde tak dlouho, dokud se teplota cukerného roztoku neustálí.

Veškeré bubliny vytvořené na povrchu kapaliny se odstraní kapkou diethyletheru (4.2.).

Roztok se doplní vodou po rysku.

Baňka se zazátkuje a řádně se promíchá alespoň trojnásobným obrácením dnem vzhůru.

Baňka se nechá pět minut stát.

6.2. Stanovení polarizace

Po dobu všech níže uvedených úkonů se udržuje teplota ($20 \pm 0,1$) °C.

6.2.1. Polarimetr se nastaví na nulu.

6.2.2. Vzorek se přefiltruje přes filtrační papír. Prvních 10 ml filtrátu se nepoužije, jímá se až dalších 50 ml filtrátu.

6.2.3. Polarimetrická trubice se promyje dvojnásobným propláchnutím roztokem vzorku určeného ke zkoušce (6.2.2.).

6.2.4. Trubice se při teplotě ($20 \pm 0,1$)° C opatrně naplní roztokem vzorku určeného ke zkoušce.

Při zasouvání uzavírací destičky se odstraní veškeré vzduchové bubliny. Naplněná trubice se umístí do kolébky přístroje.

6.2.5. Odečte se polarizace s přesností na 0,05 °S nebo 0,02 úhlových stupňů. Totéž se zopakuje ještě čtyřikrát. Vypočte se průměr z těchto pěti měření.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a postup výpočtu

Výsledky jsou vyjádřeny v °S s přesností na 0,1 °S. Pro převod úhlových stupňů na °S se použije tento vzorec:

$$^{\circ}\text{S} = \text{úhlový stupeň} \times 2,889$$

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení provedených zároveň nebo rychle za sebou ze stejného vzorku stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 0,1 °S, přičemž výsledek každého stanovení je průměrem z pěti měření.

Metody zkoušení pro stanovení čistoty potravinářských přídatných látek

Úvod

1. Příprava zkušební vzorku

1.1. Obecně

Množství laboratorního vzorku určeného ke zkoušce musí být obvykle 50 g, pokud není pro určité stanovení požadováno větší množství

1.2. Příprava vzorku

Vzorek musí být před zkouškou zhomogenizován.

1.3. Uchování

Připravený vzorek musí být vždy uchováván ve vzduchotěsné a vodotěsné nádobě a musí být skladován tak, aby se zabránilo jeho poškození.

2. Reakční činidla

2.1. Voda

2.1.1. Kdekoli je zmíněna voda pro roztoky, ředění nebo promývání, míní se destilovaná voda nebo demineralizovaná voda alespoň ekvivalentní čistoty.

2.1.2. Kdekoli je zmínka o roztoku nebo ředění, aniž je uveden další údaj, míní se vodný roztok.

2.2. Chemikálie

Pokud není uvedeno jinak, musí být všechny chemikálie analytické čistoty.

3. Zařízení

3.1. Seznam zařízení

Seznam zařízení obsahuje pouze položky pro speciální použití a položky se zvláštní specifikací.

3.2. Analytické váhy

Analytické váhy jsou váhy s citlivostí 0,1 mg nebo vyšší.

4. Vyjádření výsledků

4.1. Výsledky

Výsledky uvedené v protokolu o zkoušce musí být průměrnou hodnotou nejméně dvou stanovení, jejichž opakovatelnost je uspokojivá.

4.2. Výpočet procent

Pokud není stanoveno jinak, musí být výsledky vyjádřeny v hmotnostních procentech původního vzorku, jak byl přijat do laboratoře.

4.3. Počet platných číslic

Počet platných číslic takto vyjádřeného výsledku se musí řídit přesností metody.

Metody stanovení látek extrahovatelných diethyletherem ze sulfonovaných organických barviv rozpustných ve vodě a určených pro potraviny

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanovují látky, které lze extrahovat diethyletherem ze sulfonovaných organických barviv, která nebyla smíchána s žádným nosičem.

2. Definice

Obsahem látek extrahovatelných diethyletherem se rozumí obsah látek stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Extrakce barviva diethyletherem a vážení extrahovaného zbytku po odpaření etheru.

4. Reakční činidla

4.1. Diethylether, bez vody, bez peroxidu (vysušený čerstvě vyžíhaným chloridem vápenatým).

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Soxhletův přístroj s baňkou.

5.2. Exsikátor obsahující čerstvě aktivovaný silikagel nebo ekvivalentní vysoušeč s indikátorem vlhkosti.

5.3. Analytické váhy.

5.4. Sušárna, regulovaná termostatem na 85 ± 2 °C.

6. Postup

Na kousek filtračního papíru se s přesností na 10 mg naváží asi 10 g vzorku barviva. Papír se složí, umístí se do papírové extrakční patrony, která se uzavře vatou bez tuku. Extrahuje se diethyletherem (4.1) šest hodin v Soxhletově extrakčním přístroji (5.1). Ether se odpaří při co nejnižší teplotě. Předem zvážená Soxhletova baňka se spolu se zbytkem umístí do sušárny (5.4) a suší se 20 min při teplotě (85 ± 2) °C. Baňka se přemístí do exsikátoru (5.2), volně se přikryje víčkem a nechá se vychladnout. Baňka a zbytek se zváží.

Sušení a vážení se opakuje, dokud se dvě po sobě jdoucí vážení neliší o méně než 0,5 mg. Pokud se hmotnost baňky zvýší, použije se při výpočtu nejnižší zaznamenaná hodnota.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah látek extrahovatelných etherem vyjádřený v procentech vzorku je dán vzorcem:

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

kde:

m_1 = množství zbytku po odpaření (g)

m_0 = počáteční množství odebraného vzorku (g)

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 20 mg na 100 g vzorku.

Metoda stanovení kyseliny mravenčí, mravenčanů a dalších oxidovatelných nečistot v kyselině octové, octanu draselném, dioctanu sodném a octanu vápenatém

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví kyselina mravenčí, mravenčany a další oxidovatelné nečistoty, vyjádřené jako kyselina mravenčí

- v kyselině octové (E 260),
- v octanu draselném (E 261),
- v dioctanu sodném (E 262),
- v octanu vápenatém (E 263).

2. Definice

Obsahem kyseliny mravenčí, mravenčanů a dalších oxidovatelných nečistot se rozumí obsah kyseliny mravenčí, mravenčanů a dalších oxidovatelných nečistot, jak je stanoven předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Působením přebytku manganistanu draselného na roztok vzorku v alkalickém prostředí se vytvoří oxid manganičitý. Oxid manganičitý a přebytek manganistanu draselného jsou stanoveny jodometricky v kyselém prostředí a koncentrace oxidovatelných nečistot se vypočte a vyjádří jako kyselina mravenčí.

4. Reakční činidla

4.1. Jodid draselný.

4.2. Manganistan draselný: 0,02 mol/l.

4.3. Uhličitan sodný (bezvodý).

4.4. Thiosíran sodný: 0,1 mol/l.

4.5. Roztok škrobu (asi 1 %ní).

4.6. Zředěná kyselina sírová: do 90 ml vody se přidá 90 ml kyseliny sírové ($d_{20} = 1,84$ g/ml).

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Vroucí vodní lázeň.

5.2. Analytické váhy.

6. Postup

Pokud je vzorkem volná kyselina, naváží se s přesností na 10 mg asi 10 g vzorku, zředí se 70 ml vody a přidá se roztok obsahující 10 g bezvodého uhličitanu sodného (4.3) v 30 ml vody. Pokud je vzorkem sůl, naváží se s přesností na 10 mg asi 10 g vzorku a rozpustí se ve 100 ml vody. Přidá se 1 g bezvodého uhličitanu sodného (4.3) a protřepe se, aby se rozpustil. Potom se přidá 20 ml manganistanu draselného (4.2) o koncentraci 0,02 mol/l a 15 min se zahřívá na vroucí vodní lázni.

Směs se ochladí a přidá se 50 ml zředěné kyseliny sírové (4.6) a 0,5 g jodidu draselného (4.1). Směs se míchá krouživým pohybem, dokud se veškerý vysrážený oxid manganičitý znovu nerozpustí. Titruje se thiosíranem sodným (4.4) o koncentraci 0,1 mol/l do světle žlutého zbarvení roztoku. Přidá se několik kapek škrobového roztoku (4.5) a v titraci se pokračuje, dokud není roztok bezbarvý.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah kyseliny mravenčí, mravenčanů a dalších oxidovatelných nečistot vyjádřený v procentech jako kyselina mravenčí je dán vzorcem:

$$\frac{2,3 b}{m_0} \times \left(\frac{100a}{b} - V \right)$$

kde:

a - molární koncentrace manganistanu draselného,

b - molární koncentrace thiosíranu sodného,

m_0 - počáteční hmotnost odebraného vzorku (g),

V - objem thiosíranu sodného o koncentraci 0,1 mol/l spotřebovaného při titraci (ml).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 5 mg na 100 g vzorku.

8. Poznámky

8.1. 11,3 ml roztoku thiosíranu sodného o koncentraci 0,1 mol/l odpovídá 0,2 % kyseliny mravenčí v 10 g vzorku.

8.2. Pokud nejsou přítomny žádné mravenčany, bude spotřeba 20 ml, ale pokud je přítomno více než 0,27 % hmotnostních kyseliny mravenčí, nebude přebytek manganistanu draselného dostatečný a při titraci se spotřebuje stálý minimální objem 8 ml. V tomto případě se stanovení zopakuje s menším množstvím vzorku.

Metody stanovení netěkavých látek v kyselině propionové

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví netěkavé látky v kyselině propionové (E 280).

2. Definice

Obsahem netěkavých látek v kyselině propionové se rozumí obsah netěkavých látek stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Vzorek se odpaří a poté suší při teplotě (103 ± 2) °C a zbytek se stanoví vážením.

4. Přístroje a pomůcky

4.1. Odpařovací miska porcelánová nebo platinová o dostatečném objemu, aby pojala 100 g vzorku.

4.2. Sušárna, elektricky vyhřívaná, regulovaná termostatem na (103 ± 2) °C.

4.3. Analytické váhy.

4.4. Vroucí vodní lázeň.

4.5. Exsikátor obsahující čerstvě aktivovaný silikagel nebo odpovídající vysoušedlo s indikátorem vlhkosti.

5. Postup

Do předem vysušené a zvážené misky (4.1) se naváží 100 g vzorku kyseliny propionové s přesností na 0,1 g. Odpařuje se na vroucí vodní lázni (4.4) v digestoři. Po odpaření veškeré kyseliny propionové se miska umístí na jednu hodinu do sušárny (4.2) při teplotě (103 ± 2) °C, potom do exsikátoru a nechá se vychladnout a poté se zváží. Zahřívání, vychladnutí a vážení se opakuje, dokud není rozdíl mezi dvěma po sobě jdoucími váženími menší než 0,5 mg. Pokud se hmotnost zvýší, použije se při výpočtu nejnižší zaznamenaná hodnota.

6. Vyjádření výsledků

6.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah netěkavých látek vypočítaný v procentech vzorku je dán vzorcem:

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

kde:

m_1 . hmotnost zbytku po odpaření (g),

m_0 . hmotnost odebraného vzorku (g).

6.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 5 mg na 100 g vzorku.

Metoda stanovení úbytku hmotnosti sušením u dusitanu sodného

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví úbytek hmotnosti sušením u dusitanu sodného (E 250).

2. Definice

Obsahem vlhkosti v dusitanu sodném se rozumí úbytek hmotnosti sušením stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Úbytku hmotnosti sušením se dosáhne zahříváním v sušárně při teplotě (103 ± 2) °C, vážením a výpočtem úbytku hmotnosti.

4. Přístroje a pomůcky

4.1. Sušárna, elektricky vyhřívaná, regulovaná termostatem na (103 ± 2) °C.

4.2. Miska na vážení, s plochým dnem, skleněná, o průměru 60 až 80 mm a hloubce alespoň 25 mm, s volným víčkem.

4.3. Exsikátor obsahující čerstvě aktivovaný silikagel nebo odpovídající vysoušedlo s indikátorem obsahu vlhkosti.

4.4. Analytické váhy.

5. Postup

Z misky na vážení (4.2) se sejme víčko a miska i víčko se hodinu zahřívají v sušárně (4.1) při (103 ± 2) °C. Miska (4.2) se přikryje víčkem, umístí se do exsikátoru (4.3) a nechá se vychladnout na teplotu místnosti. Přikrytá miska (4.2) se zváží s přesností na 10 mg. Do misky s víčkem se s přesností na 10 mg naváží asi 10 g vzorku. Víčko se sejme a miska (4.2) i víčko se umístí na jednu hodinu do sušárny (4.1) při teplotě (103 ± 2) °C. Miska se znovu přikryje víčkem a nechá se v exsikátoru (4.3) vychladnout na teplotu místnosti. Zváží se s přesností na 10 mg. Zahřívání, vychladnutí a vážení se opakuje, dokud rozdíl mezi dvěma po sobě jdoucími váženími není menší než 10 mg. Pokud se hmotnost zvýší, použije se při výpočtu nejnížší zaznamenaná hodnota.

6. Vyjádření výsledků

6.1. Vzorec a metoda výpočtu

Úbytek hmotnosti sušením počítaná jako procento hmotnosti vzorku je dána vzorcem:

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

kde:

m_1 - hmotnost misky (g),

m_2 - hmotnost misky a vzorku před sušením (g),

m_3 - hmotnost misky a vzorku po vysušení (g).

6.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 100 mg na 100 g vzorku.

Metoda pro důkaz vyššího než mezního množství kyseliny salicylové v ethyl-4-hydroxybenzoátu sodném, ethyl-4-hydroxybenzoátu sodném, propyl-4-hydroxybenzoátu, propyl-4-hydroxybenzoátu sodném, methyl-4-hydroxybenzoátu a methyl-4-hydroxybenzoátu sodném

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se zjistí přítomnost kyseliny salicylové v ethyl-4-hydroxybenzoátu (E 214), propyl-4-hydroxybenzoátu (E 216) a methyl-4-hydroxybenzoátu (E 218) a jejich sodných solích (E 215, E 217, E 219).

2. Definice

Zjištěním přítomnosti kyseliny salicylové v mezní koncentraci se rozumí výsledek důkazu vyššího než mezního množství stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Reakcí síranu amonno-železitého s roztokem vzorku vznikne fialové zabarvení. Jeho intenzita se porovnává s intenzitou zabarvení vzniklou reakcí srovnávacího roztoku.

4. Reakční činidla

4.1. Roztok síranu amonno-železitého, 0,2%: připraví se rozpuštěním 0,2 g dodekahydrátu síranu amonno-železitého v 50 ml vody, přidáním 10 ml 10 obj. % kyseliny dusičné, a zředěním vodou na 100 ml.

4.2. Ethanol, 95 obj. %.

4.3. Roztok kyseliny salicylové, 0,1 g/l.

4.4. Kyselina sírová, 1 mol/l.

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Nesslerovy válce s dělením na 50 ml s celkovým objemem přibližně 60 ml.

6. Postup

6.1. Vzorky ethyl-, propyl a methyl-4-hydroxybenzoátu.

6.1.1. S přesností na 1 mg se naváží 0,1 g vzorku a rozpustí se v 10 ml 95% ethanolu (4.2). Roztok se převede do odměrného Nesslerova válce (5.1) a zředí se vodou na 50 ml. Zamíchá se a za míchání se přidá 1 g síranu amonno-železitého (4.1). Nechá se minutu stát.

6.1.2. Současně se zopakováním postupu 6.1.1 připraví srovnávací roztok, ale 0,1 g vzorku se nahradí 1 ml roztoku kyseliny salicylové (4.3).

6.1.3. Zabarovění roztoku vzorku se porovná se zabarověním srovnávacího roztoku.

6.2. Vzorky sodných solí ethyl-, propyl a methyl-4-hydroxybenzoátu.

6.2.1. Zopakuje se postup 6.1.1, před zředěním na 50 ml se provede okyselení kyselinou sírovou (4.4) o koncentraci 1 mol/l na pH 5.

6.2.2. Zopakuje se postup 6.1.2.

6.2.3. Zopakuje se postup 6.1.3.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vyhodnocení důkazu nadlimitního množství

Pokud je načervenalé fialová barva ve zkumavce s roztokem vzorku intenzivnější než barva ve zkumavce se srovnávacím vzorkem, je zkouška pozitivní a vzorek obsahuje více než 0,1 % kyseliny salicylové.

7.2. Citlivost

Mez detekce je 30 mg kyseliny salicylové na 100 g vzorku.

7.3. Poznámky

Výsledky dvou důkazů nadlimitního množství prováděných současně nebo rychle za sebou se stejným vzorkem a stejným pracovníkem za stejných podmínek musí být stejné.

Metoda stanovení volné kyseliny octové v dioctanu sodném

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví kyselina octová v dioctanu sodném (E 262).

2. Definice

Obsahem kyseliny octové se rozumí obsah kyseliny octové stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Přímá titrace kyseliny octové ve vzorku odměrným roztokem hydroxidu sodného za použití fenolftaleinu jako indikátoru.

4. Reakční činidla

4.1. 1% roztok fenolftaleinu v ethanolu.

4.2. Hydroxid sodný, 1 mol/l.

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Analytické váhy.

6. Postup

S přesností na 1 mg se naváží asi 3 g vzorku a rozpustí se v asi 50 ml vody. Přidají se dvě nebo tři kapky roztoku fenolftaleinu (4.1) a titruje se hydroxidem sodným (4.2) o koncentraci 1 mol/l, dokud červené zbarvení nepřetrvá 5 s.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah kyseliny octové v procentech hmotnosti vzorku je dán vzorcem:

$$\frac{6,005 \times V \times c}{m_0}$$

kde:

V - spotřebovaný objem hydroxidu sodného (ml),

c - koncentrace roztoku hydroxidu sodného (mol/l),

m_0 - počáteční hmotnost odebraného vzorku (g).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 500 mg na 100 g vzorku.

8. Poznámka

K titraci 3 g vzorku obsahujícího 40 % kyseliny octové je potřeba 20 ml hydroxidu sodného o koncentraci 1 mol/l.

Metoda stanovení octanu sodného v dioctanu sodném

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví octan sodný a voda, vyjádřené jako octan sodný, v dioctanu sodném (E 262).

2. Definice

Obsahem octanu sodného se rozumí obsah octanu sodného a vody vyjádřených jako octan sodný stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Vzorek se rozpustí v ledové kyselině octové a titruje se odměrným roztokem kyseliny chloristé při použití krystalové violeti jako indikátoru.

4. Činidla

4.1. Ledová kyselina octová ($\rho_{20} = 1,049$ g/ml), pro bezvodé titrace,

4.2. Krystalová violet' (C.I. 42555), 0,2 hmot. % roztok v ledové kyselině octové, číslo.

4.3. Hydrogenftalát draselný,

4.4. Anhydrid kyseliny octové,

4.5. Kyselina chloristá o koncentraci 0,1 mol/l, v ledové kyselině octové. Musí být připravena a standardizována následujícím způsobem:

Do 1000 ml odměrné baňky se skleněnou zabroušenou zátkou se naváží P (g) roztoku kyseliny chloristé. Množství P se vypočte ze vzorce:

$$P = \frac{1004,6}{m}$$

kde m je koncentrace kyseliny chloristé v hmotnostních procentech stanovená alkalimetrickou titrací (nejvhodnější je koncentrace 70 až 72 hmot. %). Přidá se asi 100 ml ledové kyseliny octové a poté postupně v malých dávkách množství Q (g) anhydridu kyseliny octové. Během přidávání se směs neustále míchá a chladí. Množství Q se může vypočítat ze vzorce:

$$Q = \frac{(567 \times P) - 5695}{a}$$

kde P je navážené množství kyseliny chloristé a a je koncentrace anhydridu kyseliny octové v hmot. %. Baňka se uzavře zátkou a nechá se 24 hodin stát na tmném místě, poté se přidá dostatečné množství ledové kyseliny octové, aby se získalo 1000 ml roztoku. Roztok připravený touto cestou je prakticky bezvodý. Roztok se standardizuje hydrogenftalátem draselným následujícím způsobem:

S přesností na 0,1 mg se naváží asi 0,2 g hydrogenftalátu draselného předem vysušeného 2 hodiny při 110 °C a v titrační baňce se za mírného zahřívání rozpustí v 25 ml ledové

kyseliny octové. Ochladí se, přidají se dvě kapky 0,2% roztoku krystalové violeti (4.2) v ledové kyselině octové a titruje se roztokem kyseliny chloristé, dokud se barva indikátoru nezmění na světle zelenou. Za použití stejného objemu rozpouštědel se provede slepá titrace a hodnota slepého pokusu se odečte od hodnoty zjištěné při skutečném stanovení. Každých 20,42 mg hydrogenftalátu draselného odpovídá 1 ml kyseliny chloristé o koncentraci 0,1 mol/l.

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Analytické váhy.

6. Postup

S přesností na 0,5 mg se naváží asi 0,2 g vzorku a rozpustí se v 50 ml ledové kyseliny octové (4.1). Přidá se několik kapek indikátorového roztoku krystalové violeti (4.2) a titruje se do světle zeleného zabarvení odměrným roztokem kyseliny chloristé (4.5) o koncentraci 0,1 mol/l.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah octanu sodného, jak je definován v bodě 2 (definice), vyjádřený v procentech hmotnosti vzorku, je dán vzorcem podle následujícího vzorce:

$$\frac{8,023 \times V \times c}{m_0}$$

kde:

V - objem spotřebovaného odměrného roztoku kyseliny chloristé (4.5) (ml),

c - molární koncentrace roztoku kyseliny chloristé (4.5),

m_0 - hmotnost odebraného vzorku (g).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení, prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 1,5 g na 100 g vzorku.

8. Poznámka

Činidla používaná v této metodě jsou toxická a vyžadují opatrné zacházení.

Metoda pro důkaz vyššího než mezního množství aldehydů v kyselině sorbátu v sorbanu sodném, draselném a vápenatém a v kyselině propionové

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se zjistí přítomnost aldehydů vyjádřených jako formaldehyd

- v kyselině sorbové (E 200),
- v sorbátu sodném, draselném a vápenatém (E 201, E 202, E 203),
- v kyselině propionové (E 280).

2. Definice

Zjištěním přítomnosti aldehydů v mezní koncentraci se rozumí výsledek důkazu nadlimitního množství stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Aldehydy ve zkušebním roztoku a formaldehyd ve srovnávacím roztoku reagují se Schiffovým činidlem za vzniku červeně zbarvených komplexů, jejichž intenzity se porovnávají.

4. Činidla

4.1. Roztok formaldehydu (0,01 mg/ml): připraví se zředěním koncentrovaného roztoku formaldehydu (400 mg/ml).

4.2. Schiffovo činidlo.

5. Postup

5.1. S přesností na 1 mg se naváží asi 1 g vzorku, přidá se 100 ml vody a protřepe se. V případě potřeby se roztok zfiltruje a k 1 ml filtrátu nebo vzorku se přidá 1 ml Schiffova činidla (4.2). Současně se k 1 ml srovnávacího roztoku formaldehydu přidá 1 ml Schiffova činidla (4.2).

5.2. Zbarvení roztoku vzorku se porovná se zbarvením srovnávacího roztoku.

6. Vyjádření výsledků

6.1. Vyhodnocení důkazu nadlimitního množství

Pokud je červené zbarvení ve zkumavce s roztokem vzorku intenzivnější než zbarvení ve zkumavce se srovnávacím roztokem, je zkouška pozitivní a vzorek obsahuje více než 0,1 % aldehydů vyjádřených jako formaldehyd.

6.2. Citlivost

Mezí detekce této zkoušky je 30 mg formaldehydu na 100 g vzorku.

6.3. Poznámky

Výsledky dvou důkazů nadlimitního množství, které jsou prováděny současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek musí být stejné.

Metoda stanovení peroxidového čísla lecithinů

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví peroxidové číslo lecithinů (E 322).

2. Definice

Peroxidovým číslem lecithinů se rozumí výsledek stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Oxidace jodidu draselného peroxidy lecitinu a titrace uvolněného jodu odměrným roztokem thiosíranu sodného.

4. Reakční činidla

4.1. Ledová kyselina octová.

4.2. Chloroform.

4.3. Jodid draselný.

4.4. Thiosíran sodný, 0,1 mol/l nebo 0,01 mol/l.

4.5. Roztok škrobu (asi 1%).

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Analytické váhy.

5.2. Aparatura, viz obrázek, která se skládá ze:

5.2.1. 100 ml zábrusová baňky s kulatým dnem;

5.2.2. zpětného chladiče;

5.2.3. skleněné trubice, 250 mm dlouhé s vnitřním průměrem 22 mm, se zábrusem;
mikrokádinky o vnějších rozměrech - průměr 20 mm a výška 35 až 50 mm.

6. Postupy

6.1. Do 100 ml baňky (4.1) se nalije 10 ml ledové kyseliny octové (4.1) a 10 ml chloroformu (4.2). Nasadí se skleněná trubice (5.2.3) a zpětný chladič (5.2.2) a směs se mírně vaří 2 minuty, aby se vypudil veškerý rozpuštěný vzduch. 1 g jodidu draselného (4.3) se rozpustí v 1,3 ml vody a tento roztok se přidá ke směsi v baňce (5.2.1), přitom se dbá na to, aby se nepřerušil var.

Pokud se v této fázi objeví žluté zbarvení, musí být stanovení zrušeno a musí být zopakováno s čerstvými činidly.

6.2. S přesností na 1 mg se naváží asi 1 g vzorku a po dalších dvou minutách varu se navážený vzorek přidá k obsahu baňky (5.2.1), opět se musí dbát na to, aby se nepřerušil var. Proto je

vzorek umístěn v mikrokádince (5.2.4) s vhodně tvarovaným dnem, jak je zobrazeno na schématu, která může být spuštěna skleněnou trubicí pomocí skleněné tyčinky (5.2.3). Chladič (5.2.2) může být na krátký čas odstraněn. Ve varu se pokračuje další tři až čtyři minuty. Zahřívání se skončí a ihned se odpojí chladič (5.2.2). Skleněnou trubicí (5.2.3) se rychle přidá 50 ml vody. Skleněná trubice (5.2.3) se odstraní a baňka (5.2.1) se pod vodovodem ochladí na teplotu místnosti. Titruje se thiosíranem sodným (0,1 mol/l nebo 0,01 mol/l) (4.4), dokud vodná vrstva nezmění barvu na světle žlutou. Přidá se 1 ml roztoku škrobu (4.5) a v titraci se pokračuje, dokud nezmizí modré zbarvení. Baňka (5.2.1) se během titrace důkladně protřepává, aby se zajistila úplná extrakce jodu z nevodné vrstvy.

6.3. Hodnota slepé titrace se získá zopakováním celého postupu 6.1 a 6.2, ale bez přidání vzorku.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a metoda výpočtu

Peroxidové číslo vzorku v miliekvivalentech na kilogram je dáno vzorcem:

$$\frac{1000 \times a \times (V_1 - V_2)}{m_0}$$

kde:

V_1 - objem roztoku thiosíranu spotřebovaného při titraci vzorku (6.2) (ml),

V_2 - objem roztoku thiosíranu spotřebovaného při titraci slepého vzorku (6.3) (ml),

a - koncentrace thiosíranu sodného (mol/l),

m_0 - počáteční hmotnost odebraného vzorku (g).

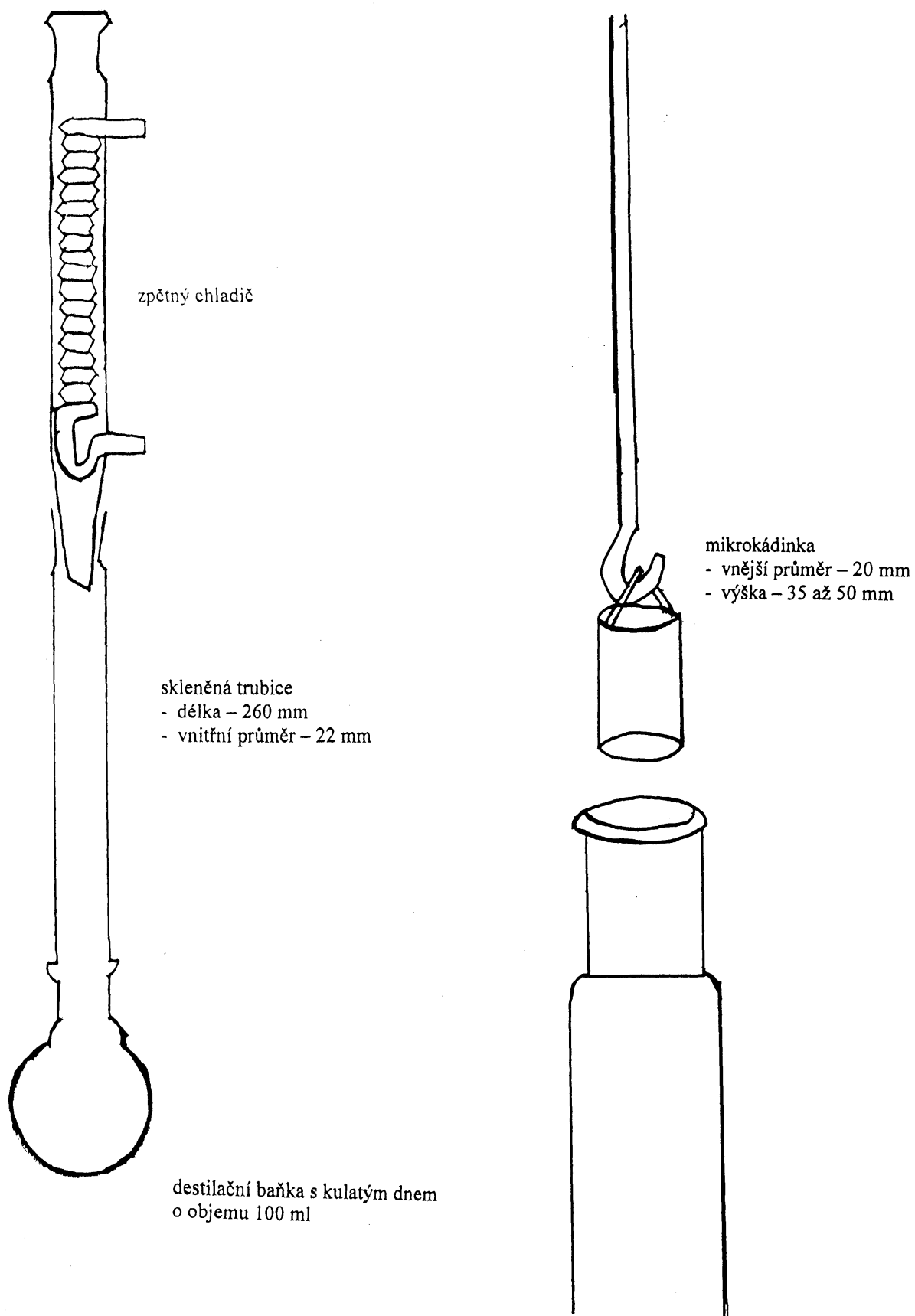
7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nemá být větší než 0,5 (vyjádřeno jako peroxidové číslo v miliekvivalentech na kilogram vzorku).

8. Poznámky

8.1. Volba koncentrace použitého thiosíranu sodného závisí na očekávaném výsledku titrace. Pokud se spotřebuje méně než 0,5 ml roztoku thiosíranu sodného o koncentraci 0,1 mol/l, opakuje se stanovení s použitím roztoku thiosíranu sodného o koncentraci 0,01 mol/l.

8.2. Stanovení by nemělo být prováděno na silném světle.



Grafické znázornění přístroje pro stanovení peroxidového čísla v lecitinech

Metoda stanovení látek nerozpustných v toluenu obsažených v lecithinech

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví látky nerozpustné v toluenu obsažené v lecithinech (E 322).

2. Definice

Obsahem látek nerozpustných v toluenu se rozumí obsah látek nerozpustných v toluenu stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Vzorek se rozpustí v toluenu, zfiltruje se a zbytek se vysuší a zváží.

4. Reakční činidla

4.1. Toluen

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Kelímek s fritou, objem 30 ml, porosita G3 nebo ekvivalentní.

5.2. Sušárna, elektricky vyhřívaná a regulovaná termostatem na $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

5.3. Vodní lázeň, pracující při teplotě nepřevyšující $60 ^\circ\text{C}$.

5.4. Exsikátor obsahující čerstvě aktivovaný silikagel nebo ekvivalentní vysoušedlo s indikátorem obsahu vlhkosti.

5.5. 500 ml kuželová baňka.

5.6. Vývěva.

5.7. Analytické váhy.

6. Postup

6.1. Kelímek o obsahu 30 ml s fritou (5.1) se vysuší v sušárně při $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$ (5.2). Kelímek se přenese do exsikátoru (5.4), nechá se vychladnout a poté se zváží.

6.2. Vzorek lecithinů se po případném zahřátí na vodní lázni (5.3) důkladně promíchá. Do kuželové baňky (5.5) se s přesností na 1 mg opatrně naváží asi 10 g vzorku. Přidá se 100 ml toluenu (4.1) a směs se krouživým pohybem promíchává, dokud se veškerý lecithin zjevně nerozpustí. Roztok se zfiltruje přes kelímek s fritou (5.1). Kuželová baňka (5.5) se vypláchne 25 ml toluenu (4.1) a výplachy se prolíjí kelímkem (5.1). Tento postup se zopakuje s dalšími 25 ml toluenu (4.1). Přebytek toluenu se z kelímku (5.1) odstraní odsátím.

6.3. Kelímek (5.1) se vysuší v sušárně (5.2) dvě hodiny při $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Umístí se do exsikátoru (5.4) a nechá se vychladnout. Po vychlazení se kelímek se zbytkem zváží.

- 6.4. Postup 6.3 se opakuje, dokud není rozdíl mezi dvěma po sobě jdoucími váženími menší než 0,5 mg.

Pokud se hmotnost zvýší, použije se při výpočtu nejnižší zaznamenaná hodnota.

7. Vyjádření výsledků

- 7.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah látek nerozpustných v toluenu je dán vzorcem:

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

kde:

m_1 - hmotnost prázdného kelímku (6.1) (g),

m_2 - hmotnost kelímku a zbytku (6.4) (g),

m_0 - hmotnost odebraného vzorku (g).

- 7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nemá být větší než 30 mg na 100 g vzorku.

Metoda pro důkaz vyššího než mezního množství redukujících látek v mléčnanu sodném, draselném a vápenatém

1. Předmět a oblast použití

Zkouška slouží ke kvalitativnímu důkazu redukujících látek

- v mléčnanu sodném (E 325),
- v mléčnanu draselném (E 326),
- v mléčnanu vápenatém (E 327).

2. Definice

Důkazem redukujících látek se rozumí výsledek důkazu nadlimitního množství stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Fehlingův roztok je redukován látkami s redukční schopností. Takovými látkami jsou obvykle redukující cukry.

4. Reakční činidla

- 4.1. Fehlingův roztok A: 6,93 g pentahydrátu síranu měďnatého se rozpustí ve vodě a objem se doplní do 100 ml vodou.
- 4.2. Fehlingův roztok B: 34,6 g vinanu draselno-sodného a 10 g hydroxidu sodného se rozpustí ve vodě a objem se doplní do 100 ml vodou.

5. Postupy

S přesností na 1 mg se naváží asi 1 g vzorku a rozpustí se v 10 ml teplé vody. Přidají se 2 ml Fehlingova roztoku A (4.1) a 2 ml Fehlingova roztoku B (4.2), poté se směs minutu povaří a sleduje se, zda dojde ke změně barvy. Síran vápenatý, který se někdy vysráží, stanovení neovlivní.

6. Vyjádření výsledků

6.1. Vyhodnocení důkazu nadlimitního množství

Pokud po povaření (5) dojde ke změně barvy, je zkouška pozitivní a přítomnost redukcí látek je prokázána.

6.2. Citlivost

Mezi detekce redukujících látek je 100 mg glukosy na 100 g vzorku.

6.3. Poznámky

- 6.3.1. Výsledky dvou důkazů nadlimitního množství prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek musí být stejné.
- 6.3.2. Oba Fehlingovy roztoky reagují v případě, že jsou ve vzorku přítomny 2 % glukózy.

Metoda stanovení těkavých kyselin v kyselině orthofosforečné

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví těkavé kyseliny, vyjádřené jako kyselina octová, v kyselině orthofosforečné (E 338).

2. Definice

Obsahem těkavých kyselin se rozumí obsah těkavých kyselin, vyjádřených jako kyselina octová stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Do vzorku se přidá voda a roztok se destiluje. Destilát se titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného. Obsah kyselin se vyjádří jako kyselina octová.

4. Reakční činidla

4.1. 1% roztok fenolftaleinu v ethanolu.

4.2. Hydroxid sodný, 0,01 mol/l.

5. Přístroje a pomůcky

5.1. Destilační aparatura s odlučovačem kapek.

6. Postup

S přesností na 50 mg se naváží asi 60 g vzorku a navážený vzorek a 75 ml čerstvě převařené a ochlazené vody se vpraví do destilační baňky opatřené odlučovačem kapek (5.1). Promíchá se a poté se predestiluje asi 50 ml roztoku.

Destilát se titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného (4.2) o koncentraci 0,01 mol/l, za použití fenolftaleinu (4.1) jako indikátoru. Titrace pokračuje, dokud první červené zbarvení roztoku nepřetrvá 10 s.

7. Vyjádření výsledků

7.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah těkavých kyselin, vyjádřených v miligramech na kilogram kyseliny octové, je dán vzorcem:

$$\frac{600 \times V}{m_0}$$

kde:

V - objem hydroxidu sodného o koncentraci 0,01 mol/l spotřebovaného při titraci (ml),

m_0 - hmotnost vzorku kyseliny orthofosforečné (g).

7.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 1 mg na 100 g vzorku.

Metoda pro důkaz vyššího než mezního množství dusičnanů v kyselině orthofosforečné

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se zjistí přítomnosti dusičnanů v kyselině orthofosforečné (E 338).

2. Definice

Důkazem přítomnosti dusičnanů, vyjádřených jako dusičnan sodný se rozumí výsledek důkazu nadlimitního množství stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Vzorek se přidá do roztoku indigokarmínu v prostředí koncentrované kyseliny sírové. Původní modré zbarvení zmizí působením oxidujících látek včetně dusičnanů.

4. Reakční činidla

4.1. Roztok indigokarmínu, 0,18% : 0,18 g natrium-indigotinsulfonátu se rozpustí ve vodě a doplní se do 100 ml vodou.

4.2. Roztok chloridu sodného, 0,05% .

4.3. Koncentrovaná kyselina sírová ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

5. Postup

Odměří se 2 ml vzorku a zředí se roztokem chloridu sodného (4.2) na 10 ml. Přidá se 0,1 ml roztoku indigokarmínu (4.1) a poté se pomalu přidává 10 ml koncentrované kyseliny sírové (4.3), během přidávání se chladí. Pozoruje se, zda modré zbarvení roztoku přetrvá pět minut.

6. Vyjádření výsledků

6.1. Vyhodnocení důkazu nadlimitního množství

Pokud modré zbarvení během pěti minut zmizí, je zkouška pozitivní a obsah oxidujících látek, vyjádřených jako dusičnan sodný, je vyšší než 5 mg/kg.

6.2. Poznámky

6.2.1. Provede se slepý pokus.

6.2.2. Výsledky dvou důkazů nadlimitního množství, prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek musí být stejné.

6.2.3. Roztok indigokarmínu starší než 60 dní by se neměl používat.

6.2.4. Pokud se získá pozitivní výsledek, může vzorek obsahovat dusičnany a další oxidující látky a zkouška musí být zopakována podle metody ISO 3709 (1976) „Kyselina fosforečná pro průmyslové použití (včetně potravin) - stanovení obsahu oxidů dusíku spektrofotometrickou metodou s 3,4-xylenolem“.

Metody stanovení látek nerozpustných ve vodě přítomných v orthofosforečnanu sodném, disodném a trisodném a orthofosforečnanu draselném, didraselném a tridraselném

1. Předmět a oblast použití

Touto metodou se stanoví látky nerozpustné ve vodě

- v orthofosforečnanu sodném (E 339a),
- v orthofosforečnanu disodném (E 339b),
- v orthofosforečnanu trisodném (E 339 c),
- v orthofosforečnanu draselném (E 340 a),
- v orthofosforečnanu didraselném (E 340b),
- v orthofosforečnanu tridraselném (E 340c).

2. Definice

Látkami nerozpustnými ve vodě se rozumí obsah látek nerozpustných ve vodě stanovený předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Vzorek se rozpustí ve vodě a zfiltruje přes vhodný porcelánový kelímeček. Po promytí a vysušení se zbytek zváží a vypočte se jako obsah látek nerozpustných ve vodě.

4. Přístroje a pomůcky

4.1. Kelímeček s fritou, porozita G3 nebo ekvivalentní.

4.2. Exsikátor obsahující čerstvě aktivovaný silikagel s indikátorem vlhkosti nebo odpovídající vysoušedlo s indikátorem vlhkosti.

4.3. Sušárna regulovaná termostatem na (103 ± 2) °C.

4.4. 400 ml polypropylenová kádinka.

4.5. Vroucí vodní lázeň.

5. Postup

S přesností na 10 mg se naváží asi 10 g vzorku fosforečnanu a v kádince (4.4) se rozpustí ve 100 ml horké vody uvedením do varu a 15minutovým zahříváním na vodní lázni (4.5). Roztok se zfiltruje vyčištěným, vysušeným a zváženým kelímečkem (4.1). Nerozpuštěný zbytek se promyje horkou vodou. Kelímeček se zbytkem se umístí do sušárny (4.3) a dvě hodiny se suší při (103 ± 2) °C.

Kelímeček se umístí do exsikátoru, nechá se vychladnout a poté se zváží. Sušení, vychladnutí a vážení se opakuje, dokud není rozdíl dvou po sobě jdoucích vážení menší než 0,5 mg. Zvýší-li se hmotnost, pak se použije při výpočtu nejnižší zaznamenaná hodnota.

6. Vyjádření výsledků

6.1. Vzorec a metoda výpočtu

Obsah látek nerozpustných ve vodě v % hmotnostních je dán vzorcem:

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

kde:

m_1 - hmotnost zbytku po vysušení (g),

m_0 - hmotnost odebraného vzorku (g).

6.2. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nemají být větší než 10 mg na 100 g vzorku.

Metody stanovení hodnoty pH potravinářských přídatných látek

1. Předmět a oblast použití

V této metodě jsou podány všeobecné pokyny pro stanovení hodnoty pH potravinářských přídatných látek.

2. Definice

Hodnotou pH potravinářských přídatných látek se rozumí hodnota pH stanovená předepsanou metodou.

3. Podstata metody

Hodnota pH vodného roztoku rozpuštěného nebo suspendovaného vzorku se stanoví obvyklým způsobem pomocí skleněné elektrody, referenční elektrody a pH metru.

4. Činidla

4.1. Přístroj se kalibruje pomocí následujícími tlumivými roztoky:

4.1.1. Tlumivý roztok, který má při 20 °C pH 6,88, se skládá ze stejných objemů roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného o koncentraci 0,05 mol/l a hydrogenfosforečnanu sodného o koncentraci 0,05 mol/l.

4.1.2. Tlumivý roztok, který má při 20 °C pH 4, je roztok hydrogenftalátu draselného o koncentraci 0,05 mol/l.

4.1.3. Tlumivý roztok, který má při 20 °C pH 9, je roztok roztoku boritanu sodného o koncentraci 0,05 mol/l.

4.2. Nasycený roztok nebo roztok chloridu draselného o koncentraci 3 mol/l nebo jiný vhodný roztok předepsaný výrobcem elektrody, k naplnění referenční elektrody.

4.3. Destilovaná voda bez oxidu uhličitého, která má pH 5 až 6.

5. Přístroje a pomůcky

5.1. pH metr s přesností 0,01 jednotek pH.

5.2. Elektrody, kombinovaná skleněná elektroda, nebo jednoduchá skleněná elektroda a referenční elektrody s vhodnými svorkami pro přichycení.

5.3. Magnetické míchadlo a topný element.

5.4. Teploměr, kalibrovaný v rozsahu 0 až 100 °C.

6. Postup

6.1. Kalibrace pH metru

Skleněné elektrody se upevní podle pokynů výrobce. Hodnoty pH získané pomocí elektrod se musí pravidelně kontrolovat porovnáním s tlumivými roztoky o známé hodnotě pH.

Před vložením do roztoku vzorku/kalibračního roztoku se elektrody opláchnou vodou a poté se jemně otrou měkkým hadříkem nebo opláchnou vodou a poté dvakrát roztokem vzorku nebo kalibračního roztoku. Pokud má vzorek hodnotu pH v kyselé oblasti, užijí se ke kontrole hodnoty

pH tlumivé roztoky o pH 4 (4.1.2) a pH 6,88 (4.1.1). Pokud má zkoušený vzorek hodnotu pH v alkalické oblasti, použijí se pro kontrolu hodnoty pH tlumivé roztoky o pH 9,22 (4.1.3) a pH 6,88 (4.1.1).

6.2. Měření roztoku vzorku

Koncentrace používaného vzorku nebo použitý postup přípravy vzorku je předepsán v příslušných předpisech Evropských společenství pro potravinářské přídatné látky.

Roztok vzorku se připraví podle pokynů za použití destilované vody (4.3) a poté se za míchání upraví teplota na 20 °C. Míchání se přeruší, do roztoku se vloží skleněné elektrody a po dvou minutách se odečte hodnota pH (5.1).

7. Vyjádření výsledků

7.1. Opakovatelnost

Rozdíl mezi výsledky dvou stanovení prováděných současně nebo rychle po sobě ve stejném vzorku a stejným pracovníkem za stejných podmínek nesmí být větší než 0,05 jednotek pH.

8. Poznámka

Tato metoda je použitelná pouze v případě, kdy jsou předpisy Evropských Společenství týkajícími se potravinářských přídatných látek stanoveny požadavky na hodnotu pH potravinářských přídatných látek rozpuštěných nebo suspendovaných ve vodě.

Příloha č. 39 k vyhlášce č. 211/2004 Sb.

REFERENČNÍ TABULKY

Indexy lomu (*n*) roztoků sacharosy při 20 °C¹

<i>n</i> (20 °C)	Sacha- rosa (%)	<i>n</i> (20 °C)	Sacha- rosa (%)	<i>n</i> (20 °C)	Sacha- rosa (%)	<i>n</i> (20 °C)	Sacha- rosa (%)	<i>n</i> (20 °C)	Sacha- rosa (%)
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 Hodnoty *n* v těchto tabulkách jsou vypočteny podle rovnice, jejímž autorem pro ICUMSA je K. Rosenhauer. Rovnice byla naprogramována a výpočty provedeny Frankem G. Carpenterem z USDA a byly publikovány v Sugar J. 33, 15-22 (červen 1970). Index lomu byl měřen při 20 °C pomocí sodíkové čáry D. Brix (hmotnostní % sacharosy) byl získán vážením při 20 °C ve vzduchu při tlaku 760 torr (mm Hg) a 50 % relativní vlhkosti. Tato tabulka nahrazuje tabulku předchozí (47.012, vydání 11) publikovanou v Int. Sugar J. 39, 22s (1937).

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
1,3780	28,253	1,3835	31,317	1,3890	34,310	1,3945	37,233	1,4000	40,091
1,3781	28,310	1,3836	31,372	1,3891	34,363	1,3946	37,286	1,4001	40,142
1,3782	28,366	1,3837	31,428	1,3892	34,417	1,3947	37,338	1,4002	40,194
1,3783	28,422	1,3838	31,482	1,3893	34,471	1,3948	37,391	1,4003	40,245
1,3784	28,479	1,3839	31,537	1,3894	34,524	1,3949	37,443	1,4004	40,296
1,3785	28,535	1,3840	31,592	1,3895	34,578	1,3950	37,495	1,4005	40,348
1,3786	28,591	1,3841	31,647	1,3896	34,632	1,3951	37,548	1,4006	40,399
1,3787	28,648	1,3842	31,702	1,3897	34,685	1,3952	37,600	1,4007	40,450
1,3788	28,704	1,3843	31,757	1,3898	34,739	1,3953	37,653	1,4008	40,501
1,3789	28,760	1,3844	31,812	1,3899	34,793	1,3954	37,705	1,4009	40,553
1,3790	28,816	1,3845	31,867	1,3900	34,846	1,3955	37,757	1,4010	40,604
1,3791	28,872	1,3846	31,922	1,3901	34,900	1,3956	37,810	1,4011	40,655
1,3792	28,928	1,3847	31,976	1,3902	34,953	1,3957	37,862	1,4012	40,706
1,3793	28,984	1,3848	32,031	1,3903	35,007	1,3958	37,914	1,4013	40,757
1,3794	29,040	1,3849	32,086	1,3904	35,060	1,3959	37,967	1,4014	40,808
1,3795	29,096	1,3850	32,140	1,3905	35,114	1,3960	38,019	1,4015	40,860
1,3796	29,152	1,3851	32,195	1,3906	35,167	1,3961	38,071	1,4016	40,911
1,3797	29,208	1,3852	32,250	1,3907	35,220	1,3962	38,123	1,4017	40,962
1,3798	29,264	1,3853	32,304	1,3908	35,274	1,3963	38,175	1,4018	41,013
1,3799	29,320	1,3854	32,359	1,3909	35,327	1,3964	38,228	1,4019	41,064
1,3800	29,376	1,3855	32,414	1,3910	35,380	1,3965	38,280	1,4020	41,115
1,3801	29,432	1,3856	32,468	1,3911	35,434	1,3966	38,332	1,4021	41,166
1,3802	29,488	1,3857	32,523	1,3912	35,487	1,3967	38,384	1,4022	41,217
1,3803	29,544	1,3858	32,577	1,3913	35,540	1,3968	38,436	1,4023	41,268
1,3804	29,600	1,3859	32,632	1,3914	35,593	1,3969	38,488	1,4024	41,318
1,3805	29,655	1,3860	32,686	1,3915	35,647	1,3970	38,540	1,4025	41,369
1,3806	29,711	1,3861	32,741	1,3916	35,700	1,3971	38,592	1,4026	41,420
1,3807	29,767	1,3862	32,795	1,3917	35,753	1,3972	38,644	1,4027	41,471
1,3808	29,823	1,3863	32,849	1,3518	35,806	1,3973	38,696	1,4028	41,522
1,3809	29,878	1,3864	32,904	1,3919	35,859	1,3974	38,748	1,4029	41,573
1,3810	29,934	1,3865	32,958	1,3920	35,912	1,3975	38,800	1,4030	41,623
1,3811	29,989	1,3866	33,013	1,3921	35,966	1,3976	38,852	1,4031	41,674
1,3812	30,045	1,3867	33,067	1,3922	36,019	1,3977	38,904	1,4032	41,725

1,3813	30,101	1,3868	33,121	1,3923	36,072	1,3978	38,955	1,4033	41,776
1,3814	30,156	1,3869	33,175	1,3924	36,125	1,3979	39,007	1,4034	41,826
1,3815	30,212	1,3870	33,230	1,3925	36,178	1,3980	39,059	1,4035	41,877
1,3816	30,267	1,3871	33,284	1,3926	36,231	1,3981	39,111	1,4036	41,928
1,3817	30,323	1,3872	33,338	1,3927	36,284	1,3982	39,163	1,4037	41,978
1,3818	30,378	1,3873	33,392	1,3928	36,337	1,3983	39,214	1,4038	42,029
1,3819	30,434	1,3874	33,446	1,3929	36,389	1,3984	39,266	1,4039	42,080
1,3820	30,489	1,3875	33,500	1,3930	36,442	1,3985	39,318	1,4040	42,130
1,3821	30,544	1,3876	33,555	1,3931	36,495	1,3986	39,370	1,4041	42,181
1,3822	30,600	1,3877	33,609	1,3932	36,548	1,3987	39,421	1,4042	42,231
1,3823	30,655	1,3878	33,663	1,3933	36,601	1,3988	39,473	1,4043	42,282
1,3824	30,711	1,3879	33,717	1,3934	36,654	1,3989	39,525	1,4044	42,332
1,3825	30,766	1,3880	33,771	1,3935	36,706	1,3990	39,576	1,4045	42,383
1,3826	30,821	1,3881	33,825	1,3936	36,759	1,3991	39,628	1,4046	42,433
1,3827	30,876	1,3882	33,879	1,3937	36,812	1,3992	39,679	1,4047	42,484
1,3828	30,932	1,3883	33,933	1,3938	36,865	1,3993	39,731	1,4048	42,534
1,3829	30,987	1,3884	33,987	1,3939	36,917	1,3994	39,782	1,4049	42,585
1,3830	31,042	1,3885	34,040	1,3940	36,970	1,3995	39,834	1,4050	42,635
1,3831	31,097	1,3886	34,094	1,3941	37,023	1,3996	39,885	1,4051	42,685
1,3832	31,152	1,3887	34,148	1,3942	37,075	1,3997	39,937	1,4052	42,736
1,3833	31,207	1,3888	34,202	1,3943	37,128	1,3998	39,988	1,4053	42,786
1,3834	31,262	1,3889	34,256	1,3944	37,180	1,3999	40,040	1,4054	42,836
1,4055	42,887	1,4110	45,623	1,4165	48,302	1,4220	50,928	1,4275	53,501
1,4056	42,937	1,4111	45,672	1,4166	48,350	1,4221	50,951	1,4276	53,548
1,4057	42,987	1,4112	45,721	1,4167	48,399	1,4222	51,022	1,4277	53,594
1,4058	43,037	1,4113	45,770	1,4168	48,447	1,4223	51,069	1,4278	53,640
1,1059	43,088	1,4114	45,820	1,4169	48,495	1,4224	51,116	1,4279	53,686
1,4060	43,138	1,4115	45,869	1,4170	48,543	1,4225	51,164	1,4280	53,733
1,4061	43,188	1,4116	45,918	1,4171	48,591	1,4226	51,211	1,4281	53,779
1,4062	43,238	1,4117	46,967	1,4172	48,639	1,4227	51,258	1,4282	53,825
1,4063	43,288	1,4118	46,016	1,4173	48,687	1,4228	51,305	1,4283	53,871
1,4064	43,338	1,4119	46,065	1,4174	48,735	1,4229	51,352	1,4284	53,918
1,4065	43,388	1,4120	46,114	1,4175	48,784	1,4230	51,399	1,4285	53,964
1,4066	43,439	1,4121	46,163	1,4176	48,832	1,4231	51,446	1,4286	54,010
1,4067	43,489	1,4122	46,212	1,4177	48,880	1,4232	51,493	1,4287	54,056
1,4068	43,539	1,4123	46,261	1,4178	48,928	1,4233	51,540	1,4288	54,102
1,4069	43,589	1,4124	46,310	1,4179	48,976	1,4234	51,587	1,4289	54,148
1,4070	43,639	1,4125	46,359	1,4180	49,023	1,4235	51,634	1,4290	54,194
1,4071	43,689	1,4126	46,408	1,4181	49,071	1,4236	51,681	1,4291	54,241
1,4072	43,739	1,4127	46,457	1,4182	49,119	1,4237	51,728,	1,4292	54,287
1,4073	43,789	1,4128	46,506	1,4183	49,167	1,4238	51,775	1,4293	54,333
1,4074	43,838	1,4229	46,555	1,4184	49,215	1,4239	51,822	1,4294	54,379
1,4075	43,888	1,4130	46,604	1,4185	49,263	1,4240	51,869	1,4295	54,425
1,4076	43,938	1,4131	46,652	1,4186	49,311	1,4241	51,916	1,4296	54,471
1,4077	43,988	1,4132	46,701	1,4187	49,359	1,4242	51,963	1,4297	54,517

1,4078	44,038	1,4133	46,750	1,4188	49,407	1,4243	52,010	1,4298	54,563
1,4079	44,088	1,4134	46,799	1,4189	49,454	1,4244	52,057	1,4299	54,609
1,4080	44,138	1,4135	46,848	1,4190	49,502	1,4245	52,104	1,4300	54,655
1,4081	44,187	1,4136	46,896	1,4191	49,550	1,4246	52,150	1,4301	54,701
1,4082	44,237	1,4137	46,945	1,4192	49,598	1,4247	52,197	1,4302	54,746
1,4083	44,287	1,4138	46,994	1,4193	49,645	1,4248	52,244	1,4303	54,792
1,4084	44,337	1,4139	47,043	1,4194	49,693	1,4249	52,291	1,4304	54,838
1,4085	44,386	1,4140	47,091	1,4195	49,741	1,4250	52,338	1,4305	54,884
1,4086	44,436	1,4141	47,140	1,4196	49,788	1,4251	52,384	1,4306	54,930
1,4087	44,486	1,4142	47,188	1,4197	49,836	1,4252	52,431	1,4307	54,976
1,4088	44,535	1,4143	47,237	1,4198	49,884	1,4253	52,478	1,4308	55,022
1,4089	44,585	1,4144	47,286	1,4199	49,931	1,4254	52,524	1,4309	55,067
1,4090	44,635	1,4145	47,334	1,4200	49,979	1,4255	52,571	1,4310	55,113
1,4091	44,684	1,4146	47,383	1,4201	50,027	1,4256	52,618	1,4311	55,159
1,4092	44,734	1,4147	47,431	1,4202	50,074	1,4257	52,664	1,4312	55,205
1,4093	44,783	1,4148	47,480	1,4203	50,122	1,4258	52,711	1,4313	55,250
1,4094	44,833	1,4149	47,528	1,4204	50,169	1,4259	52,758	1,4314	55,296
1,4095	44,882	1,4150	47,577	1,4205	50,217	1,4260	52,804	1,4315	55,342
1,4096	44,932	1,4151	47,625	1,4206	50,264	1,4261	52,851	1,4316	55,388
1,4097	44,981	1,4152	47,674	1,4207	50,312	1,4262	52,897	1,4317	55,433
1,4098	45,031	1,4153	47,722	1,4208	50,359	1,4263	52,944	1,4318	55,479
1,4099	45,080	1,4154	47,771	1,4209	50,407	1,4264	52,990	1,4319	55,524
1,4100	45,130	1,4155	47,819	1,4210	50,454	1,4265	53,037	1,4320	55,570
1,4101	45,179	1,4156	47,868	1,4211	50,502	1,4266	53,083	1,4321	55,616
1,4102	45,228	1,4157	47,916	1,4212	50,549	1,4267	53,130	1,4322	55,661
1,4103	45,278	1,4158	47,964	1,4213	50,596	1,4268	53,176	1,4323	55,707
1,4104	45,327	1,4159	48,013	1,4114	50,644	1,4269	53,223	1,4324	55,752
1,4105	45,376	1,4160	48,061	1,4215	50,691	1,4270	53,269	1,4325	55,798
1,4106	45,426	1,4161	48,109	1,4216	50,738	1,4271	53,316	1,4326	55,844
1,4107	45,475	1,4162	48,158	1,4217	50,786	1,4272	53,362	1,4327	55,889
1,4108	45,524	1,4163	48,206	1,4218	50,833	1,4273	53,408	1,4328	55,935
1,4109	45,574	1,4164	48,254	1,4219	50,880	1,4274	53,455	1,4329	55,980
1,4330	56,026	1,4385	58,503	1,4440	60,935	1,4495	63,324	1,4550	65,672
1,4331	56,071	1,4386	58,547	1,4441	60,979	1,4496	63,367	1,4551	65,714
1,4332	56,116	1,4387	58,592	1,4442	61,023	1,4497	63,410	1,4552	65,756
1,4333	56,162	1,4388	58,637	1,4443	61,066	1,4498	63,453	1,4553	65,798
1,4334	56,207	1,4389	58,681	1,4444	61,110	1,4499	63,496	1,4554	65,841
1,4335	56,253	1,4390	58,726	1,4445	61,154	1,4500	63,539	1,4555	65,883
1,4336	56,298	1,4391	58,770	1,4446	61,198	1,4501	63,582	1,4556	65,925
1,4337	56,343	1,4392	58,815	1,4447	61,241	1,4502	63,625	1,4557	65,967
1,4338	56,389	1,4393	58,859	1,4448	61,285	1,4503	63,668	1,4558	66,010
1,4339	56,434	1,4394	58,904	1,4449	61,329	1,4504	63,711	1,4559	66,052
1,4340	56,479	1,4395	58,948	1,4450	61,372	1,4505	63,754	1,4560	66,094
1,4341	56,525	1,4396	58,993	1,4451	61,416	1,4506	63,797	1,4561	66,136
1,4342	56,570	1,4397	59,037	1,4452	61,460	1,4507	63,840	1,4562	66,178

1,4343	56,615	1,4398	59,082	1,4453	61,503	1,4508	63,882	1,4563	66,221
1,4344	56,660	1,4399	59,126	1,4454	61,547	1,4509	63,925	1,4564	66,263
1,4345	56,706	1,4400	59,170	1,4455	61,591	1,4510	63,968	1,4565	66,305
1,4346	56,751	1,4401	59,215	1,4456	61,634	1,4511	64,011	1,4566	66,347
1,4347	56,796	1,4402	59,259	1,4457	61,678	1,4512	64,054	1,4567	66,389
1,4348	56,841	1,4403	59,304	1,4458	61,721	1,4513	64,097	1,4568	66,431
1,4349	56,887	1,4404	59,348	1,4459	61,765	1,4514	64,139	1,4569	66,473
1,4350	56,932	1,4405	59,392	1,4460	61,809	1,4515	64,182	1,4570	66,515
1,4351	56,977	1,4406	59,437	1,4461	61,852	1,4516	64,225	1,4571	66,557
1,4352	57,022	1,4407	59,481	1,4462	61,896	1,4517	64,268	1,4572	66,599
1,4353	57,067	1,4408	59,525	1,4463	61,939	1,4518	64,311	1,4573	66,641
1,4354	57,112	1,4409	59,569	1,4464	61,983	1,4519	64,353	1,4574	66,683
1,4355	57,157	1,4410	59,614	1,4465	62,026	1,4520	64,396	1,4575	66,725
1,4356	57,202	1,4411	59,658	1,4466	62,070	1,4521	64,439	1,4576	66,767
1,4357	57,247	1,4412	59,702	1,4467	62,113	1,4522	64,481	1,4577	66,809
1,4358	57,292	1,4413	59,746	1,4468	62,156	1,4523	64,524	1,4578	66,851
1,4359	57,337	1,4414	59,791	1,4469	62,200	1,4524	64,567	1,4579	66,893
1,4360	57,382	1,4415	59,835	1,4470	62,243	1,4525	64,609	1,4580	66,935
1,4361	57,427	1,4416	59,879	1,4471	62,287	1,4526	64,652	1,4581	66,977
1,4362	57,472	1,4417	59,923	1,4472	62,330	1,4527	64,695	1,4582	67,019
1,4363	57,517	1,4418	59,967	1,4473	62,373	1,4528	64,737	1,4583	67,061
1,4364	57,562	1,4419	60,011	1,4474	62,417	1,4529	64,780	1,4584	67,103
1,4365	57,607	1,4420	60,056	1,4475	62,460	1,4530	64,823	1,4585	67,145
1,4366	57,652	1,4421	60,100	1,4476	62,503	1,4531	64,865	1,4586	67,186
1,4367	57,697	1,4422	60,144	1,4477	62,547	1,4532	64,908	1,4587	67,228
1,4368	57,742	1,4423	60,188	1,4478	62,590	1,4533	64,950	1,4588	67,270
1,4369	57,787	1,4424	60,232	1,4479	62,633	1,4534	64,993	1,4589	67,312
1,4370	57,832	1,4425	60,276	1,4480	62,677	1,4535	65,035	1,4590	67,354
1,4371	57,877	1,4426	60,320	1,4481	62,720	1,4536	65,078	1,4591	67,396
1,4372	57,921	1,4427	60,364	1,4482	62,763	1,4537	65,120	1,4592	67,437
1,4373	57,966	1,4428	60,408	1,4483	62,806	1,4538	65,163	1,4593	67,479
1,4374	58,011	1,4429	60,452	1,4484	62,849	1,4539	65,205	1,4594	67,521
1,4375	58,056	1,4430	60,496	1,4485	62,893	1,4540	65,248	1,4595	67,563
1,4376	58,101	1,4431	60,540	1,4486	62,936	1,4541	65,290	1,4596	67,604
1,4377	58,145	1,4432	60,584	1,4487	62,979	1,4542	65,333	1,4597	67,646
1,4378	58,190	1,4433	60,628	1,4488	63,022	1,4543	65,375	1,4598	67,688
1,4379	58,235	1,4434	60,672	1,4489	63,065	1,4544	65,417	1,4599	67,729
1,4380	58,279	1,4435	60,716	1,4490	63,108	1,4545	65,460	1,4600	67,771
1,4381	58,324	1,4436	60,759	1,4491	63,152	1,4546	65,502	1,4601	67,813
1,4382	58,369	1,4437	60,803	1,4492	63,195	1,4547	65,544	1,4602	67,854
1,4383	58,413	1,4438	60,847	1,4493	63,238	1,4548	65,587	1,4603	67,896
1,4384	58,458	1,4439	60,891	1,4494	63,281	1,4549	65,629	1,4604	67,938
1,4605	67,979	1,4660	70,249	1,4715	72,482	1,4770	74,678	1,4825	76,841
1,4606	68,021	1,4661	70,290	1,4716	72,522	1,4771	74,718	1,4826	76,880
1,4607	68,063	1,4662	70,331	1,4717	72,562	1,4772	74,758	1,4827	76,919

1,4608	68,104	1,4663	70,372	1,4718	72,602	1,4773	74,797	1,4828	76,958
1,4609	68,146	1,4664	70,413	1,4719	72,643	1,4774	74,837	1,4829	76,997
1,4610	68,187	1,4665	70,453	1,4720	72,683	1,4775	74,876	1,4830	77,036
1,4611	68,229	1,4666	70,494	1,4721	72,723	1,4776	74,916	1,4831	77,075
1,4612	68,270	1,4667	70,535	1,4722	72,763	1,4777	74,956	1,4832	77,113
1,4613	68,312	1,4668	70,576	1,4723	72,803	1,4778	74,995	1,4833	77,152
1,4614	68,353	1,4669	70,617	1,4724	72,843	1,4779	75,035	1,4834	77,191
1,4615	68,395	1,4670	70,658	1,4725	72,884	1,4780	75,074	1,4835	77,230
1,4616	68,436	1,4671	70,698	1,4726	72,924	1,4781	75,114	1,4836	77,269
1,4617	68,478	1,4672	70,739	1,4727	72,964	1,4782	75,153	1,1837	77,308
1,4618	68,519	1,4673	70,780	1,4728	73,004	1,4783	75,193	1,4838	77,347
1,4619	68,561	1,4674	70,821	1,4729	73,044	1,4784	75,232	1,4839	77,386
1,4620	68,602	1,4675	70,861	1,4730	73,084	1,4785	75,272	1,4840	77,425
1,4621	68,643	1,4676	70,902	1,4731	73,124	1,4786	75,311	1,4841	77,463
1,4622	68,685	1,4677	70,943	1,4732	73,164	1,4787	75,350	1,4842	77,502
1,4623	68,726	1,4678	70,984	1,4733	73,204	1,4788	75,390	1,4843	77,541
1,4624	68,768	1,4679	71,024	1,4734	73,244	1,4789	75,429	1,3844	77,580
1,4625	68,809	1,4680	71,065	1,4735	73,285	1,4790	75,469	1,4845	77,619
1,4626	68,850	1,4681	71,106	1,4736	73,325	1,4791	75,508	1,4846	77,657
1,4627	68,892	1,4682	71,146	1,4737	73,365	1,4792	75,547	1,4847	77,696
1,4628	68,933	1,4683	71,187	1,4738	73,405	1,4793	75,587	1,4848	77,735
1,4629	68,974	1,4684	71,228	1,4739	73,445	1,4794	75,626	1,4849	77,774
1,4630	69,016	1,4685	71,268	1,4740	73,485	1,4795	75,666	1,4850	77,812
1,4631	69,057	1,4686	71,309	1,4741	73,524	1,4796	75,705	1,4851	77,851
1,4631	69,098	1,4687	71,349	1,4742	73,564	1,4797	75,744	1,4852	77,890
1,4633	69,139	1,4688	71,390	1,4743	73,604	1,4798	75,784	1,4853	77,928
1,4634	69,181	1,4689	71,431	1,4744	73,644	1,4799	75,823	1,4854	77,967
1,4635	69,222	1,4690	71,471	1,4745	73,684	1,4800	75,862	1,4855	78,006
1,4636	69,263	1,4691	71,512	1,4746	73,724	1,4801	75,901	1,4856	78,045
1,4637	69,304	1,4692	71,552	1,4747	73,764	1,4802	75,941	1,4857	78,083
1,4638	69,346	1,4693	71,593	1,1748	73,804	1,4803	75,980	1,4858	78,122
1,4639	69,387	1,4694	71,633	1,4749	73,844	1,4804	76,019	1,4859	78,160
1,4640	69,428	1,4695	71,674	1,4750	73,884	1,4805	76,058	1,4860	78,199
1,4641	69,469	1,4696	71,714	1,4751	73,924	1,4806	76,098	1,4861	78,238
1,4642	69,510	1,4697	71,755	1,4752	73,963	1,4807	76,137	1,4862	78,276
1,4643	69,551	1,4698	71,795	1,4753	74,003	1,4808	76,176	1,4863	78,315
1,4644	69,593	1,4699	71,836	1,4754	74,043	1,4809	76,215	1,4864	78,353
1,4645	69,634	1,4700	71,876	1,4755	74,083	1,4810	76,254	1,4865	78,392
1,4646	69,675	1,4701	71,917	1,4756	74,123	1,4811	76,294	1,4866	78,431
1,4647	69,716	1,4702	71,957	1,4757	74,162	1,4812	76,333	1,4867	78,469
1,4648	69,757	1,4703	71,998	1,4758	74,202	1,4813	76,372	1,4868	78,508
1,4649	69,798	1,4704	72,038	1,4759	74,242	1,4814	76,411	1,4869	78,546
1,4650	69,839	1,4705	72,078	1,4760	74,282	1,4815	76,450	1,4870	78,585
1,4651	69,880	1,4706	72,119	1,4761	74,321	1,4816	76,489	1,4871	78,623
1,4652	69,921	1,4707	72,159	1,4762	74,361	1,4817	76,528	1,4872	78,662

1,4653	69,962	1,4708	72,199	1,4763	74,401	1,4818	76,567	1,4873	78,700
1,4654	70,003	1,4709	72,240	1,4764	74,441	1,4819	76,607	1,4874	78,739
1,4655	70,044	1,4710	72,280	1,4765	74,480	1,4820	76,646	1,4875	78,777
1,4656	70,085	1,4711	72,320	1,4766	74,520	1,4821	76,685	1,4876	78,816
1,4657	70,126	1,4712	72,361	1,4767	74,560	1,4822	76,724	1,4877	78,854
1,4658	70,167	1,4713	72,401	1,4768	74,599	1,4823	76,763	1,4878	78,892
1,4659	70,208	1,4714	72,441	1,4769	74,639	1,4824	76,802	1,4879	78,931
1,4880	78,969	1,4920	80,497	1,4960	82,007	1,5000	83,500	1,5040	84,976
1,4881	79,008	1,4921	80,534	1,4961	82,044	1,5001	83,537	1,5041	85,013
1,4882	79,046	1,4922	80,572	1,4962	82,082	1,5002	83,574	1,5042	85,049
1,4883	79,084	1,4923	80,610	1,4963	82,119	1,5003	83,611	1,5043	85,086
1,4884	79,123	1,4924	80,648	1,4964	82,157	1,5004	83,648	1,5044	85,123
1,4885	79,161	1,4925	80,686	1,4965	82,194	1,5005	83,685	1,5045	85,159
1,4886	79,199	1,4926	80,724	1,4966	82,232	1,5006	83,722	1,5046	85,196
1,4887	79,238	1,4927	80,762	1,4967	82,269	1,5007	83,759	1,5047	85,233
1,4888	79,276	1,4928	80,800	1,4968	82,307	1,5008	83,796	1,5048	85,269
1,4889	79,314	1,4929	80,838	1,4969	82,344	1,5009	83,833	1,5049	85,306
1,4890	79,353	1,4930	80,876	1,4970	82,381	1,5010	83,870	1,5050	85,343
1,4891	79,391	1,4931	80,913	1,4971	82,419	1,5011	83,907	1,5051	85,379
1,4892	79,429	1,4932	80,951	1,4972	82,456	1,5012	83,944	1,5052	85,416
1,4893	79,468	1,4933	80,989	1,4973	82,494	1,5013	83,981	1,5053	85,452
1,4894	79,506	1,4934	81,027	1,4974	82,531	1,5014	84,018	1,5054	85,489
1,4895	79,544	1,4935	81,065	1,4975	82,569	1,5015	84,055	1,5055	85,525
1,4596	79,582	1,4936	81,103	1,4976	82,606	1,5016	84,092	1,5056	85,562
1,4597	79,620	1,4937	81,140	1,4977	82,643	1,5017	84,129	1,5057	85,598
1,4898	79,659	1,4938	81,178	1,4978	32,681	1,5018	84,166	1,5058	85,635
1,4899	79,697	1,4939	81,216	1,4979	82,718	1,5019	84,203	1,5059	85,672
1,4900	79,735	1,4940	81,254	1,4980	82,755	1,5020	84,240	1,5060	85,708
1,4901	79,773	1,4941	81,291	1,4981	82,793	1,5021	84,277	1,5061	85,744
1,4902	79,811	1,4942	81,329	1,4982	82,830	1,5022	84,314	1,5062	85,781
1,4903	79,850	1,4943	81,367	1,4983	82,867	1,5023	84,351	1,5063	85,817
1,4904	79,888	1,4944	81,405	1,4984	82,905	1,5024	84,388	1,5064	85,854
1,4905	79,926	1,4945	81,442	1,4985	82,942	1,5025	84,424	1,5065	85,890
1,4906	79,964	1,4946	81,480	1,4986	82,979	1,5026	84,461	1,5066	85,927
1,4907	80,002	1,4947	81,518	1,4987	83,016	1,5027	84,498	1,5067	85,963
1,4908	80,040	1,4948	81,555	1,4988	83,054	1,5028	84,535	1,5068	86,000
1,4909	80,078	1,4949	81,593	1,4989	83,091	1,5029	84,572	1,5069	86,036
1,4910	80,116	1,4950	81,631	1,4990	83,128	1,5030	84,609	1,5070	86,072
1,4911	80,154	1,4951	81,668	1,4991	83,165	1,5031	84,645	1,5071	86,109
1,4912	80,192	1,4952	81,706	1,4992	83,202	1,5032	84,682	1,5072	86,145
1,4913	80,231	1,4953	81,744	1,4993	83,240	1,5033	84,719	1,5073	86,182
1,4914	80,269	1,4954	81,781	1,4994	83,277	1,5034	84,756	1,5074	86,218
1,4915	80,307	1,4955	81,819	1,4995	83,314	1,5035	84,792	1,5075	86,254
1,4916	80,345	1,4956	81,856	1,4996	83,351	1,5036	84,829	1,5076	86,291
1,4917	80,383	1,4957	81,894	1,4997	83,388	1,5037	84,866	1,5077	86,327

1,4918	80,421	1,4958	81,932	1,4998	83,425	1,5038	84,903	1,5078	86,363
1,4919	80,459	1,4959	81,969	1,4999	83,463	1,5039	84,939	1,5079	86,399
