

Studia dzienne

Kierunek studiów: Towaroznawstwo (kierunek międzywydziałowy)

Poziom studiów: Rok III Semestr V

Instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych z przedmiotu

Metody oceny produktów

Jednostka prowadząca: Instytut Chemicznej Technologii Żywności
Zakład Technologii Skrobi i Cukiernictwa

Instrukcję opracowały: dr inż. Wiesława Krysiak
dr inż. Dorota Żyżelewicz
mgr inż. Bartłomiej Makowski

ŁÓDŹ 2013

SPIS TREŚCI

Oznaczenie kwasowości.....	str. 3
Oznaczenie zawartości wody.....	str. 8
Oznaczenie zawartości ekstraktu.....	str. 12
Oznaczenie zawartości białka.....	str. 23
Oznaczenie zawartości sacharydów.....	str. 29
Oznaczenie zawartości popiołu i składników mineralnych.....	str. 39
Analiza wybranych produktów spożywczych.....	str. 43
Literatura.....	str.45

OZNACZANIE KWASOWOŚCI

Kwasowość należy do podstawowych parametrów decydujących o jakości żywności i jest charakterystyczna dla większości produktów spożywczych. Zmiany kwasowości mogą dostarczać informacji o niekorzystnych procesach zachodzących w produkcie (np. wskutek nieprawidłowego wytwarzania lub nieodpowiedniego przechowywania), o jego świeżości, a nawet toksyczności.

Większość kwasów, które występują w żywności (np. kwas mlekowy - w przetworach mlecznych; kwas jabłkowy, cytrynowy czy winowy - w przetworach owocowo-warzywnych), to kwasy naturalne. Niektóre kwasy są celowo wprowadzane do produktów spożywczych. Powodują one obniżenie wartości pH produktu spożywczego, a w konsekwencji - m.in. spowolnienie procesu oddychania (np. w kiszzonej kapuście), brązowienie enzymatyczne oraz reakcje karbonylowo-aminowe. Jony wodorowe hamują rozwój wielu gatunków bakterii i drożdży (najbardziej odporne na obniżenie odczynu środowiska są pleśnie), dlatego do różnego rodzaju marynat wprowadza się kwas octowy, a do soków - kwas askorbinowy, często również środki utrwalające, np. kwas mlekowy, cytrynowy lub fosforowy.

Kwasy w produktach spożywczych mogą się tworzyć w rezultacie hydrolizy tłuszczów (kwasy tłuszczowe) lub w wyniku fermentacji cukrów (np. kwas mlekowy). Kwasy mogą również powstawać podczas psucia się niektórych produktów (np. kwas octowy).

Kwasowość aktywna (czynna, rzeczywista) jest definiowana jako ujemny logarytm stężenia jonów hydroniowych (H_3O^+):

$$pH = -\log [H_3O^+]$$

Kwasowość aktywna zależy przede wszystkim od mocy kwasu obecnego w roztworze. Można ją oznaczać potencjometrycznie lub spektrofotometrycznie.

Metoda potencjometryczna należy do najdokładniejszych metod oznaczania stężenia jonów H_3O^+ .

Do pomiarów pH roztworów wodnych stosuje się elektrody kombinowane. Są to zestawy dwóch elektrod w jednej wspólnej oprawce, co upraszcza przeprowadzenie pomiaru. Elektrody te są stosunkowo odporne chemicznie i pozwalają na prowadzenie pomiarów w pełnym zakresie wartości pH (od 0 do 14), w szerokim przedziale temperatur.

Innym, mało dokładnym, sposobem oznaczania kwasowości aktywnej jest określanie pH na podstawie zmiany barwy papierka wskaźnikowego (np. uniwersalnego) w porównaniu ze skalą wzorców lub wynikiem barwienia za pomocą wskaźników organicznych, których barwa w danym zakresie wartości pH jest ściśle określona.

Metody spektrofotometryczne oznaczania kwasowości aktywnej polegają na pomiarze absorbancji badanego roztworu przy określonej długości fali (jeśli roztwór jest barwny), a następnie - dodaniu wskaźnika alkacymetrycznego i ponownym pomiarze absorbancji. Różnicę między wynikami tych pomiarów porównuje się z krzywą wzorcową wykonaną na podstawie pomiaru absorbancji roztworów o znanym pH przy zastosowaniu tego samego wskaźnika alkacymetrycznego. Do oznaczeń wykorzystuje się kolorymetr lub spektrofotometr. Metoda jest rzadko stosowana, ponieważ wynik pomiaru zależy od użytego wskaźnika alkacymetrycznego, i nadaje się jedynie dla roztworów jednorodnych.

Kwasowość miareczkowa (potencjalna) jest miarą zawartości w produkcie spożywczym substancji chemicznych o charakterze kwaśnym, w szczególności kwasów organicznych i nieorganicznych oraz ich soli ulegających hydrolizie kwasowej.

Kwasowość potencjalną można oznaczać przez miareczkowanie alkacymetryczne dwojakiego rodzaju:

- 1) z zastosowaniem odpowiednich wskaźników alkacymetrycznych (tab. 1) - miareczkowanie klasyczne,
- 2) z pehametryczną detekcją punktu końcowego - miareczkowanie potencjometryczne.

Tabela 1. Wybrane wskaźniki alkacymetryczne

Wskaźnik	Zmiana barwy	pH
Oranż metylowy	czerwona →	3,1-4,4
Czerwień metylowa	czerwona → żółta	4,2-6,3
Tashiro*	czerwonofioletowa →	4,4-5,8
Błękit bromotymolowy	żółta → niebieska	6,0-7,6
Czerwień krezolowa	żółta → czerwona	7,2-8,8
Fenoloftaleina	bezbarwna → czerwona	8,3-10,0

* alkoholowy roztwór 0,026% czerwieni metylowej i 0,013% błękitu metylenowego

Źródło: H. Chmielewski (red.). *Encyklopedia techniki. Chemia. WNT, Warszawa 1966.*

Kwasowość lotna jest miarą zawartości w produkcie spożywczym kwasów ulegających odparowaniu z parą wodną (kwasów lotnych).

Pomiar kwasowości lotnej jest poprzedzony oddestylowaniem lotnych kwasów z parą wodną. Para wodna powoduje zmniejszenie prężności par kwasów, których temperatura wrzenia jest wyższa od 100°C.

Po destylacji oznacza się zawartość kwasów lotnych. Służą do tego metody:

- 1) miareczkowanie alkacymetryczne,
- 2) metoda spektrofotometryczna,
- 3) chromatografia gazowa.

Miareczkowanie alkacymetryczne otrzymanego destylatu polega na miareczkowaniu kwasów lotnych mianowanym roztworem wodorotlenku sodu wobec wskaźnika.

Metoda spektrofotometryczna polega na pomiarze wartości absorbancji przy długości fali 660 nm po wywołaniu reakcji barwnej roztworem azotanu(V) lantanu.

W przemyśle spożywczym często używane jest pojęcie **kwasowości ogólnej**, które odnosi się do całkowitej zawartości kwasów i wodorosoli w 100 g lub 100 cm³ produktu. Kwasowość ogólną przeważnie wyraża się w stopniach kwasowości.

Stopień kwasowości to liczba cm³ roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 1 M zużytego do zobojętnienia wolnych kwasów i wodorosoli zawartych w 100 g lub 100 cm³ produktu.

W różnych branżach przemysłu spożywczego spotyka się też inne sposoby wyrażania kwasowości

ogólnej, np.:

- w stopniach Delbriicka [°D] - liczba cm³ roztworu ługu sodowego o stężeniu 1 M potrzebna do zobojętnienia 20 cm³ próbki (stosowane w przemyśle gorzelnicznym),
- w stopniach Soxhleta [°S] - liczba cm³ roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 0,25 M potrzebna do zobojętnienia 50 cm³ mleka (stosowane w przemyśle mleczarskim),
- w stopniach Soxhleta-Henkla [°SH] - liczba cm³ roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 0,25 M potrzebna do zobojętnienia 100 cm³ mleka (stosowane w przemyśle mleczarskim),
- w gramach kwasu na 100 g lub 100 cm³ produktu (stosowane w przemyśle owocowo-warzywnym).
Do przeliczenia wyniku na odpowiedni kwas (tab. 2) służy wzór:

$$X = \frac{a \cdot m \cdot k}{g} \cdot 100$$

gdzie:

X - kwasowość ogólna,

a - objętość roztworu NaOH zużytego do miareczkowania [cm³],

m - stężenie molowe roztworu NaOH,

g - ilość badanego produktu [g lub cm³],

k - współczynnik przeliczeniowy (tab. 2).

Tabela 2. Wartość współczynnika *k* używanego przy przeliczaniu kwasowości

Przeliczenie wyniku analizy na kwas	Wartość <i>k</i>
Winowy	0,075
Jabłkowy	0,067
Cytrynowy	0,064

Źródło: PN-EN 12147:2000 *Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie kwasowości miareczkowej*

Ćwiczenia

1. Oznaczanie pH oraz kwasowości aktywnej soków owocowych i warzywnych metodą potencjometryczną (wg PN-EN 1132:1999)

Odczynniki i sprzęt:

Roztwory buforowe o wartości pH w zakresie 3-9

Pehametr

Wykonanie oznaczenia

Średnią próbkę laboratoryjną płynnego lub przecierowego soku owocowego lub warzywnego dokładnie wymieszać*. Naczynko pomiarowe pehametru napełnić taką ilością badanej próbki, aby

móc swobodnie zanurzyć elektrody. Po umieszczeniu elektrod w próbce włączyć aparat i odczytać wartość pH bezpośrednio na skali pehametru. Pomiar pH próbki wykonywać w temperaturze $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Przed każdym pomiarem oraz po zakończeniu wszystkich pomiarów końcówki elektrod dokładnie spłukiwać wodą destylowaną.

* Jeśli próbka zawiera znaczną ilość ditlenku węgla, należy ją odgazować, wstrząsając próbkę w zamkniętej kolbie stożkowej (od czasu do czasu wyciągając korek) lub stosując próżnię lub ultradźwięki tak długo, aż gaz przestanie się wydzielać.

** Jeśli pehametr jest wyposażony w urządzenie do kompensacji temperatury, pomiar można przeprowadzić w innej temperaturze, lecz zawierającej się między 10 a 30°C . Stosować się do instrukcji obsługi aparatu podanej przez producenta.

Wynik

Za wynik końcowy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch wykonanych równoległe oznaczeń.

2. Oznaczanie pH oraz kwasowości potencjalnej (miareczkowej) mleka (wg PN-68/A-86122)

Odczynniki

Mianowany 0,1 M NaOH, fenoloftaleina

Wykonanie oznaczenia

Do erlenmajerki o pojemności 100-150 cm³ pobrać 50 cm³ mleka. Dodać 3-4 krople roztworu fenoloftaleiny. Miareczkować roztworem NaOH do uzyskania różowego zabarwienia utrzymującego się co najmniej przez 30 s. Za wynik miareczkowania przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch wykonanych równoległe oznaczeń.

Obliczenia

Obliczyć kwasowość mleka w stopniach Soxhleta oraz Soxhleta-Henkla.

3. Oznaczanie pH oraz kwasowości miareczkowej soków owocowych i warzywnych, a także miodu, czekolady metodą potencjometryczną

Odczynniki i sprzęt

Mianowany 0,1M roztwór NaOH

Pehametr,

Mieszadło magnetyczne

Wykonanie oznaczenia

Zwykle produkty nie wymagają przygotowania wstępnego, a ich analiza metodą potencjometryczną jest wykonywana objętościowo, przy czym wynik analizy wyraża się w przeliczeniu na litr próbki.

Produkty zagęszczone można analizować objętościowo po rozcieńczeniu.

Jeśli próbka zawiera znaczną ilość ditlenku węgla, należy ją odgazować, wstrząsając próbkę w zamkniętej kolbie stożkowej (od czasu do czasu wyciągając korek) lub stosując próżnię lub

ultradźwięki tak długo, aż gaz przestanie się wydzielać.

Skałibrować pehametr, używając buforów według instrukcji obsługi. Do zlewki o pojemności 150 cm³ pobrać pipetą 25 cm³ próbki produktu (niezagęszczonego). W przypadku produktu zagęszczonego próbkę rozcieńczyć wodą, a do zlewki pobrać 25 cm³ rozcieńczonego roztworu.

W przypadku miodu odważyć 10g produktu i dodać 10 cm³ wody destylowanej.

Następnie umieścić elektrodę w badanym roztworze uruchomić mieszadło magnetyczne. Miareczkowanie, przy ciągłym mieszaniu, prowadzić w następujący sposób (przez cały czas notując odczytane wartości pH i objętość roztworu NaOH):

- a) do pH = 6 miareczkować dość szybko,
- b) następnie do pH = 7 miareczkować wolniej (po kilka kropel),
- c) dalsze miareczkowanie prowadzić po kropli,
- d) po osiągnięciu pH = 8,1 miareczkować nadal większymi porcjami.

Wykorzystując dane z miareczkowania potencjometrycznego, narysować wykres miareczkowania i metodą graficzną wyznaczyć punkt końcowy miareczkowania, odpowiadający ilości wodorotlenku sodu przy pH równym 8,1.

Miareczkowanie przeprowadzić dwukrotnie.

W przypadku czekolady należy w suchej zlewce o poj. 200cm³ odważyć 5g (z dokładnością do 0,01g) czekolady, dodać 100cm³ wrzącej wody destylowanej i całość gotować przez 10 minut. Następnie zawartość zlewki ochłodzić do temp. 20°C i uzupełnić wodą destylowaną tak, aby ogólna masa dodanej wody wynosiła 100g. Zawieszinę rozdrobnionej próbki dokładnie przesączyć przez jakościową bibułę filtracyjną. Następnie odpipetować 50cm³ przesącza do zlewki o poj. 100cm³. Wyciąg miareczkować pehametrycznie 0,1N roztworem NaOH do uzyskania pH 8,2.

Obliczenia

Kwasowość miareczkową (C_{H^+}), wyrażoną w milimolach H⁺ na dm³ produktu, obliczyć ze wzoru:

$$C_{H^+} = \frac{100 \cdot V_1 \cdot c}{V_0}$$

gdzie:

V_1 - objętość roztworu wodorotlenku sodu zużytego do miareczkowania produktu nierozcieńczonego (w przypadku produktu zagęszczonego, który rozcieńczano, przeliczyć V_1 uwzględniając rozcieńczenia) [cm³],

V_0 - objętość odmierzonej próbki (przed ewentualnym rozcieńczeniem) [cm³], z reguły 25 cm³,

c - stężenie molowe roztworu wodorotlenku sodu.

Wynik zaokrąglić do liczb całkowitych.

Kwasowość miareczkową przeliczyć również na zawartość kwasu w produkcie (w gramach na litr produktu), mnożąc wartość obliczoną ze wzoru przez odpowiedni współczynnik podany w tabeli 2.

4. Oznaczanie kwasowości lotnej przetworów owocowych i warzywnych oraz czekolady (wg PN-A-75101/05:1990)

Odczynniki i sprzęt

Mianowany 0,1 M roztwór wodorotlenku sodu, fenoloftaleina.

Zestaw do destylacji z parą wodną

Wykonanie oznaczenia

Produkty płynne (soki naturalne, zalewy, syropy kompotowe) dokładnie wymieszać. Wytarować zlewkę o pojemności 50 cm³ na wadze technicznej i odważyć w niej 25 g próbki z dokładnością do 0,01 g. Produkty gęste lub półgęste jednorodne lub niejednorodne (marmolada, dżem, przecier, galaretka, pulpa) dokładnie rozdrobnić i zhomogenizować. Odważyć tak samo jak w przypadku produktów płynnych.

Kolbę stanowiącą generator do wytwarzania pary wodnej napełnić do 2/3 objętości wodą destylowaną, włożyć kilka kawałków porowatego materiału (kamyczków wrzennych) i doprowadzić do wrzenia. Badaną próbkę przenieść ilościowo do kolby destylacyjnej, używając ok. 50 cm³ wody destylowanej. Ogrzewając jednocześnie obie kolby, regulować przepływ pary w taki sposób, aby w początkowym okresie destylacji objętość próbki zmniejszyła się do ok. 50 cm³ i do końca procesu pozostała niezmienną. Uważać, aby próbka się nie przypaliła. Destylację zakończyć po otrzymaniu 250 cm³ destylatu w odbieralniku. Destylat miareczkować roztworem wodorotlenku sodu aż do uzyskania lekko różowego zabarwienia utrzymującego się przez 30 s wobec 0,3 cm³ roztworu fenoloftaleiny.

Obliczenia

Kwasowość lotną (X) produktu, w przeliczeniu na kwas octowy, obliczyć w procentach według wzoru:

$$X = \frac{0,006 \cdot V \cdot 100}{m}$$

gdzie:

V - objętość mianowanego 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu [cm³],

m - masa próbki [g],

0,006 - ilość kwasu octowego odpowiadająca 1 cm³ roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 0,1M.

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI WODY

Jednym z głównych składników surowców i produktów żywnościowych jest woda. Jej ilość wywiera zasadniczy wpływ na wartość odżywczą, jakość i trwałość żywności. Zawartość wody w środkach spożywczych jest silnie zróżnicowana (tab. 3), a podczas obróbki technologicznej i przechowywania produktów ulega zmianom.

W surowcach i produktach spożywczych woda występuje w postaci wolnej lub związanej. Woda wolna jest rozpuszczalnikiem substancji organicznych i mineralnych, wypełnia wolne przestrzenie w produktach, bierze udział w przemianach fizykochemicznych i nie podlega zjawiskom

kapilarnym.

Tabela 3. Zawartość wody w różnych produktach spożywczych

Produkt spożywczy	Zawartość wody [%]
Cukier	0,2
Olej	0,2
Mleko w proszku	4
Masło	16
Wyroby cukiernicze	1-26
Produkty zbożowe	3-45
Mięso i produkty mięsne	55-70
Jaja	75
Ryby świeże	70-80
Warzywa, owoce	80-95
Mleko	85-90
Soki owocowe, napoje	90-95

Woda związana może występować jako:

- woda higroskopijna (zaadsorbowana), cienką warstwą powlekająca zewnętrzne powierzchnie produktu,
- woda kapilarna, występująca w naczyniach włosowatych (porach),
- woda krystaliczna, będąca integralną częścią cząsteczek materiału,
- woda konstytucyjna, związana chemicznie.

Zawartość wody w produkcie żywnościowym jest to ilość wody, którą można w nim oznaczyć za pomocą dostępnych i właściwych metod analitycznych. Z pojęciem zawartości wody jest związane pojęcie suchej masy. **Sucha masa** to pozostałość po usunięciu wody z produktu właściwą metodą analityczną. Z produktu najłatwiej usuwa się wodę wolną i higroskopijną, a najtrudniej - wodę związaną chemicznie.

Określenie „sucha masa” powstało stąd, że jej zawartość najczęściej oznacza się przez suszenie. Należy jednak mieć na uwadze, że podczas suszenia woda nie jest usuwana w całości, dlatego wyniki otrzymywane przy oznaczaniu zawartości suchej masy (lub wody) mogą być obciążone pewnym błędem, który zależy od natury badanego produktu i warunków wykonywania oznaczenia. Podczas suszenia niektórych produktów usuwana jest z nich nie tylko woda, ale również substancje lotne - wtedy rzeczywiste oznaczenie dotyczy zawartości wody i substancji lotnych. Jako przykład można przytoczyć procedury opisane w polskich normach dla nasion oleistych (PN-EN ISO 665:2004) lub dla olejów i tłuszczów (PN-EN ISO 662:2001). W przypadku mleka oraz produktów przemysłu tłuszczowego można również oznaczać suchą masę beztłuszczową. Zasada tej metody polega na odparowaniu wody z próbki produktu, np. masła, o znanej masie, ekstrakcji tłuszczu eterem naftowym i oznaczeniu pozostałej masy (PN-EN ISO 3727-2:2004).

W uproszczeniu, między zawartością suchej masy a zawartością wody w produkcie istnieje następująca zależność:

$$\text{zawartość suchej masy [\%]} = 100 - \text{zawartość wody [\%]}$$

W analityce żywności używa się również pojęcia **suchej substancji** (zamiennie z pojęciem suchej masy) oraz kilku związanych z nią pojęć, takich jak:

- sucha substancja całkowita, oznaczana przez usunięcie wody z produktu określoną metodą analityczną,
- sucha substancja rozpuszczalna (sucha pozostałość), oznaczana przez odparowanie rozpuszczalnika z badanej substancji,
- sucha substancja skorygowana, obliczana przez korektę zawartości suchej substancji o masy dodawanych związków,
- sucha substancja rozpuszczalna w wodzie (ekstrakt), oznaczana refraktometrycznie lub densymetrycznie.

Metody oznaczania zawartości wody

Zawartość wody w produktach spożywczych można oznaczać różnymi metodami, takimi jak suszenie termiczne, destylacja azeotropowa, pomiar stałej dielektrycznej, pomiar gęstości lub współczynnika refrakcji, pomiar przewodnictwa elektrycznego, rezonans jądrowo-magnetyczny, metody chemiczne, analiza termograwimetryczna.

Suszenie termiczne polega na określeniu ubytku masy próbki po usunięciu wody podczas suszenia w warunkach przewidzianych dla danego produktu.

Wiele produktów żywnościowych suszy się w suszarkach w temperaturze 100- -105°C pod ciśnieniem normalnym (PN-ISO 1442:2000, PN-EN ISO 1666:2000, PN-EN ISO 665:2004, PN-ISO 7513:2004 i in.). Produkty o mniejszej zawartości wody oraz nie zawierające związków termolabilnych są suszone w temperaturze 130°C (PN-A-74108:1996, PN-ISO 11294:2002 i in.). W przypadku produktów zawierających związki wrażliwe na podwyższoną temperaturę stosuje się zredukowane ciśnienie, co obniża temperaturę parowania wody.

Podczas suszenia produktów zawierających dużą ilość białek, cukrów i dekstryn na ich powierzchni tworzy się błona, która utrudnia parowanie wody. Aby zwiększyć powierzchnię parowania badanej próbki, miesza się ją z odpowiednio przygotowanym piaskiem, kulkami szklanymi lub pumeksem (PN-ISO 1442:2000, PN-EN ISO 3727-1:2004 i in.).

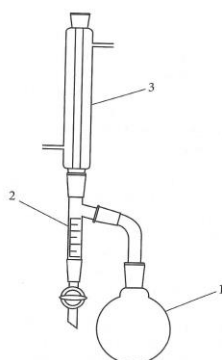
Produkty półpłynne suszy się dwustopniowo. Wstępnie odparowuje się je we wrzącej łaźni wodnej, a następnie umieszcza w suszarce w temperaturze 100°C. Produkty płynne, np. mleko, można suszyć na zwiniętych paskach bibuły filtracyjnej (w celu zwiększenia powierzchni parowania) najpierw w temperaturze 60°C, a później w 102°C.

Oznaczanie zawartości wody przeprowadza się również w suszarkach wyposażonych w automatyczną wagę, tzw. wagosuszarkach. Są one szczególnie przydatne do wykonywania seryjnych analiz.

Destylacja azeotropowa (rys. 1) polega na usunięciu wody z badanej próbki na drodze destylacji z cieciami nie mieszającymi się z wodą.

Azeotrop jest to cieka mieszanina dwóch lub więcej związków chemicznych, która jest w równowadze termodynamicznej z parą nasyconą powstającą z tej mieszaniny. W metodzie destylacji azeotropowej najczęściej stosuje się ciecze azeotropujące nierozpuszczalne w wodzie, o gęstości mniejszej od gęstości wody i temperaturze wrzenia wyższej niż 100°C (np. toluen, $t_w=110^\circ\text{C}$, lub ksylen, $t_w = 140^\circ\text{C}$), które po skropleniu zbierają się nad warstwą wody w kalibrowanej części odbieralnika. Rozpuszczalniki (szczególnie ksylen) powinny być wysyczone wodą. Zestawy do destylacji należy utrzymywać w szczególnej czystości, a przed każdym oznaczeniem aparat trzeba przepłukać alkoholem i eterem. Metodę destylacji azeotropowej stosuje się do produktów nie ulegających rozkładowi w temperaturze wrzenia stosowanego rozpuszczalnika. Jej zakres pomiarowy wynosi 0,5-40%.

Polskie normy zalecają stosowanie metody destylacji azeotropowej do oznaczania zawartości wody w produktach owocowych i warzywnych (PN-ISO 1026:2000) oraz w przyprawach (PN-ISO 939:2001).



Rys 1. Zestaw do destylacji azeotropowej:

1-kolba destylacyjna,

2-odbieralnik,

3-chłodnica zwrotna

Pomiar stałej dielektrycznej opiera się na zależności między stałą dielektryczną substancji a zawartością wody w badanym produkcie. Metoda ta polega na pomiarze wzrostu pojemności elektrycznej kondensatora, między okładkami którego jest umieszczona badana próbka. Zawartość wody w próbce odczytuje się z wycechowanej skali lub z tablic przeliczeniowych.

Metody densymetryczne, oparte na pomiarach gęstości, polegają na przygotowaniu roztworu podstawowego i oznaczeniu jego gęstości, a następnie - odczytaniu z tablic zawartości ekstraktu. Po oznaczeniu ilości części nierozpuszczalnych oblicza się zawartość wody i suchej substancji.

Metody refraktometryczne, oparte na pomiarach współczynnika refrakcji, polegają na bezpośrednim pomiarze zawartości ekstraktu i obliczeniu zawartości suchej substancji.

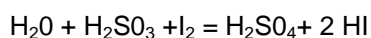
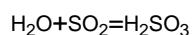
Metody refraktometryczne i densymetryczne mają charakter orientacyjny i są stosowane do takich produktów, jak marmolady, konfitury, dżemy, syropy, miody, pulpy i przeciera.

Pomiar przewodnictwa elektrycznego wykorzystuje zasadę, że wielkość ta jest wprost proporcjonalna do zawartości wody. W miernikach stosowanych w tej metodzie czujnikiem są dwie elektrody, między którymi umieszcza się próbkę.

Metoda rezonansu jądrowo-magnetycznego ($^1\text{H NMR}$) wykorzystuje zjawisko pochłaniania energii pola elektromagnetycznego wysokiej częstotliwości (w zakresie fal radiowych) przez jądra atomów wodoru w cząsteczkach wody znajdującej się w badanej próbce. Metodę cechuje duża dokładność i powtarzalność wyników oraz szeroki zakres pomiarowy: 3-100%.

Metody chemiczne umożliwiają oznaczenie całkowitej zawartości wody zarówno wolnej, jak i związanej. Najczęściej stosowanymi metodami chemicznymi są metoda Karla Fischera i metoda z węglikiem wapnia.

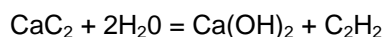
Metoda Karla Fischera polega na bezpośrednim miareczkowaniu metanolowego roztworu próbki odczynnikiem Karla Fischera (metanolowy roztwór jodu, ditlenku siarki i pirydyny). Punkt równoważnikowy miareczkowania oznacza się przez pomiar potencjału oksydacyjno-redukcyjnego układu $\text{I}_2/2\text{I}^-$. Ditlenek siarki redukuje stechiometrycznie jod w roztworze metanolu i pirydyny w obecności wody:



Miareczkowanie przeprowadza się w kolbie trój szyjnej zespolonej z biuretą (np. mikrobiuretą Derona) i galwanometrem, używając mieszadła magnetycznego. Warunkiem uzyskania prawidłowych wyników jest nieobecność w produkcie innych substancji, które mogłyby reagować ze składnikami odczynnika Karla Fischera absorbującymi jod. Reakcje prowadzi się w warunkach bezwodnych.

Metodę Karla Fischera zalecają polskie normy dla produktów hydrolizy skrobi (PN-EN ISO 5381:2001) oraz dla wyrobów tytoniowych (PN-ISO 6488:2005).

Metoda z węglikiem wapnia polega na reakcji CaC_2 z wodą:



i pomiarze ilości wydzielonego acetyleny w biurecie gazometrycznej nad stężonym roztworem chlorku potasu (KC1).

Wydzielony acetylen można również oznaczyć jako acetylenek metalu (Ag, Cu), używając metod

wagowych, miareczkowych lub spektrofotometrycznych.

Metoda z węglikiem wapnia nie nadaje się do analizy produktów o zawartości wody mniejszej niż 1%.

Metody termooanalityczne. Właściwie przeprowadzone pomiary termooanalityczne produktów żywnościowych dostarczają informacji nie tylko o zawartości wody i substancji lotnych czy o zmianach chemicznych zachodzących podczas ogrzewania produktu do określonej temperatury, ale także o tym, do jakiej temperatury można ogrzewać badany produkt bez szkody dla występujących w nim związków chemicznych. W metodach termooanalitycznych określoną właściwość układu mierzy się jako funkcję zmian temperatury. Obok metod termooanalitycznych opartych na zmianach temperatury istnieją metody związane ze zmianami masy lub entalpii.

Przykładem metody termooanalitycznej, za pomocą której można oznaczyć zawartość wody, jest analiza termograwimetryczna (TG), która polega na pomiarze za pomocą termowagi ubytku masy badan

Ćwiczenia

1. Oznaczanie zawartości wody w produktach płynnych z piaskiem, bez piasku, na zwiłkach bibuły

Sprzęt i aparatura

Naczyńko wagowe z pręcikiem, piasek, eksykator, suszarka

Wykonanie oznaczenia

Do naczynka wagowego wsypać ok. 20 g specjalnie przygotowanego piasku, włożyć pręcik szklany, lub włożyć zwiłki bibuły -wstawić do suszarki. Suszyć w temperaturze $102 \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez 1 godz., po czym naczynie z piaskiem ostudzić w eksykatorze i zważyć (razem z pręcikiem) z dokładnością do 0,0001 g. Do naczynka naważyć 4 g ciekłej próbki z dokładnością do 0,0001 g. Zawartość naczynka dokładnie wymieszać pręcikiem szklanym. Całość (wraz z pręcikiem) wstawić do suszarki i od czasu do czasu (3-4 razy) zawartość naczynka wymieszać, aby uniknąć zbrylenia suszonej masy. Gdy zawartość naczynka przyjmie wygląd suchego piasku, suszyć w suszarce przez 3 godz. Następnie ostudzić naczynie w eksykatorze i zważyć (razem z pręcikiem) z dokładnością do 0,0001 g. Zawartość ponownie suszyć przez 1 godz. i po ostudzeniu zważyć. Suszenie uważać za zakończone, jeżeli różnica między kolejnymi ważeniami nie będzie przekraczała 0,001 g.

Obliczenia

Zawartość wody w próbce (X), wyrażoną w procentach, obliczyć według wzoru:

$$X = \frac{(b - c) \cdot 100}{b - a}$$

gdzie:

a - masa naczynka z piaskiem i pręcikiem szklanym [g],

b - masa naczynka z piaskiem, pręcikiem szklanym i naważką próbki przed suszeniem [g],

c - masa naczynka z piaskiem, pręcikiem szklanym i naważką próbki po suszeniu [g].

2. Oznaczanie zawartości wody w miodzie metodą refraktometryczną (wg IHC 2002)

Sprzęt i aparatura

Łażnia wodna, kolba stożkowa, refraktometr Abbego

Wykonanie oznaczenia

Ze średniej próbki laboratoryjnej pobrać kilka gramów miodu do kolby stożkowej. Kolbę zamknąć korkiem i umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 50°C. Gdy obecne w miodzie kryształy całkowicie się rozpuszczą, kolbę wraz z próbką ochłodzić do temperatury 20°C. Zawartość kolby dobrze wymieszać. Tak przygotowaną próbkę miodu nanieść na pryzmat refraktometru. Docisnąć pryzmaty i odczekać 2 min, aby wyrównały się temperatury płynu i pryzmatów, po czym oświetlić pole widzenia. Naprowadzić linię rozgraniczającą jasną i ciemną powierzchnię pola widzenia w sposób odpowiedni dla danego typu refraktometru i odczytać wartość współczynnika załamania światła z dokładnością do 0,0001.

Tabela 5. Procentowa zawartość wody w miodzie w zależności od wartości współczynnika załamania światła (n_D^{20})

n_D^{20}	Zawartość wody [%]	n_D^{20}	Zawartość wody [%]	n_D^{20}	Zawartość wody [%]
1,5044	13,0	1,4940	17,0	1,4840	21,0
1,5038	13,2	1,4935	17,2	1,4835	21,2
1,5033	13,4	1,4930	17,4	1,4830	21,4
1,5028	13,6	1,4925	17,6	1,4825	21,6
1,5023	13,8	1,4920	17,8	1,4820	21,8
1,5018	14,0	1,4915	18,0	1,4815	22,0
1,5012	14,2	1,4910	18,2	1,4810	22,2
1,5007	14,4	1,4905	18,4	1,4805	22,4
1,5002	14,6	1,4900	18,6	1,4800	22,6
1,4997	14,8	1,4895	18,8	1,4795	22,8
1,4992	15,0	1,4890	19,0	1,4790	23,0
1,4987	15,2	1,4885	19,2	1,4785	23,2
1,4982	15,4	1,4880	19,4	1,4780	23,4
1,4976	15,6	1,4875	19,6	1,4775	23,6
1,4971	15,8	1,4870	19,8	1,4770	23,8
1,4966	16,0	1,4865	20,0	1,4765	24,0
1,4961	16,2	1,4860	20,2	1,4760	24,2
1,4956	16,4	1,4855	20,4	1,4755	24,4
1,4951	16,6	1,4850	20,6	1,4750	24,6
1,4946	16,8	1,4845	20,8	1,4745	24,8

Źródło: S. Bogdanov. *Harmonised methods of the International Honey Commission*. Bern 2002.

Wyniki

Zawartość wody w procentach odczytać z tabeli 5 na podstawie wyznaczonego współczynnika refrakcji

3. Oznaczanie wilgotności pieczywa za pomocą wagosuszarki

Aparatura

Wagosuszarka

Wykonanie oznaczenia

Włączyć zasilanie elektryczne wagosuszarki na czas przewidziany w instrukcji i sprawdzić wyświetlane sygnały kontrolne, świadczące o przygotowaniu aparatu do oznaczania. Zgodnie

z instrukcją ustawić odpowiednie parametry suszenia (temperaturę, czas suszenia lub czas próbkowania) oraz sposób wyrażania wyniku. Ze średniej próbki laboratoryjnej naważyć na szalce wagosuszarki ok. 2 g pieczywa. Pilnować, aby próbka była równomiernie rozłożona na szalce. Włączyć suszarkę. Po zakończeniu suszenia odczytać wyświetlony wynik.

Wynik

Wilgotność pieczywa odczytać na wyświetlaczu wagosuszarki. Zależnie od rodzaju aparatu, wynik może być wyrażony jako zawartość wody (%), zawartość suchej masy (%), zawartość wody w naważonej próbce (g) lub w inny sposób.

ej substancji jako funkcji zmian temperatury.

Aktywność wody

Do podstawowych wskaźników jakości mikrobiologicznej, a tym samym - bezpieczeństwa żywności, należy aktywność wody. Właściwość ta jest określana przez ilość zawartej w produkcie wody wolnej (czyli frakcji wody niezbędnej drobnoustrojom do ich aktywności metabolicznej), która zależy od rodzaju i ilości składników rozpuszczonych w fazie wodnej produktu. Ponieważ drobnoustroje tolerują jedynie określony poziom aktywności wody, może być ona podstawą prognozowania wzrostu drobnoustrojów i określania mikrobiologicznej stabilności żywności. W tabeli 4 przedstawiono zakresy aktywności wody tolerowane przez poszczególne rodzaje mikroorganizmów oraz wymieniono przykłady produktów żywnościowych o aktywności wody w podanym zakresie.

Ze względu na to, że woda wolna jest środowiskiem wielu reakcji chemicznych i biochemicznych, aktywność wody decyduje również o chemicznej stabilności żywności. Od aktywności wody silnie zależy przebieg takich procesów jak ciemnienie nieenzymatyczne lub samoutlenianie lipidów. Determinuje ona również właściwości fizyczne żywności, takie jak tekstura oraz stabilność podczas przechowywania.

Aktywność wody (a_w) definiuje się jako stosunek ciśnienia pary wodnej nad produktem żywnościowym do ciśnienia pary czystej wody w tej samej temperaturze:

$$a_w = \frac{c_{EM}}{100} = \frac{P_F(T)}{P_S(T)}$$

gdzie:

c_{EM} - względna równowaga wilgotności w atmosferze będącej w kontakcie z produktem żywnościowym,

$P_F(T)$ - ciśnienie cząstkowe lub prężność pary wodnej będącej w równowadze termodynamicznej w produkcie spożywczym w temperaturze T (utrzymywanej na stałym poziomie podczas pomiaru),

$P_S(T)$ - nasycone ciśnienie cząstkowe lub prężność pary nasyconej czystej wody w tej samej temperaturze T (wartość tę można odczytać z tablic referencyjnych dla ciśnienia pary wodnej).

Aktywność wody jest wielkością bezwymiarową (liczbą). Dla próbki nie zawierającej wody jej wartość wynosi 0,0, a dla czystej wody nie zawierającej soli jest równa 1,0.

Tabela 4. Rodzaje mikroorganizmów tolerujących określony poziom aktywności wody oraz przykłady produktów żywnościowych o aktywności wody w podanym zakresie

Aktywność	Rodzaje mikroorganizmów	Przykłady produktów
1,00-0,95	<i>Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Shigella, Bacillus, Clostridium</i>	żywność świeża, warzywa, owoce, mięso, mleko
0,95-0,91	<i>Salmonella, Vibrio parahaemolyticus, Clostridium botulinum, Lactobacillus,</i>	niektóre sery, wędliny, szynka
0,91-0,87	<i>Micrococcus</i> , niektóre drożdże (<i>Candida, Torulopsis, Hansenula</i>)	wędliny fermentowane, suszony ser, margaryna
0,87-0,80	większość pleśni (w tym toksynogenne <i>Penicillium</i>), <i>Staphylococcus ureus</i> ,	skoncentrowane soki owocowe, mleko
0,80-0,75	bakterie halofilne, pleśnie toksynogenne z rodzaju	dżemy, marmolady, marcepan
0,75-0,65	kseroofilne pleśnie (<i>Aspergillus chevalieri, Aspergillus candidus</i>).	orzechy, suszone owoce, cukier trzcinowy, żelki
0,65-0,60	osmofilne drożdże (<i>Saccharomyces rouxii</i>), niektóre pleśnie (<i>Aspergillus</i>	suszone owoce (do 20% wilgotności), miód
0,60-0,50	-*	przyprawy, suchy makaron
0,50-0,40	-	proszek jajeczny
0,40-0,30	-	ciastka i krakersy suche, chrupkie pieczywo
0,30-0,20	-	suszone warzywa, proszek mleczny

* brak wzrostu mikroorganizmów

Źródło: J.A. Fontana, C.S. Campbell. *Water activity*. [W:] M.L. Nolle (ed.). *Handbook of food analysis. Vol. 1. Physical characterization and nutrient analysis*. Marcel Dekker, New York - Basel 2004.

Do określania aktywności wody w produktach żywnościowych można stosować różnorodne metody pomiaru, w tym bezpośrednie i pośrednie określanie równowagi ciśnienia pary wodnej w systemach zamkniętych. Przykładami tych ostatnich metod są: bezpośredni manometryczny pomiar ciśnienia, pomiar punktu rosy, określanie zmian pojemności kondensatora lub pojemności elektrycznej elektrolitu, określanie wzrostu masy sorbentu, wyznaczanie punktu zamarzania w systemie otwartym bez ustalenia równowagi.

Podstawowe zasady i wymagania dotyczące fizycznych metod określania aktywności wody w produktach żywnościowych podano w normie PN-ISO 21807:2005

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI EKSTRAKTU

W analizie żywnościowej przez ekstrakt rozumie się sumę substancji rozpuszczonych w wodzie, nielotnych z parą wodną, lub suchą substancję rozpuszczalną w wodzie. Według Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 02.05.2005 r. (Dz.U. 2005, Nr 88, poz. 748), zawartość wszystkich substancji nielotnych to ekstrakt ogólny. W skład ekstraktu wchodzi cukry, barwniki, nielotne kwasy

organiczne, garbniki, substancje mineralne oraz rozpuszczalne substancje azotowe, nie wchodzi natomiast związki lotne, takie jak alkohol, substancje aromatyczne, ditlenek siarki i lotne kwasy. Pojęcie ekstraktu obejmuje ekstrakt rzeczywisty, bezcukrowy i pozorny.

Ekstrakt rzeczywisty to suma składników rozpuszczonych w wodzie, mierzona po oddestylowaniu związków lotnych i uzupełnieniu próbki wodą do pierwotnej objętości.

Ekstrakt bezcukrowy to różnica między zawartością ekstraktu rzeczywistego a sumą cukrów redukujących i sacharozy w próbce.

Ekstrakt pozorny (pozorna zawartość ekstraktu) to ekstrakt roztworu oznaczony bez usunięcia z próbki związków lotnych, głównie etanolu. Obecność w próbce alkoholu (i innych substancji lotnych) powoduje błąd wskutek rozrzedzenia środowiska i zmiany współczynnika refrakcji badanego roztworu.

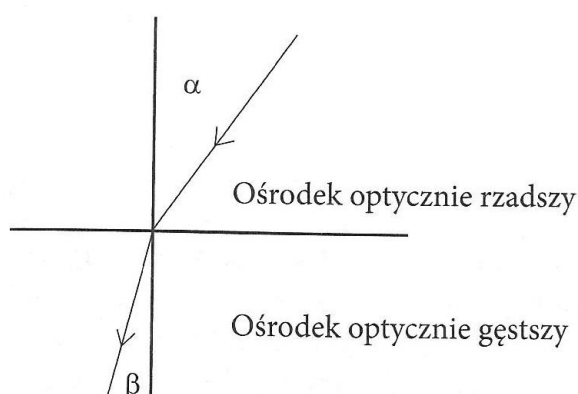
Zawartość ekstraktu w produktach spożywczych oznacza się densymetrycznie, refraktometrycznie lub wagowo.

Metody densymetryczne polegają na oznaczeniu gęstości badanego produktu i odczytaniu zawartości ekstraktu ze specjalnych tablic. Obecnie do oznaczania gęstości zaleca się również stosowanie gęstościomierzy oscylacyjnych.

Metoda refraktometryczna opiera się na pomiarze współczynnika załamania światła (refrakcji), będącego ilorazem prędkości światła w dwóch środowiskach różnych właściwościach optycznych. Współczynnik refrakcji jest liczbowo równy stosunkowi sinusów kątów, które tworzą promienie: padający i załamany z prostą prostopadłą do powierzchni granicznej tych środowisk.

Teoretyczną podstawę pomiarów refraktometrycznych stanowią prawa Snelliusa:

- I. Promień padający, odbity i załamany oraz prosta prostopadła do płaszczyzny rozgraniczającej dwa ośrodki w punkcie padania promienia leżą na jednej płaszczyźnie.
- II. Kąt odbicia jest równy kątowi padania.
- III. Stosunek sinusa kąta padania do sinusa kąta załamania jest dla danych dwóch ośrodków wielkością stałą, zwaną współczynnikiem załamania lub współczynnikiem refrakcji (ryc. 2).



$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$$

n – współczynnik załamania światła
 α – kąt padania
 β – kąt załamania

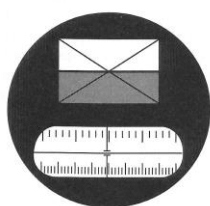
Rys. 2. Ilustracja prawa załamania światła

Współczynnik załamania światła zależy od długości fali padającego światła, rodzaju substancji i jej stężenia oraz od temperatury środowiska.

Do pomiarów zawartości ekstraktu stosuje się refraktometry. Odczytu dokonuje się na skali wartości współczynnika załamania światła lub na skali cukrowej aparatu. Najczęściej stosowane są refraktometry typu Abbego, refraktometry zanurzeniowe (immersyjne) oraz refraktometry ręczne.

Refraktometr Abbego

Podczas pomiaru wiązka promieni świetlnych zostaje skierowana do pryzmatu górnego (lub dolnego w przypadku cieczy o ciemnym zabarwieniu). Jeżeli między pryzmatami znajduje się badany roztwór, to promień świetlny, wpadając przez okienko, zostaje skierowany do pryzmatu górnego, mającego matową powierzchnię, która rozprasza światło. Rozproszone promienie przenikają przez warstewkę badanej cieczy i trafiają we wszystkie punkty gładkiej powierzchni dolnego pryzmatu. Ponieważ badany roztwór jest ośrodkiem optycznie rzadszym od materiału pryzmatu, promień padający pod kątem 90° załamuje się na granicy dwóch ośrodków pod kątem granicznym i rozdziela pole widzenia na część jasną i ciemną. Następnie, po przejściu przez pryzmat kierujący i zespół pryzmatów Amiciego, wiązka promieni pada na obiektyw i zostaje zogniskowana w górnym okienku pola widzenia okularu. Pole widzenia składa się z dwóch części: prostokątnego okienka z dwiema przekątnymi i skali z dwiema podziałkami (rys. 3). Na górnej skali odczytuje się wartości współczynnika refrakcji, a na dolnej - procentową zawartość cukru w roztworze.



Rys. 3. Pole widzenia w refraktometrze laboratoryjnym RL

Metoda refraktometryczna znajduje szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym przy oznaczaniu zawartości m.in. tłuszczów, cukru i alkoholu.

Metoda wagowa jest stosowana jako metoda referencyjna dla napojów spirytusowych o zawartości ekstraktu do 15 g/dm^3 . Polega na odparowywaniu próbki w łaźni wodnej aż do całkowitego usunięcia substancji lotnych, a następnie – wysuszeniu zważeniu pozostałości.

Ćwiczenia

1. Oznaczanie zawartości ekstraktu w przetworach owocowych i warzywnych metodą refraktometryczną

Sprzęt i aparatura

Refraktometr laboratoryjny z ultratermostatem

Wykonanie oznaczenia

W przypadku oznaczania zawartości ekstraktu w produktach płynnych przenieść 2-3 krople bezpośrednio ze średniej próbki laboratoryjnej na pryzmat refraktometru. Po dociśnięciu pryzmatów odczekać kilka minut do wyrównania się temperatur płynu i pryzmatów. Oświetlić pole widzenia, naprowadzić linię rozgraniczającą jasną i ciemną powierzchnię pola widzenia w sposób odpowiedni dla danego typu refraktometru i odczytać procentową zawartość cukru (z dokładnością co najmniej do 0,1) lub wartość współczynnika załamania światła (z dokładnością do 0,0001). Oznaczenie wykonać w temperaturze $20 \pm 5^\circ\text{C}^*$. Całość postępowania powtórzyć co najmniej raz, używając nowej próbki tego samego produktu (po poprzednim odczycie wyczyścić pryzmaty).

- * Gdy oznaczenie wykonuje się w temperaturze innej niż 20°C , wprowadzić poprawki:
 - dla skali cukrowej - według tabeli 6,
 - dla skali współczynników załamania światła - 0,00013 na każdy stopień.

Przy temperaturze wyższej od 20°C poprawkę należy dodać, a przy niższej – odjąć.

Tabela 6. Sprawdzanie wskazań refraktometru ze skalą cukrową do temperatury 20°C.

Temperatura [°C]	Zawartość ekstraktu [%]									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Po					prawki odejmować				
15	0,25	0,27	0,31	0,31	0,34	0,35	0,36	0,37	0,36	0,36
16	0,21	0,23	0,27	0,27	0,29	0,31	0,31	0,32	0,31	0,29
17	0,16	0,18	0,20	0,20	0,22	0,23	0,23	0,23	0,20	0,17
18	0,11	0,12	0,14	0,14	0,15	0,16	0,16	0,15	0,12	0,09
19	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,08	0,07	0,05
	Poprawki dodawać									
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
22	0,12	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,14	0,14	0,14
23	0,18	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22
24	0,24	0,26	0,26	0,27	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29	0,29
25	0,30	0,32	0,32	0,34	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37

Źródło: PN-A-75101-02:1990/AzI:2002 *Przetwory owocowe i warzywne.*

Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości ekstraktu ogólnego

Wynik

Zawartość ekstraktu ogólnego, wyrażoną w procentach wagowych, odczytać bezpośrednio na skali refraktometru ze skalą cukrową lub określić na podstawie wartości współczynnika załamania światła według tabeli 7.

Tabela 7. Procentowa zawartość ekstraktu (sacharozy) w zależności od wartości współczynnika załamania światła (n_D'')

n_D^{20}	Zawartość sacharozy [%]	n_D^{20}	Zawartość sacharozy [%]	n_D^{20}	Zawartość sacharozy [%]
1,33299	0	1,35408	14	1,3775	28
1,33443	1	1,35567	15	1,3793	29
1,33588	2	1,35728	16	1,3811	30
1,33733	3	1,35890	17	1,3829	31
1,33880	4	1,36053	18	1,3847	32
1,34027	5	1,36218	19	1,3865	33
1,34176	6	1,36384	20	1,3902	35
1,34326	7	1,36551	21	1,3939	37
1,34477	8	1,36719	22	1,3978	39
1,34629	9	1,36888	23	1,3997	40
1,34783	10	1,37059	24	1,4036	42
1,34957	11	1,3723	25	1,4076	44
1,35093	12	1,3740	26	1,4117	46
1,35250	13	1,3758	27	1,4158	48
1,4200	50	1,4603	68	1,4850	78
1,4243	52	1,4651	70	1,4876	79
1,4286	54	1,4676	71	1,4901	80
1,4329	56	1,4700	72	1,4927	81
1,4373	58	1,4735	73	1,4954	82

1,4418	60	1,4749	74	1,4980	83
1,4464	62	1,4774	75	1,5007	84
1,4509	64	1,4799	76	1,5033	85
1,4555	66	1,4825	77		

2. Oznaczanie zawartości ekstraktu w produktach płynnych na podstawie pomiaru gęstości

A. Metoda areometryczna Sprzęt i aparatura

Cylinder miarowy, zestaw areometrów o różnym zakresie pomiaru gęstości

Wykonanie oznaczenia

Badany produkt płynny* o temperaturze 20°C wlać do cylindra w ilości pozwalającej na swobodne zanurzenie areometru. Suchy, czysty areometr zanurzyć w próbce tak, aby nie dotykał ścianek cylindra i zachował pozycję pionową. Na skali areometru odczytać gęstość płynu.

* W przypadku produktów płynnych o zawartości ekstraktu powyżej 50% oznaczenie przeprowadzić w roztworze rozcieńczonym w stosunku wagowym 1:1.

Wynik

Zawartość ekstraktu ogólnego, wyrażoną w procentach wagowych, odczytać z tabeli 8 na podstawie oznaczonej gęstości d_4^{20}

Tabela 8. Zawartość ekstraktu w zależności od gęstości d_{20}^{20} oraz d_4^{20} .

Zawartość ekstraktu [% wag.]	d_{20}^{20}	d_4^{20}	Zawartość ekstrakt	d_{20}^{20}	d_4^{20}	Zawartość ekstraktu [% wag.]	d_{20}^{20}	d_4^{20}
4,4	1,0172	1,015	12,8	1,05168	1,049	21,2	1,08823	1,08631
4,6	1,0180	1,016	13,0	1,05252	1,050	21,4	1,08913	1,08721
4,8	1,0188	1,017	13,2	1,05337	1,051	21,6	1,09003	1,08810
5,0	1,0196	1,017	13,4	1,05422	1,052	21,8	1,09093	1,08900
5,2	1,0204	1,018	13,6	1,05506	1,053	22,0	1,09183	1,08990
5,4	1,0212	1,019	13,8	1,05591	1,054	22,2	1,09273	1,09080
5,6	1,0220	1,020	14,0	1,05677	1,054	22,4	1,09364	1,09170
5,8	1,0228	1,021	14,2	1,05762	1,055	22,6	1,09454	1,09261
6,0	1,0236	1,021	14,4	1,05847	1,056	22,8	1,09545	1,09351
6,2	1,0244	1,022	14,6	1,05933	1,057	23,0	1,09636	1,09442
6,4	1,0252	1,023	14,8	1,06018	1,058	23,2	1,09727	1,09533
6,6	1,0260	1,024	15,0	1,06404	1,059	23,4	1,09818	1,09624
6,8	1,0268	1,025	15,2	1,06190	1,060	23,6	1,09909	1,09715
7,0	1,0277	1,025	15,4	1,06276	1,060	23,8	1,10000	1,09806
7,2	1,0285	1,026	15,6	1,06362	1,061	24,0	1,10092	1,09897
7,4	1,0293	1,027	15,8	1,06448	1,062	24,2	1,10183	1,09989
7,6	1,0301	1,028	16,0	1,06534	1,063	24,4	1,10275	1,10080
7,8	1,0309	1,029	16,2	1,06621	1,064	24,6	1,10367	1,10172
8,0	1,0317	1,029	16,4	1,06707	1,065	24,8	1,10459	1,10264
8,2	1,0325	1,030	16,6	1,06794	1,066	25,0	1,10551	1,10356
8,4	1,0334	1,031	16,8	1,06881	1,066	25,2	1,10643	1,10448
8,6	1,0342	1,032	17,0	1,06968	1,067	25,4	1,10736	1,10540
8,8	1,0350	1,033	17,2	1,07055	1,068	25,6	1,10828	1,10632
9,0	1,0358	1,034	17,4	1,07142	1,069	25,8	1,10921	1,10725
9,2	1,0366	1,034	17,6	1,07229	1,070	26,0	1,11014	1,10818
9,4	1,0375	1,035	17,8	1,07317	1,071	26,2	1,11106	1,10910

9,6	1,0383	1,036	18,0	1,07404	1,072	26,4	1,11200	1,11003
9,8	1,0391	1,037	18,2	1,07492	1,073	26,6	1,11293	1,11096
10,0	1,0399	1,038	18,4	1,07580	1,073	26,8	1,11386	1,11190
10,2	1,0408	1,038	18,6	1,07668	1,074	27,0	1,11480	1,11283
10,4	1,0416	1,039	18,8	1,07756	1,075	27,2	1,11573	1,11376
10,6	1,0424	1,040	19,0	1,07844	1,076	27,4	1,11667	1,11470
10,8	1,0433	1,041	19,2	1,07932	1,077	27,6	1,11761	1,11564
11,0	1,0441	1,042	19,4	1,08021	1,078	27,8	1,11855	1,11657
11,2	1,0449	1,043	19,6	1,08110	1,079	28,0	1,11949	1,11751
11,4	1,0458	1,043	19,8	1,08198	1,080	28,2	1,12043	1,11845
11,6	1,0466	1,044	20,0	1,08287	1,080	28,4	1,12138	1,11940
11,8	1,0474	1,045	20,2	1,08376	1,081	28,6	1,12232	1,12034
12,0	1,0483	1,046	20,4	1,08465	1,082	28,8	1,12327	1,12128
12,2	1,0491	1,047	20,6	1,08554	1,083	29,0	1,12422	1,12223
12,4	1,0499	1,048	20,8	1,08644	1,084	29,2	1,12517	1,12318
12,6	1,0508	1,048	21,0	1,08733	1,085	29,4	1,12612	1,12413
29,6	1,1270	1,1250	33,8	1,14739	1,1453	38,0	1,16833	1,16627
29,8	1,1280	1,1260	34,0	1,14837	1,1463	38,2	1,16934	1,16728
30,0	1,1289	1,1269	34,2	1,14936	1,1473	38,4	1,17036	1,16829
30,2	1,1299	1,1279	34,4	1,15034	1,1483	38,6	1,17138	1,16931
30,4	1,1308	1,1289	34,6	1,15133	1,1493	38,8	1,17239	1,17032
30,6	1,1318	1,1298	34,8	1,15232	1,1502	39,0	1,17341	1,17134
30,8	1,1328	1,1308	35,0	1,15331	1,1512	39,2	1,17443	1,17236
31,0	1,1337	1,1317	35,2	1,15430	1,1522	39,4	1,17545	1,17338
31,2	1,1347	1,1327	35,4	1,15530	1,1532	39,6	1,17648	1,17440
31,4	1,1357	1,1337	35,6	1,15629	1,1542	39,8	1,17750	1,17542
31,6	1,1366	1,1346	35,8	1,15729	1,1552	40,0	1,17853	1,17645
31,8	1,1376	1,1356	36,0	1,15828	1,1562	40,2	1,17956	1,17747
32,0	1,1386	1,1366	36,2	1,15928	1,1572	40,4	1,18058	1,17850
32,2	1,1395	1,1375	36,4	1,16028	1,1582	40,6	1,18162	1,17953
32,4	1,1405	1,1385	36,6	1,16128	1,1592	40,8	1,18265	1,18056
32,6	1,1415	1,1395	36,8	1,16228	1,1602	41,0	1,18368	1,18159
32,8	1,1425	1,1404	37,0	1,16329	1,1612	41,2	1,18472	1,18263
33,0	1,1434	1,1414	37,2	1,16430	1,1622	41,4	1,18575	1,18366
33,2	1,1444	1,1424	37,4	1,16530	1,1632	41,6	1,18679	1,18470
33,4	1,1454	1,1434	37,6	1,16631	1,1642	41,8	1,18783	1,18573
33,6	1,1464	1,1443	37,8	1,16732	1,1652	42,0	1,18887	1,18677

- d_{20}^{20} gęstość względna w temperaturze 20°C dla wzorca o temperaturze 20°C

- d_4^{20} gęstość względna w temperaturze 20°C dla wzorca o temperaturze 4°C

Źródło: PN-A-75101-02:1990/AzI:2002 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości ekstraktu ogólnego

B. Metoda piknometryczna

Sprzęt i aparatura

Piknometr, łaźnia wodna

Wykonanie oznaczenia

Zgodnie z zasadami pomiarów piknometrycznych ustalić masę piknometru pustego i z wodą destylowaną, następnie piknometr kilkakrotnie popłukać badaną próbką. Napęlić piknometr badaną próbką w sposób właściwy dla danego typu, przestrzegając ściśle temperatury 20°C. Jeżeli próbka nie jest całkowicie klarowna, przesączyć ją lub odwirować. Napęlniony piknometr zważyć na wadze

analitycznej.

Obliczenia

Gęstość badanej próbki (d_{20}^{20}) obliczyć według wzoru:

$$d_{20}^{20} = \frac{m_1 - m}{m_0 - m}$$

gdzie:

m - masa pustego piknomietru [g],

m_1 - masa piknomietru z badaną próbką w temperaturze 20°C [g],

m_0 - masa piknomietru z wodą destylowaną w temperaturze 20°C [g].

Wynik

Zawartość ekstraktu ogólnego, wyrażoną w procentach wagowych, odczytać z tabeli na podstawie oznaczonej gęstości d_{20}^{20}

3. Obliczanie zawartości suchej masy w produktach z pomidorów na podstawie oznaczonego współczynnika refrakcji

(wg Krełowskiej-Kułas 1993)

Sprzęt i aparatura

Refraktometr laboratoryjny, ultratermostat, tkanina stylonowa

Wykonanie oznaczenia

Ze średniej próbki laboratoryjnej przenieść na suchą tkaninę stylonową niewielką ilość produktu, wycisnąć sok. Po odrzuceniu kilku pierwszych kropli umieścić 2-3 krople płynu na dolnym przyzmacie refraktometru i docisnąć przyzmaty. Oświetlić pole widzenia. Na skali współczynnika refrakcji odczytać jego wartość z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku. Wynik sprowadzić do temperatury 20°C, wprowadzając poprawkę 0,00013 na każdy stopień*.

* Gdy oznaczanie wykonuje się w temperaturze wyższej od 20°C, poprawkę należy dodać, a przy niższej - odjąć.

Obliczenia

Zależnie od przewidywanej zawartości suchej masy w produkcie zastosować odpowiedni wzór Bigelowa:

- dla produktów o przewidywanej zawartości suchej masy poniżej 12%:

$$\text{s.m.} = 4,00 + 691 \cdot (n_D - 1,3382) + 1029 \cdot (n_D - 1,3382)^2$$

- dla produktów o przewidywanej zawartości suchej masy powyżej 12%:

$$\text{s.m.} = 4,54 + 644 \cdot (n_D - 1,3382) + 959 \cdot (n_D - 1,3382)^2$$

gdzie:

s.m. - zawartość suchej masy [%],

n_D - odczytana wartość współczynnika refrakcji.

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI BIAŁKA

Białka są wielkocząsteczkowymi polimerami kwasów α -aminokarboksyłowych (aminokwasów) połączonych wiązaniami peptydowymi. W skład białek wchodzi ok. 20 aminokwasów oraz dwa amidy. Występujące w białkach aminokwasy dzieli się na: egzogenne (izoleucyna, leucyna, lizyna, metionina, fenyloalanina, treonina, tryptofan, walina i histydyna), które muszą być dostarczane do organizmu człowieka, oraz endogenne, które organizm może syntetyzować. Sekwencja aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym decyduje o pierwszorzędowej strukturze białek, a przestrzenne ukształtowanie łańcuchów polipeptydowych - o strukturze drugorzędowej. Ze względu na budowę wyróżnia się białka proste, zbudowane jedynie z aminokwasów, oraz białka złożone, w skład których mogą także wchodzić kwasy nukleinowe, barwniki, atomy metali, lipidy lub węglowodany.

Białka, jeden z podstawowych składników odżywczych, stanowią główne źródło związków azotowych w artykułach żywnościowych. Są zasadniczym elementem budowy wszystkich tkanek oraz wielu czynnych biologicznie związków (np. hormonów, enzymów i przeciwciał). Zawartość białka w produktach spożywczych (tab. 9) jest jednym z czynników określających ich wartość odżywczą. Obok białek w żywności występują polipeptydy, peptydy oraz wolne aminokwasy, a także niebiałkowe substancje azotowe.

Ważną wielkością oznaczaną w analizie żywności jest zawartość azotu ogółem, czyli ilość azotu zawartego we wszystkich substancjach azotowych. Mnożąc tę wartość przez odpowiedni mnożnik białkowy, oblicza się zawartość białka surowego (białka ogółem) w produkcie. Aby oznaczyć ilość białka strawnego, koryguje się zawartość azotu ogółem o zawartość azotu nierozpuszczalnego po trawieniu z pepsyną. Zawartość białka czystego oznacza się np. metodą Kjeldahla po wytrąceniu białek z roztworu i dokładnym przemyciu osadu.

Oprócz zawartości azotu ogółem oznacza się również zawartość azotu występującego w różnych formach, a mianowicie: azotu białkowego i niebiałkowego, azotu aminowego oraz azotu formylowego.

Tabela 9. Średnia zawartość białka wybranych produktach spożywczych

Produkt spożywczy	Zawartość białka [%]
Owoce	0,4-1,7
Mleko	3,0
Warzywa	0,7-4,7
Przetwory zbożowe	3,2-12,6
Przetwory mięsne	10,1-25,0
Jaja	12,5
Orzechy	14,4-16,0
Mięso	15,6-21,5
Warzywa strączkowe	21,0-24,0
Sery podpuszczkowe	22,0-29,5
Mleko w proszku	27,0
Soja	34,9

Azot białkowy i niebiałkowy są frakcjami azotu ogółem w produkcie. Metody stosowane do oznaczania tych dwóch frakcji polegają na wytrąceniu białek z badanego roztworu, oddzieleniu osadu i oznaczeniu ilości azotu w osadzie i przesączu. Do wytrącania białek stosuje się jony metali ciężkich

(Cu(II), Fe(III), Pb(II), Cd(II)), kwasy (fosforo(V)-wolframowy, metafosforowy(V), trichlorooctowy), taninę, 70-procentowy roztwór alkoholu, podwyższoną temperaturę. Azot oznaczony w osadzie to azot białkowy, a oznaczony w przesączu to azot niebiałkowy. Oznaczanie zawartości azotu białkowego i niebiałkowego w mleku opisują normy PN-EN ISO 8968-4:2004 oraz PN-EN ISO 8968-5:2004. Zgodnie z tymi normami, białka są wytrącane z roztworu kwasem trichlorooctowym, a zawartość azotu w osadzie lub przesączu jest oznaczana metodą Kjeldahla.

Azot aminowy występujący w grupie funkcyjnej $-NH_2$ oznacza się metodą Van Slykea, która polega na reakcji kwasu azotowego(III) z I-rzędowymi alifatycznymi grupami aminowymi. Wydzielający się azot jest oznaczany manometrycznie w specjalnym aparacie.

Azot aminokwasowy oznacza się metodą formolową Sørensen, polegającą na zablokowaniu aldehydem mrówkowym grup aminowych aminokwasów i miareczkowym oznaczeniu grup karboksylowych. W celu stężenia białek do próbki dodaje się roztwór $BaCl_2$. Następnie przeprowadza się dwuetapowe miareczkowanie próbki roztworem wodorotlenku sodu wobec fenoloftaleiny. W pierwszym etapie następuje zubożenie próbki, a w drugim - oznaczenie grup karboksylowych. Mnożąc liczbę formolową (tj. liczbę centymetrów sześciennych 0,1 M NaOH zużytego w drugim etapie do zmiareczkowania 100 cm^3 próbki) przez współczynnik 1,4, otrzymuje się zawartość azotu aminokwasowego w badanej próbce.

Zawartość białka w produkcie można oznaczać metodami bezpośrednimi lub pośrednimi.

Bezpośrednie metody oznaczania zawartości białka

Metody bezpośrednie obejmują refraktometryczne, nefelometryczne lub spektrofotometryczne oznaczenie zawartości białek znajdujących się w roztworze albo wagowe oznaczenie wytrąconego osadu (białka) z roztworu.

Do najczęściej stosowanych bezpośrednich metod oznaczania zawartości białka należą:

- metoda biuretowa,
- metoda Lowryego,
- metody oparte na wbudowaniu barwników,
- metoda immunoenzymatyczna,
- metody spektrofotometrii w zakresie nadfioletu,
- metoda formolowa,
- metody oparte na zjawisku selektywnego pochłaniania promieniowania w zakresie podczerwieni.

Metoda biuretowa opiera się na zjawisku tworzenia przez białka i peptydy barwnego kompleksu z jonami miedzi (Cu^{2+}). Reakcja zachodzi w środowisku alkalicznym, a intensywność fioletowego zabarwienia powstałego kompleksu jest proporcjonalna do stężenia białka. Pomiar absorbancji kompleksu wykonuje się przy długości fali 540 nm. Metoda pozwala na analizę próbek o zawartości białka do 4%.

Metoda Lowry'ego obejmuje pomiar absorbancji (przy długości fali 750 nm) barwnego kompleksu powstałego w wyniku dwóch reakcji: przyłączania jonów miedzi (Cu^{2+}) do wiązań peptydowych (reakcji biuretowej) i redukcji odczynnika fosfo-romolibdeno-fosforowolframowego (Folina-Ciocalteu) przez tyrozynę i tryptofan obecne w białku. Metodę można stosować w przypadku roztworów nie zawierających fenoli. Ze względu na dużą czułość stosuje się ją do próbek o małej zawartości białka.

Metody oparte na wbudowaniu barwników polegają na ilościowym wbudowaniu w białka niektórych

barwników, takich jak oranż G, czerń amidowa 10B lub Coomas-sie Blue G-250, dodanych w nadmiarze. Białko i barwnik w określonych warunkach, poniżej punktu izoelektrycznego białka, reagują ilościowo, tworząc nierozpuszczalne kompleksy, które można rozdzielić przez sączenie lub wirowanie. Natężenie barwy supernatantu zależy od ilości barwnika nie związanego z białkiem.

Metoda immunoenzymatyczna polega na tworzeniu połączeń specyficznych przeciwciał z analizowanym białkiem oraz odpowiednim enzymem. Natężenie barwy kompleksu powstałego wskutek reakcji enzymu z bezbarwnym substratem poddaje się analizie spektrofotometrycznej. Metoda ta pozwala również określić stopień denaturacji białek.

Metody spektrofotometrii w zakresie nadfioletu polegają na pomiarze absorbancji aminokwasów aromatycznych: fenyloalaniny, tryptofanu i tyrozyny.

Metoda formolowa, stosowana do oznaczania zawartości białka w mleku, polega na miareczkowym oznaczeniu ilości jonów wodorowych uwolnionych podczas reakcji formaldehydu z resztami zasadowymi aminokwasów. Oznaczenie prowadzi się dwuetapowo. Na pierwszym etapie miareczkuje się próbkę wodorotlenkiem sodu wobec fenoloftaleiny do pH > 8,3 – zostają wtedy zobojętnione wszystkie składniki o charakterze kwasowym, w tym wolne grupy α-aminowe aminokwasów. Nie ulegają zobojętnieniu grupy ε-aminowe lizyny, gdyż zachowują one formę zjonizowaną aż do pH = 9,8. Na drugim etapie dodaje się roztwór formaldehydu, wskutek czego następuje przemiana grup ε-aminowych lizyny –NH₂ w grupy -N=CH₂ i uwolnienie jonów wodorowych. Uwolnione jony wodorowe miareczkuje się mianowanym roztworem wodorotlenku sodu wobec fenoloftaleiny. Ponieważ udział aminokwasów, w tym lizyny, w białku mleka jest stały, dlatego ilość jonów wodorowych uwolnionych po dodaniu formaldehydu jest proporcjonalna do ilości białka w próbce.

Pośrednie metody oznaczania zawartości białka

Metody pośrednie obejmują oznaczenie zawartości azotu, a następnie obliczenie zawartości białka za pomocą odpowiednich mnożników białkowych. Powszechnie stosowany mnożnik białkowy wynosi 6,25, a został wyznaczony na podstawie przeciętnej zawartości azotu w białkach, która wynosi 16% (100:16 = 6,25). Ponieważ białka występujące w żywności zawierają różne ilości azotu, stąd w niektórych przypadkach stosuje się inne mnożniki. W tabeli 10 podano średnią zawartość azotu i odpowiadające jej mnożniki białkowe dla wybranych produktów spożywczych.

Tabela 10. Średnia zawartość azotu w białkach oraz mnożniki białkowe dla wybranych produktów spożywczych

Produkt spożywczy	Średnia zawartość azotu	Mnożnik białkowy
Żółtko jaja	14,97	6,68
Mleko i jego przetwory	15,66	6,38
Mięso	16,00	6,25
Jęczmień, kukurydza,	16,67	6,00
Żyto, pszenica, owies,	17,54	5,70
Orzeszki ziemne	18,18	5,50

Do pośredniej metody oznaczania zawartości białka należy:

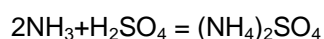
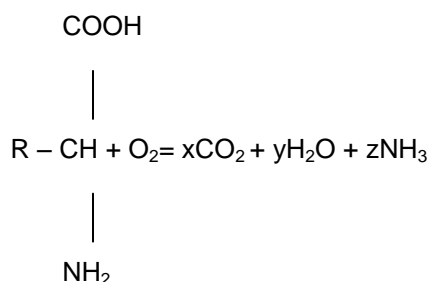
- metoda Kjeldahla.

Metoda Kjeldahla (1883 r.) jest metodą klasyczną, najczęściej stosowaną do oznaczania zawartości azotu ogółem. Oprócz azotu zawartego w białkach można nią również oznaczać jony amonowe oraz inne związki zawierające grupy amidowe, aminowe i imidowe. Metodą tą nie oznacza się natomiast azotanów(III) i (V) ani azotu zawartego w pierścieniach heterocyklicznych. Ogólne wytyczne dotyczące oznaczania zawartości azotu w żywności podaje norma PN-A-04018:1975/ /Az3:2002. W szczególności, metoda Kjeldahla jest zalecana do oznaczania zawartości azotu w mleku (PN-EN ISO 8968-1:2004 i PN-EN ISO 8968-2:2004), sokach owocowych i warzywnych (PN-EN 12135:2001), skrobi i produktach pochodnych (PN-EN ISO 3188:2000) oraz w zbożach i nasionach roślin strączkowych (PN-EN ISO 20483:2007).

Oznaczanie zawartości białka metodą Kjeldahla składa się z trzech etapów:

- 1) mineralizacja próbki,
- 2) oddestylowanie amoniaku,
- 3) miareczkowanie.

Mineralizacja próbki odbywa się w stężonym kwasie siarkowym(VI) (wolnym od azotu) w temperaturze wrzenia tego kwasu. Podczas mineralizacji związki organiczne utleniają się do ditlenku węgla i wody, a zawarty w nich azot wydziela się w postaci amoniaku, tworząc w środowisku kwasu siarczan(VI) amonu:



Mineralizację przeprowadza się w obecności katalizatorów, które przyspieszają utlenianie, przenosząc tlen z kwasu siarkowego(VI) do związku organicznego (katalizatory Hg, Cu, Se, CuO, HgO, CuSO₄, Hg₂SO₄, P₂O₅) lub podnosząc temperaturę spalania (K₂SO₄, Na₂SO₄). Bardzo dobre efekty daje tzw. mieszanina selenowa (Na₂SO₄, Hg₂SO₄, CuSO₄, Se). Aby uniknąć strat azotu, trzeba kontrolować ilość dodawanego katalizatora. Spalanie przeprowadza się w kolbach Kjeldahla nad palnikiem gazowym lub w piecu elektrycznym. Mineralizację uważa się za zakończoną, gdy ciecz w kolbie stanie się bezbarwna lub - w przypadku użycia mieszaniny selenowej - zielonkawa. Następnie do każdej z prób dodaje się 75cm³ wody destylowanej i pozostawia się je do wystygnięcia.

Oddestylowanie amoniaku

Po zmineralizowaniu prób poddawano je destylacji z parą wodną. W obecności 40% NaOH prowadzono destylację amoniaku powstałego z połączeń azotowych zawartych w białku do odbieralnika zawierającego 25 cm³ 4% kwasu borowego i 4-5 kropli wskaźnika Tashiro. Następnie odmiareczkowały uwalniony amoniak za pomocą mianowanego 0,1N roztworu HCl. Równocześnie wykonywano próbę ślepą, tj. mineralizowano (15 cm³ stężonego kwasu siarkowego w obecności katalizatora,

następnie oddestylowywano i miareczkowano w takich samych warunkach jak dla próby badanej). Oznaczenie wykonywano w co najmniej dwóch powtórzeniach. Miareczkowanie odbywa się w obecności wskaźnika Tashiro, który w środowisku kwaśnym jest amarantowofioletowy, a w zasadowym - zielony.

Zawartość białka w przeliczeniu na suchą masę obliczano zgodnie ze wzorem:

$$A = \frac{(T - B) \cdot 14,007 \cdot 100 \cdot 100 \cdot N \cdot 5,7}{m \cdot S.S.}$$

gdzie:

A – zawartość białka [% s.s.],

T – objętość 0,1N mianowanego roztworu HCl zużyta do miareczkowania badanej próby [cm³],

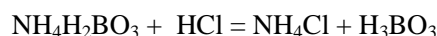
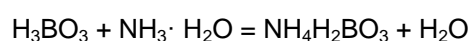
B - objętość 0,1N mianowanego roztworu HCl zużyta do miareczkowania próby ślepej [cm³],

s.s. – zawartość suchej substancji w badanej skrobi pszennej [%],

m – masa badanej próby [mg],

5,7 – współczynnik przeliczeniowy ilości azotu w skrobi pszennej na ilość substancji białkowych,

N – miano roztworu kwasu solnego użytego do miareczkowania (dokładnie 0,1N).



Inne metody badania białek

Oprócz bezpośrednich i pośrednich metod oznaczania zawartości białka, w analizie żywności wykorzystuje się też inne metody badania białek, takie jak:

- spektrometria w zakresie średniej podczerwieni,
- oznaczanie składu aminokwasowego,
- elektroforeza.

Spektrometria w zakresie średniej podczerwieni. Analizatory pracujące w zakresie średniej podczerwieni są urządzeniami do szybkich, rutynowych analiz mleka. Pozwalają na jednoczesne oznaczenie zawartości białka, tłuszczu i laktozy w mleku. Po homogenizacji próbki mleka mierzy się, za pomocą spektrometru w podczerwieni, ilość promieniowania zaabsorbowanego przez:

- drugorzędowe grupy amidowe wiązań peptydowych przy długości fali ok. 6,5 μm (oznaczanie zawartości białka),
- grupy karbonylowe wiązań estrowych glicerydów przy długości fali ok. 5,7 μm lub przez grupy -CH przy długości fali 3,5 μm (oznaczanie zawartości tłuszczu),
- grupy hydroksylowe laktozy przy długości fali ok. 9,6 μm.

Ogólne wytyczne oraz wymagania dotyczące analizatorów w zakresie średniej podczerwieni opisano w normie PN-ISO 9622:2006.

Oznaczanie składu aminokwasowego białek. Najważniejszym czynnikiem determinującym wartość odżywczą białka jest jego skład aminokwasowy, a w szczególności zawartość aminokwasów egzogennych. Oznaczanie składu aminokwasowego białek polega na przeprowadzeniu hydrolizy (kwasowej, zasadowej lub enzymatycznej) białek zawartych w produkcie, a następnie rozdzieleniu

aminokwasów w hydrolizacie. Do identyfikacji i ilościowych oznaczeń stosuje się metody chromatograficzne: chromatografię cienkowarstwową, jonowymienną, gazową (po przeprowadzeniu aminokwasów w ich lotne pochodne) oraz wysokosprawną cieczeniową (HPLC).

Elektroforeza jest zjawiskiem ruchu cząsteczek obdarzonych ładunkiem elektrycznym (jonów) w polu elektrycznym o określonym gradiencie potencjału względem nieruchomego ośrodka dyspersyjnego. Podstawę metod elektroforetycznych stanowią różnice szybkości i kierunku migracji cząstek koloidalnych w polu elektrycznym. W wyniku działania pola elektrycznego jony lub cząstki o wzbudzonej ładunku wędrują do odpowiedniego bieguna. Szybkość wędrowania jonów jest funkcją wielkości i znaku ładunku elektrycznego tych cząsteczek, czyli ruchliwości elektroforetycznej. Na układ elektroforetyczny składają się: substancja rozdzielana, nośnik, roztwór przewodzący i elektrody podłączone do źródła prądu. Nośnik (np. bibuła, żel krzemionkowy, skrobia) bierze udział w procesie dzięki swym własnościom adsorpcyjnym. Elektroforeza znajduje szerokie zastosowanie praktyczne nie tylko do wykrywania i identyfikacji białek oraz aminokwasów, ale także enzymów, tłuszczów, kwasów nukleinowych, witamin i hormonów.

Ćwiczenia

1. Oznaczanie zawartości białka w mleku metodą formolową

(wg Klepackiej 1997)

Odczynniki

0,1 M roztwór wodorotlenku sodu, 40% roztwór formaldehydu rozcieńczony wodą w stosunku 1:1 i zobojętniony, 2% alkoholowy roztwór fenoloftaleiny

Wykonanie oznaczenia

Do kolby stożkowej o pojemności 50 cm³ odmierzyć 10 cm³ mleka. Miareczkując, zobojętnić mleko 0,1 M roztworem NaOH wobec kilku kropli fenoloftaleiny. Następnie dodać 4 cm³ zobojętnionego 40-procentowego roztworu formaldehydu i dalej miareczkować roztworem wodorotlenku sodu do ponownego wystąpienia różowego zabarwienia.

Obliczenia

Zawartość białka ogółem (X), wyrażoną w procentach, obliczyć według wzoru:

$$X = a \cdot 1,92$$

gdzie:

a - liczba cm³ 0,1 M NaOH zużytego do drugiego miareczkowania,

1,92 - współczynnik przeliczeniowy (1 cm³ 0,1 M NaOH odpowiada 1,92 g białka w 100g próbki).

W celu oznaczenia zawartości kazeiny zastosować współczynnik przeliczeniowy równy 1,47.

2. Oznaczanie zawartości białka w produktach spożywczych metodą Kjeldahla

Odczynniki i aparatura

Mieszanina selenowa (siarczan(VI) sodu - 90%, siarczan(VI) rtęci(I) - 7%, siarczan(VI) miedzi(II) - 1,5%, selen - 1,5%), stężony kwas siarkowy(VI) (d = 1,84 g/cm³), mianowany 0,05 M roztwór kwasu siarkowego(VI), wskaźnik Tashiro (alkoholowy roztwór 0,026% czerwieni metylowej i 0,013% błękitu metylenowego), 40% roztwór wodorotlenku sodu, mianowany 0,1 M roztwór HCl.

Aparat firmy TECATOR

Wykonanie oznaczenia

Zasada oznaczenia polega na mineralizacji substancji białkowych obecnych w badanych skrobiach za pomocą stężonego kwasu siarkowego 95% ($\rho = 1,84 \text{ g/cm}^3$) w aparaturze do mineralizacji firmy TECATOR (Szwecja), a następnie oddestylowaniu i miareczkowaniu amoniaku wydzielonego ze związków białkowych.

Próbkę o masie około 1,5-2,0 g z dokładnością do 0,0001 g przenoszono ilościowo do kolby mineralizacyjnej i dodawano 20 cm³ stężonego kwasu siarkowego. Mineralizację próbek prowadzono w obecności katalizatora (mieszanina selenowa) w temperaturze 400°C. Następnie do każdej z prób dodaje się 75cm³ wody destylowanej i pozostawia się je do wystygnięcia. Po zmineralizowaniu prób poddawano je destylacji z parą wodną. W obecności 40% NaOH prowadzono destylację amoniaku powstałego z połączeń azotowych zawartych w białku do odbieralnika zawierającego 25 cm³ 4% kwasu borowego i 4-5 kropli wskaźnika Tashiro. Następnie odmiareczkowano uwolniony amoniak za pomocą mianowanego 0,1N roztworu HCl. Równocześnie wykonywano próbę ślepa, tj. mineralizowano (15 cm³ stężonego kwasu siarkowego w obecności katalizatora, następnie oddestylowywano i miareczkowano w takich samych warunkach jak dla próby badanej). Oznaczenie wykonywano w co najmniej dwóch powtórzeniach.

Zawartość białka w przeliczeniu na suchą masę obliczano zgodnie ze wzorem:

$$A = \frac{(T - B) \cdot 14,007 \cdot 100 \cdot 100 \cdot N \cdot 5,7}{m \cdot s.s.}$$

gdzie:

A – zawartość białka [% s.s.],

T – objętość 0,1N mianowanego roztworu HCl zużyta do miareczkowania badanej próby [cm³],

B - objętość 0,1N mianowanego roztworu HCl zużyta do miareczkowania próby ślepej [cm³],

s.s. – zawartość suchej substancji w badanej skrobi pszennej [%],

m – masa badanej próby [mg],

5,7 – współczynnik przeliczeniowy ilości azotu w skrobi pszennej na ilość substancji białkowych,

N – miano roztworu kwasu solnego użytego do miareczkowania (dokładnie 0,1N).

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI SACHARYDÓW

Węglowodany (sacharydy, cukrowce) są związkami organicznymi zbudowanymi z węgla, wodoru i tlenu. Skład chemiczny większości tych związków można wyrazić ogólnym wzorem C_n(H₂O)_m, w którym stosunek liczby atomów wodoru do tlenu jest taki sam jak w wodzie. Biorąc pod uwagę budowę chemiczną, wyróżnia się cukry proste (monosacharydy) oraz cukry złożone, które w zależności od wielkości cząsteczki dzieli się na kilkocukrowce (oligosacharydy, w tym disacharydy) i wielocukrowce (polisacharydy).

Węglowodany występują głównie w organizmach roślinnych. Są podstawowym składnikiem

odżywczym i głównym materiałem zapasowym oraz wzmacniającym komórki i tkanki roślinne.

Węglowodany rozpuszczalne stanowią przeważającą część substancji wchodzących w skład ekstraktu bezazotowego.

Cukry proste

Pod względem chemicznym cukry proste są wieloalkoholami z grupą aldehydową (aldozy) lub ketonową (ketozy). Związki te zawierają co najmniej jeden asymetryczny atom węgla i dlatego są optycznie czynne, tzn. mają zdolność skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego. Zależnie od liczby atomów węgla w cząsteczce monosacharydy dzieli się na triozy, tetrazy, pentozy, heksozy, heptozy itd. Najbardziej rozpowszechnione wśród nich są heksozy (glukoza, fruktoza, galaktoza, mannoza).

Do najważniejszych heksoz w produktach spożywczych należy **glukoza**, znana również jako cukier gronowy. Występuje ona w stanie wolnym i związanym. W stanie wolnym glukoza występuje w owocach i miodzie, a w formie związanej - jako komponent oligo- lub polisacharydów. W żywych organizmach glukoza odgrywa ważną rolę jako materiał energetyczny. Szczególną rolę pełni w procesach oddychania i w procesach fermentacyjnych.

Innym cukrem prostym należącym do ketoheksoz jest **fruktoza**, znana również jako cukier owocowy. W stanie wolnym występuje w owocach, miodzie i nektarze kwiatów, a w postaci związanej - w sacharozie, rafinozie oraz inulinie.

Galaktoza występuje przede wszystkim w stanie związanym jako część składowa laktozy, rafinozy oraz tłuszczów złożonych. Jest też składnikiem związków wielocząsteczkowych, takich jak agar i śluzy.

Mannoza występuje w postaci związanej w hemicelulozie oraz innych gumach. W stanie wolnym w małych ilościach znajduje się w roślinach, np. pomarańczach.

Ryboza jest składnikiem kwasów rybonukleinowych (RNA), różnych koenzymów i nukleotydów.

Arabinoza jest składnikiem substancji pektynowych, gumy arabskiej i hemiceluloz.

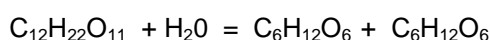
Ksyloza jest głównym składnikiem ksylanów występujących obok celulozy jako wypełnienie ścian komórkowych.

Cukry proste są dobrze rozpuszczalne w wodzie.

Cukry złożone

Oligosacharydy

Najbardziej rozpowszechnionym cukrem złożonym jest sacharoza (C₁₂H₂₂O₁₁). Ten disacharyd stanowi główny składnik suchej masy korzeni buraków cukrowych i łodyg trzciny cukrowej. Cząsteczka sacharozy jest zbudowana z glukopiranozy i fruktofuranozy połączonych wiązaniem β-1,2-glikozydowym. Sacharoza nie wykazuje mutarotacji i nie ma właściwości redukujących. Pod wpływem kwasów lub enzymu inwertazy sacharoza ulega hydrolizie na glukozę i fruktozę. Mieszaninę glukozy i fruktozy w równych ilościach nazywa się cukrem inwertowanym lub inwertem. Nazwa ta wywodzi się od zjawiska inwersji (hydrolizy sacharozy). Wodny roztwór sacharozy skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego w prawo, natomiast roztwór cukru inwertowanego - w lewo. Po hydrolizie sacharozy zachodzi więc zmiana kąta skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego. Obrazuje to schemat:



sacharoza	glukoza	fruktoza
$[\alpha]_D^{20} = +66,5^\circ$	$[\alpha]_D^{20} = +52,7^\circ$	$[\alpha]_D^{20} = -92,4^\circ$
	cukier inwertowany	
	$[\alpha]_D^{20} = -20,5^\circ$	

Innym disacharydem obecnym w różnych produktach spożywczych jest **maltoza**, znana jako cukier słodowy. Powstaje z rozpadu skrobi i glikogenu.

Do disacharydów należy również **laktoza**, czyli cukier mlekowy. Po hydrolizie rozkłada się na galaktozę i glukozę. Laktoza łatwo ulega przemianie w kwas mlekowy.

Polisacharydy

Polisacharydy są przeważnie zbudowane z heksoz lub pentoz, tworzą łańcuch składający się z reszt monosacharydów połączonych wiązaniami o-glikozydowymi. Na przykład, skrobia, celuloza, i glikogen są zbudowane z reszt glukozowych, a inulina jest zbudowana z reszt fruktozowych. Ze względu na dużą masę cząsteczkową polisacharydy zalicza się do związków wielocząsteczkowych. Hydroliza polisacharydów prowadzi do powstania z nich cukrów prostych. Polisacharydy nie rozpuszczają się w wodzie (celuloza) albo tworzą z nią roztwory koloidalne (skrobia).

Metody oznaczania mono- i oligosacharydów

Do ilościowego oznaczania cukrów stosuje się metody chemiczne, fizyczne i biologiczne, ponadto istnieje wiele metod kombinowanych, np. fizykochemicznych.

Metody chemiczne oznaczania zawartości cukrów opierają się na własnościach redukujących, jakie wykazują cukry bezpośrednio redukujące oraz cukry redukujące po hydrolizie. Mają one zdolność redukcji pewnych związków (np. soli metali ciężkich) w środowisku alkalicznym. Właściwościami redukującymi odznaczają się wszystkie cukry proste oraz te kilkocukry, w których występuje wolny hydroksyl półacetalowy, a więc maltoza i laktoza. Chcąc oznaczyć metodami redukcyjnymi cukry złożone, pozbawione własności redukujących, należy je uprzednio poddać hydrolizie do cukrów prostych.

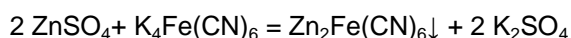
Chemiczne metody oznaczania cukrów redukujących różnią się głównie rodzajem stosowanego środka utleniającego. W większości z nich do utleniania wykorzystuje się zasadowy roztwór soli miedzi(II), a wytrącony w reakcji tlenek miedzi(I) oznacza się ilościowo. Innymi środkami utleniającymi używanymi do ilościowego oznaczania cukrów są heksacyjanożelazian(III) potasu (żelazicyjanek potasu), jod, sole rtęci(II), kwas pikrynowy, kwas molibdenowy(VI) i inne związki ulegające redukcji w środowisku słabo zasadowym.

Ponieważ właściwości redukujące wykazują również inne związki, np. białka czy niektóre kwasy organiczne, ich obecność zawyża wyniki oznaczania zawartości cukrów. Do usuwania substancji przeszkadzających stosuje się najczęściej sole metali ciężkich, np. octan ołowiu(II), azotan(V) rtęci(II), kwas fosfomolibdenowy.

Roztwory przeznaczone do oznaczania zawartości sacharydów klaruje się metodą Carreza, stosując dwa płyny: roztwór Carreza I i roztwór Carreza II.

- Roztwór Carreza I: 15-procentowy roztwór wodny $K_4Fe(CN)_6$
- Roztwór Carreza II: 30-procentowy roztwór wodny $ZnSO_4$

Po dodaniu do roztworu cukru obu płynów w jednakowych objętościach zachodzi reakcja:



W wyniku reakcji powstaje koloidalny heksacyjanożelazian(II) cynku, który opadając na dno, adsorbuje związki wielkocząsteczkowe, oczyszczając w ten sposób roztwór cukru. Do usuwania substancji barwnych używa się węgla aktywnego lub soli ołowiu.

W analizie żywności sacharydy zawierające grupy karbonylowe oznacza się jako **cukry bezpośrednio redukujące**, inaczej zwane cukrami redukującymi przed inwersją. Sacharydy nie mające właściwości redukujących (grupa karbonylowa jest zablokowana) są poddawane hydrolizie do monosacharydów i oznaczane jako **cukry ogółem**, inaczej - cukry po inwersji. Najczęściej rozumie się przez to sumę glukozy, fruktozy i sacharozy w badanym produkcie.

Różnicę między zawartością cukrów ogółem a zawartością cukrów bezpośrednio redukujących przelicza się na sacharozę, mnożąc tę różnicę przez współczynnik przeliczeniowy (0,95), który jest ilorazem masy molowej sacharozy (342) i sumy mas cząsteczek glukozy i fruktozy (360).

Inwersję, w której hydrolizie ulega prawie wyłącznie sacharozą, określa się jako krótką, a inwersję, w której hydrolizuje również maltoza - jako długą.

Inwersję (hydrolizę) sacharozy najczęściej przeprowadza się metodą Clergeta- -Herzfelda. Metoda polega na ogrzewaniu roztworu sacharozy w środowisku kwasu solnego (do 70 cm³ wyciągu dodaje się 5 cm³ stężonego kwasu solnego) przez 5 min w temperaturze 68-70°C. Po hydrolizie roztwór jest ochładzany, a następnie zobojętniany wodorotlenkiem sodu wobec oranżu metylowego (oznaczanie cukrów metodami chemicznymi prowadzi się w środowisku alkalicznym). Należy ściśle przestrzegać warunków hydrolizy, gdyż zmiana stężenia kwasu w hydrolizowanym roztworze może stać się powodem błędów na skutek niecałkowitego rozkładu sacharozy lub rozkładu innych di- i polisacharydów. Podobnie przedłużenie czasu i podwyższenie temperatury hydrolizy może doprowadzić do rozkładu produktów inwersji.

Istnieje wiele chemicznych metod oznaczania cukrów redukujących:

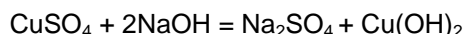
- metoda Bertranda,
- metoda Luffa-Schoorla,
- metoda Lane-Eynona,

Metoda Bertranda polega na przeprowadzeniu w roztworze alkalicznym redukcji soli miedzi cukrem i oznaczeniu miedzi w wydzielonym tlenku miedzi(I). Oznaczanie miedzi polega na utlenieniu tlenku miedzi (I) w wyniku redukcji jonu żelaza(III) do jonu żelaza(II) i na oznaczeniu soli żelaza(II) manganometrycznie. Badany roztwór cukru redukującego gotuje się z mieszaniną roztworów Bertranda I i Bertranda II.

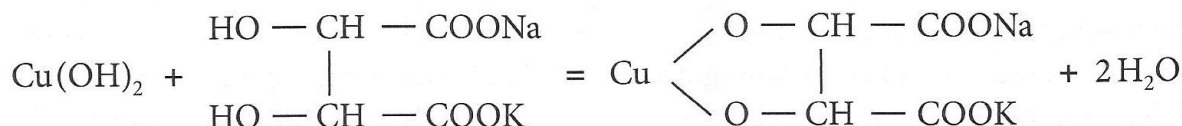
- Roztwór Bertranda I: 40 g siarczanu(VI) miedzi(II) ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$) rozpuścić w kolbie miarowej o pojemności 1000 cm³.
- Roztwór Bertranda II: 200 g winianu sodu i potasu ($NaKH_4C_4O_6 \cdot 4H_2O$) rozpuścić w ok. 600 cm³ wody destylowanej w kolbie miarowej o pojemności 1000 cm³, dodać 150 g wodorotlenku sodu

rozpuszczonego w ok. 250 cm³ wody destylowanej i uzupełnić wodą destylowaną do kreski.

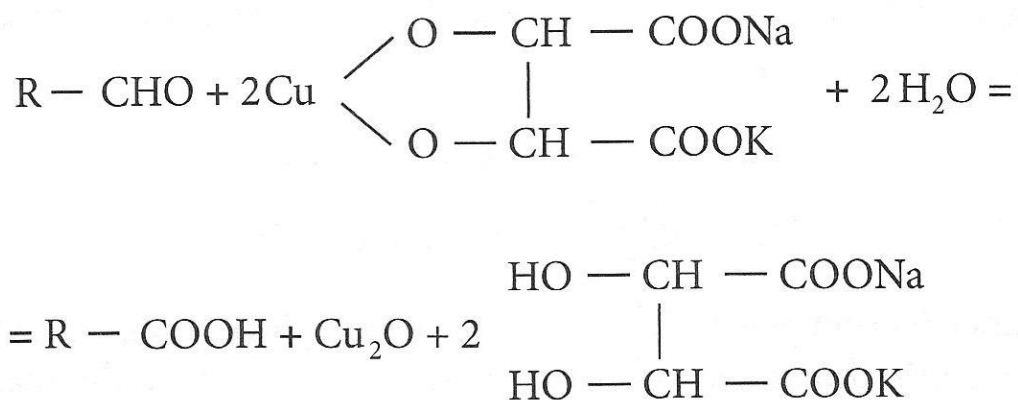
Zmieszanie roztworów Bertranda I i II z roztworem cukru redukującego prowadzi do szeregu reakcji. Pierwszą z nich jest reakcja siarczanu(VI) miedzi(II) z wodorotlenkiem sodu:



Powstały wodorotlenek miedzi(II) reaguje z winianem sodu i potasu, tworząc rozpuszczalny w wodzie miedziowinian sodu i potasu:



Roztwór cukru na gorąco redukuje powstały miedziowinian sodu i potasu do tlenku miedzi(I):

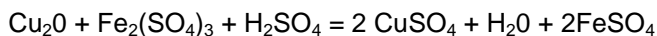


Przebieg reakcji nie ma charakteru ściśle stechiometrycznego, lecz zależy od warunków, w jakich te reakcje zachodzą, dlatego do obliczenia wyników stosuje się tablice.

Po dodaniu roztworu Bertranda III następuje utlenienie miedzi jedno wartościowej (Cu^+) w Cu_2O do miedzi dwuwartościowej (Cu^{2+}) i przejście powstałej soli do roztworu.

- Roztwór Bertranda III: 50 g siarczanu(VI) żelaza(III) ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) rozpuścić na gorąco w ok. 500 cm³ wody destylowanej z dodatkiem 200 g kwasu siarkowego(VI) ($d = 1,84 \text{ g/cm}^3$), nie dopuszczając do wrzenia.

Jon żelaza(III) jest jednocześnie redukowany do jonu żelaza(II) według reakcji:



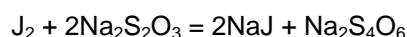
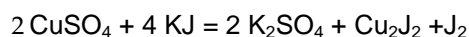
Ilość soli żelaza(II) oznacza się przez miareczkowanie mianowanym roztworem manganianu(VII) potasu:



Z ilości zużytego do miareczkowania roztworu manganianu(VII) potasu oblicza się ilość miedzi zredukowanej podczas oznaczenia, przyjmując, że 1 cm³ 0,02 M roztworu KMnO_4 odpowiada 6,357 mg Cu. Następnie z tabeli (tab. 11) odczytuje się liczbę miligramów oznaczanego cukru odpowiadającą ilości miedzi zredukowanej. Po odczytaniu ilości cukru z tabeli oraz uwzględnieniu rozcieńczenia próbki oblicza się procentową zawartość cukru w próbce.

Metoda Luffa-Schoorla, podobnie jak metoda Bertranda, wykorzystuje właściwości redukujące

cukrów. Reakcja zachodzi w środowisku zasadowym (pH ok. 9,5) w temperaturze wrzenia. W metodzie tej wodorotlenek sodu zastąpiono węglanem sodu, a winian sodu i potasu - kwasem cytrynowym. W środowisku zasadowym sacharydy redukują siarczan(VI) miedzi(II) do tlenku miedzi(I). Wprowadzenie do roztworu jodku potasu i kwasu siarkowego(VI) powoduje wydzielenie się jodowodoru (HJ). Ulega on reakcji z nie zredukowanym przez sacharydy siarczanem(VI) miedzi(II), w wyniku czego powstaje jodek miedzi (I). Nadmiar jodku (z dodatku KJ) odmiareczkuje się tiosiarczanem(VI) sodu. Ilość zredukowanej miedzi oznacza się bezpośrednio za pomocą metod jodometrycznych, a zawartość cukrów redukujących odczytuje się z tablic na podstawie ilości tiosiarczanu(VI) sodu zużytego do miareczkowania. Przebieg reakcji pokazują wzory:



Metoda Lane-Eynona polega na redukcji na gorąco alkalicznego roztworu soli miedzi(II) przez bezpośrednie miareczkowanie roztworem cukrów redukujących w obecności błękitu metylenowego jako wskaźnika. Błękit metylenowy ulega odbarwieniu w środowisku zasadowym dopiero po całkowitym zredukowaniu miedzi. Bardzo ważne jest utrzymywanie mieszaniny w stanie wrzenia podczas miareczkowania. Reakcje przebiegają w następujący sposób:

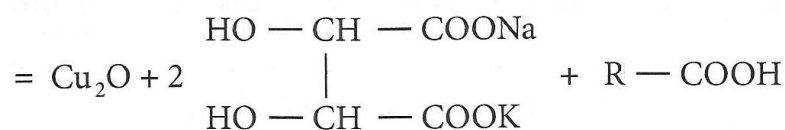
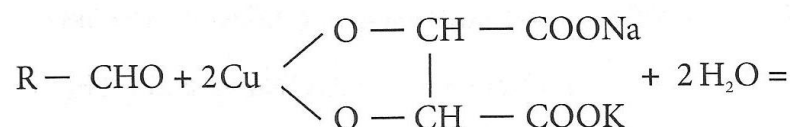
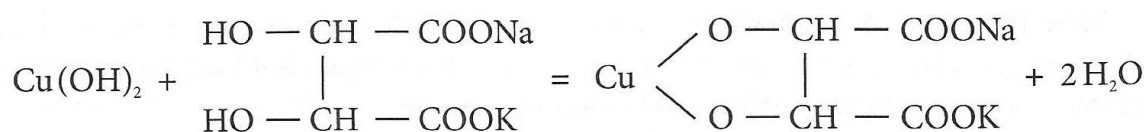
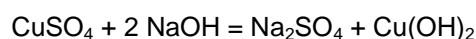


Tabela. 11. Ilość cukru inwertowanego w zależności od ilości miedzi zredukowanej podczas oznaczania metodą Bertranda

Ilość miedzi [mg]	Ilość cukru inwertowanego [mg]	Ilość miedzi [mg]	Ilość cukru inwertowanego [mg]
20	9,70	45	22,42
21	10,20	46	22,94
22	10,70	47	23,47
23	11,20	48	24,00
24	11,70	49	24,53
25	12,20	50	25,06
26	12,71	51	25,59
27	13,22	52	26,12

28	13,72	53	26,66
29	14,23	54	27,19
30	14,73	55	27,72
31	15,24	56	28,25
32	15,75	57	28,78
33	16,25	58	29,31
34	16,67	59	29,84
35	17,27	60	30,38
36	17,77	61	30,92
37	18,28	62	31,46
38	18,78	63	32,01
39	19,30	64	32,55
40	19,80	65	33,09
41	20,32	66	33,63
42	20,84	67	34,17
43	21,37	68	34,72
44	21,89	69	35,26

Metody spektrofotometryczne opierają się na pomiarze absorbancji związków barwnych powstających w wyniku reakcji chemicznej sacharydów z różnymi odczynnikami chemicznymi, np. kwasem pikrynowym, antronem lub kwasem 3,5-di- nitrosalicylowym (DNS).

Metody fizyczne oznaczania zawartości cukrów dzielą się na kilka grup:

- metody densymetryczne - oparte na zależności między gęstością cieczy a zawartością w niej sacharydu,
- metody refraktometryczne - polegające na pomiarze współczynnika załamania światła przez cząsteczki sacharydów,
- metody polarymetryczne - wykorzystujące zdolność skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego przez cząsteczki sacharydów,
- metody chromatograficzne: wysokosprawna chromatografia ciekłowa (*high-performance liquid chromatography*; HPLC) oraz chromatografia gazowa (*gas chromatography*-, GC).

Metody chromatograficzne można stosować, jeżeli w badanym roztworze nie znajdują się substancje interferujące.

Sacharydy, jako związki nielotne, przed oznaczeniem metodą GC muszą być przeprowadzone w lotne pochodne trimetylosililowe (TMS). W tym celu prowadzi się ich sililację, używając mieszaniny złożonej z heksametylodisilazanu, trimetylo- chlorosilanu i pirydyny. Do oznaczania stosuje się detektor płomieniowo-jonizacyjny (*flame ionisation detector*, FID).

W metodzie HPLC do detekcji sacharydów służy detektor refraktometryczny (*refractive index detector*; RID). Identyfikację prowadzi się po rozdzieleniu składników próbki w odpowiedniej kolumnie chromatograficznej, biorąc pod uwagę czasy retencji, a ilość poszczególnych cukrów w próbce oblicza się na podstawie pola powierzchni rozdzielonych pików.

Metody biologiczne polegają na przeprowadzeniu fermentacji alkoholowej poszczególnych cukrów pod wpływem drożdży, a następnie ilościowym oznaczeniu produktów fermentacji, tj. alkoholu lub ditlenku węgla.

Metody fermentacyjne stosuje się m.in. do określania zawartości cukru w surowcach dla przemysłu fermentacyjnego, przy czym wyniki wyraża się często liczbą litrów alkoholu absolutnego, jaką można uzyskać ze 100 kg surowca. Na przykład, w gorzelnictwie wydajność procesu w skali technicznej w stosunku do wydajności teoretycznej wynosi średnio 88-92%.

Metodami fermentacyjnymi można również w przybliżeniu oznaczyć różne rodzaje cukrów występujących w mieszaninie. W tym celu stosuje się różne gatunki drożdży, bakterii lub pleśni, mające specyficzne działanie fermentacyjne, co umożliwi odfermentowanie odpowiednich cukrów.

Ćwiczenia

1. Oznaczanie zawartości cukrów w soku metodą Lane-Eynona (wg PN-A-75101/07:1990)

Odczynniki

Roztwory Carreza I i II, kwas solny ($d = 1,19 \text{ g/cm}^3$), roztwory Fehlinga I i II, błękit metylenowy, oranż metylowy, 20% roztwór wodorotlenku sodu

Wykonanie oznaczenia

Przygotowanie roztworu

Do kolby miarowej o pojemności 250 cm^3 odmierzyć pipetą 25 cm^3 soku, czekolady, miodu, dżemu 5-10g, (podaną ilość należy uzgodnić z prowadzącym ćwiczenie) i dodać od 25 do 100 cm^3 wody destylowanej (podaną ilość należy uzgodnić z prowadzącym ćwiczenie). W celu wytrącenia białka dodać do kolby $2,5 \text{ cm}^3$ roztworu Carreza I, całość wymieszać i odstawić kolbę na 5 min. Następnie dodać $2,5 \text{ cm}^3$ roztworu Carreza II, wymieszać i dopełnić do kreski wodą destylowaną. Po upływie 15 min roztwór przesączyć przez fałdowany sączonek do suchego naczynia. 25 cm^3 przesączonego otrzymanego po odbiałczeniu odmierzyć pipetą do kolby miarowej o pojemności 100 cm^3 , uzupełnić wodą destylowaną do kreski i wymieszać. Przeprowadzenie krótkiej inwersji (w celu oznaczenia zawartości cukrów ogółem)

Do kolby stożkowej o pojemności 100 cm^3 odmierzyć pipetą 25 cm^3 odbiałzonego przesączonego i dodać ok. 4 cm^3 kwasu solnego. Aby wykonać inwersję, dodać wodę destylowaną do objętości 50 cm^3 , po czym zawartość kolby ogrzać w łaźni wodnej do temperatury $68-70^\circ\text{C}$ i utrzymywać tę temperaturę przez 5 min. Po upływie tego czasu ciecz szybko schłodzić do temperatury 20°C , dodać 3 krople oranżu metylowego, zobojętniać 20-procentowym roztworem wodorotlenku sodu aż do zmiany zabarwienia. Następnie przelać płyn do kolby miarowej o pojemności 100 cm^3 , ponownie doprowadzić do temperatury 20°C i uzupełnić wodą do kreski.

Oznaczenie cukrów bezpośrednio redukujących

1. Pierwsze miareczkowanie (oznaczenie orientacyjne)

Oznaczenia to ma na celu przekonanie się, jaką ilość badanego roztworu należy ogrzewać z roztworem Fehlinga.

Napełnić biuretę kolankową badanym roztworem. Do kolby stożkowej o pojemności 100 cm^3 odmierzyć 5 cm^3 roztworu Fehlinga I oraz 5 cm^3 roztworu Fehlinga II, ogrzać do wrzenia. Dodać 2-3 krople roztworu błękitu metylenowego i, utrzymując zawartość kolby w stanie spokojnego wrzenia, miareczkować badanym roztworem, dodając z biurety roztwór porcjami aż do zaniku barwy niebieskiej.

- Roztwór Fehlinga I: $69,98 \text{ g CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ rozpuścić w 1000 cm^3 wody destylowanej.
- Roztwór Fehlinga II: 348 g winianu sodu i potasu ($\text{NaKH}_4\text{C}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$) rozpuścić w 700 cm^3 wody destylowanej, a następnie dodać 100 g NaOH rozpuszczonego w ok. 200 cm^3 wody destylowanej i po wymieszaniu uzupełnić wodą do kreski.

2. Drugie miareczkowanie (oznaczenie właściwe)

Do drugiej kolby stożkowej odmierzyć po 5 cm³ roztworów Fehlinga I i II. Dodać z biurety badany roztwór w ilości o 1-2 cm³ mniejszej niż zużyta przy miareczkowaniu orientacyjnym. Ogrzać zawartość kolby do wrzenia i gotować przez 2 min. Po tym czasie dodać 2-3 krople roztworu błękitu metylenowego i zakończyć miareczkowanie w ciągu 3 min, dodając badany roztwór kroplami aż do zaniku barwy błękitu metylenowego.

Obliczenia

Z tabeli 12 odczytać masę cukrów redukujących (wyrażonych jako cukier inwertowany) odpowiadającą objętości badanego roztworu zużytego do miareczkowania roztworów Fehlinga. Obliczyć procentową zawartość cukru w soku, uwzględniając rozcieńczenie próbki.

Zawartość cukrów w soku wyrazić w gramach na 100g lub na 1 dm³ produktu.

Tabela 12. Masa cukru inwertowanego redukującego 10 cm³ roztworu Fehlinga I i II (5 cm³ + 5 cm³) w zależności od objętości roztworu użytego do miareczkowania

Objętość roztworu [cm ³]	Masa cukru inwertowanego [mg]	Objętość roztworu [cm ³]	Masa cukru inwertowanego [mg]
15	50,5	33	51,7
17	50,7	35	51,8
19	50,8	37	51,9
21	51,0	39	52,0
23	51,1	41	52,1
25	51,2	43	52,2
27	51,4	45	52,3
29	51,5	47	52,4
31	51,6	49	52,5

Źródło: PN-A-79011-5:1998 Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości cukrów

2. Oznaczanie zawartości cukrów w koncentracie spożywczym metodą Luffa-Schoorla

(wg PN-A-79011-5:1998)

Odczynniki, sprzęt i aparatura

Jodek potasu, kwas solny ($d = 1,19 \text{ g/cm}^3$), roztwór Luffa, 25% roztwór kwasu siarkowego(VI), 0,1M roztwór tiosiarczanu(VI) sodu, 10% roztwór wodorotlenku sodu, roztwory Carreza I i II, 1% roztwór skrobi rozpuszczalnej, 0,1% roztwór oranżu metylenowego

Łaźnia wodna z termoregulacją, zestaw do sączenia

Wykonanie oznaczenia

Przygotowanie roztworu podstawowego

W zlewce o pojemności 50 cm³ odważyć ok. 5,0 g produktu z dokładnością do 0,001 g. Próbkę przenieść ilościowo do kolby miarowej o pojemności 200 cm³, używając niewielkiej ilości wody destylowanej ogrzanej do temperatury 30°C. (W przypadku produktów niejednorodnych wytrząsać przez ok. 0,5 godz.) Dodać po 5 cm³ roztworów Carreza I i II, dokładnie wymieszać, odstawić na 15

min i dopełnić wodą do kreski. Zawartość kolby przesączyć przez fałdowany sączek do suchej kolby stożkowej, odrzucając pierwsze krople przesączu. Otrzymuje się w ten sposób roztwór A.

Przeprowadzenie krótkiej inwersji Do kolby stożkowej o pojemności 100 cm³ odmierzyć pipetą 20 cm³ roztworu podstawowego (A), dodać 5 cm³ kwasu chlorowodorowego i wymieszać. Aby wykonać inwersję, zawartość kolby ogrzać w łaźni wodnej do temperatury 68-70°C i utrzymywać tę temperaturę przez 5 min. Po upływie tego czasu ciecz szybko schłodzić do temperatury 20°C, dodać 3 krople oranżu metylowego, zobojętnić 10-procentowym roztworem wodorotlenku sodu aż do zmiany zabarwienia. Następnie przelać płyn do kolby miarowej o pojemności 100 cm³, ponownie doprowadzić do temperatury 20°C i uzupełnić wodą do kreski. Otrzymuje się w ten sposób roztwór B.

Oznaczenie cukrów

Do kolby stożkowej o pojemności 250 cm³ wrzucić kilka kawałków porcelany lub szkła, odmierzyć pipetą 25 cm³ roztworu Luffa. Dalej postępować następująco:

- w przypadku oznaczania cukrów bezpośrednio redukujących odmierzyć pipetą 10 cm³ roztworu A i dodać 15 cm³ wody;
- w przypadku oznaczania cukrów ogółem odmierzyć pipetą 20 cm³ roztworu B i dodać 5 cm³ wody;
- jednocześnie w analogiczny sposób przeprowadzić próbę ślepa, z tym że do kolby z roztworem Luffa zamiast badanego roztworu dodać 25 cm³ wody.

- Kolbę ogrzewać, w ciągu 2 min doprowadzając zawartość kolby do wrzenia. Utrzymywać w stanie łagodnego wrzenia przez 10 min, po czym kolbę z zawartością szybko schłodzić pod bieżącą wodą do temperatury pokojowej. Do schłodzonego roztworu dodać 3 g jodku potasu, następnie bardzo ostrożnie (ze względu na silne pienienie się roztworu) dodać kroplami 25 cm³ roztworu kwasu siarkowego(VI). Zawartość kolby mieszać do chwili, aż przestanie się pieniać, po czym miareczkować roztworem tiosiarczanu(VI) sodu do uzyskania jasnożółtego zabarwienia. Pod koniec miareczkowania dodać 1 cm³ roztworu skrobi i miareczkować do przejścia barwy niebieskiej w kremową. Różnica między ilością tiosiarczanu(VI) sodu zużytego w próbie ślepej a ilością Na₂S₂O₃ zużytego w oznaczaniu właściwym (wyrażona w cm³ 0,1 M roztworu tiosiarczanu(VI) sodu) odpowiada ilości miedzi zredukowanej przez cukry bezpośrednio redukujące.

- • Roztwór Luffa: Rozpuścić 50 g kwasu cytrynowego w 100 cm³ wody destylowanej. Następnie rozpuścić 388 g krystalicznego węglanu sodu (Na₂CO₃·10H₂O) lub 143,7 g bezwodnego węglanu sodu (Na₂CO₃) w 300-400 cm³ gorącej wody destylowanej. Połączyć oba roztwory, powoli wlewając roztwór węglanu sodu do roztworu kwasu cytrynowego, wymieszać. W 100 cm³ wody destylowanej rozpuścić 25 g siarczanu(VI) miedzi(II) (CuSO₄·5H₂O) i dodać do poprzedniego roztworu, a po schłodzeniu uzupełnić roztwór wodą destylowaną do objętości 1 dm³.

Obliczenia

Z tabeli 13 odczytać zawartość cukru inwertowanego odpowiadającą objętości roztworu tiosiarczanu(VI) sodu zużytego do miareczkowania. Przeliczyć cukier inwertowany na sacharozę, uwzględniając współczynnik przeliczeniowy 0,95.

Tabela 13. Zawartość cukrów redukujących w zależności od zużycia 0,1M roztworu tiosiarczanu (VI) sodu w oznaczeniu metodą Luffa-Schoorla

Różnica* objętości 0,1 M roztworu Na ₂ S ₂ O ₃ [cm ³]	Zawartość cukru [mg]		
	glukoza, fruktoza, cukier inwertowany	laktoza	maltoza
1	2,4	3,6	3,9
2	4,8	7,3	7,8
3	7,2	11,0	11,7
4	9,7	14,7	15,8
5	12,2	18,4	19,6
6	14,7	22,1	23,5
7	17,2	25,8	27,5
8	19,8	29,5	31,5
9	22,4	33,2	35,5
10	25,0	37,0	39,5
11	27,6	40,8	43,5
12	30,3	44,6	47,5
13	33,0	48,4	51,6
14	35,7	52,2	55,7
15	38,5	56,0	59,8
16	41,3	59,9	63,9
17	44,2	63,8	68,0
18	47,1	67,7	72,2
19	50,0	71,7	76,5
20	53,0	75,7	80,9
21	56,0	79,6	85,4
22	59,1	83,9	90,0
23	62,2	88,0	- .

Źródło: PN-A-79011 -5:1998 Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości cukrów

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI POPIOŁU I SKŁADNIKÓW MINERALNYCH

Związki mineralne w produktach żywnościowych występują w postaci nieorganicznej (jako tlenki, węglany, siarczany, krzemiany i chlorki) oraz w różnych połączeniach organicznych, np. z białkami i lipidami. Chcąc oznaczyć całkowitą zawartość składników mineralnych w produkcie, należy usunąć z niego substancje organiczne, np. poprzez spopielenie (mineralizację „na sucho”). Produkt pozostały po całkowitym spalaniu tych substancji w warunkach, w jakich nie rozkładają się chlorki, nosi nazwę **popiołu**. W skład popiołu wchodzi składniki mineralne: makroelementy (Ca, P, K, Cl, Na, Mg, S) i mikroelementy, jak również zanieczyszczenia w postaci piasku lub kurzu, a także pozostałości celowo dodawanych substancji obcych (np. dodatków do żywności). Zawartość i skład popiołu zależy od rodzaju produktu (tab. 14).

Tabela 14. Zawartość popiołu ogółem i niektórych makroelementów w wybranych produktach spożywczych

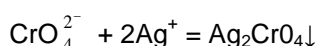
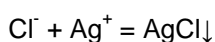
Produkt spożywczy	Zawartość	Na	K	Ca	P
	popiołu	[mg%/1]	[mg%/1]	[mg%/1]	[mg%/1]
Mleko	0,7	44-45	139-141	118-120	85-86
Mleko w proszku	6,3	357	1392	1062	765
Sery dojrzewające	3,0-5,4	598-1368	81-119	386-937	183-587
Owoce świeże	0,3-0,8	1-5	62-336	4-40	19-33
Warzywa	0,4-2,4	2-80	121-695	6-193	12-102
Nasiona roślin	3,0-3,9	19-30	937-1188	57-163	388-437
Mięso	0,4-1,1	34-128	249-395	3-18	145-213
Przetwory mięsne	2,3-5,0	530-1504	145-314	11-21	89-240
Zboża i przetwory zbożowe	0,2-6,0	2-1160	51-1121	3-119	47-1276
Żółtko jaja	1,7	52	127	147	587

Źródło: H. Kunachowicz, I. Nadolna, B. Przygoda, K. Iwanow. *Tabele składu i wartości odżywczej żywności*. PZWL, Warszawa 2005.

Wybrane metody oznaczania składników mineralnych

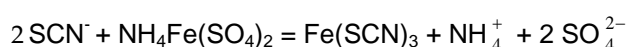
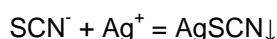
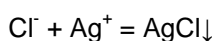
Oznaczanie zawartości chlorków

Metoda Mohra (PN-A-7510-10:1990) polega na miareczkowaniu roztworu zawierającego jony chlorkowe mianowanym roztworem azotanu(V) srebra (miareczkowanie argentometryczne) wobec jonów chromianowych(VI). Podczas miareczkowania jako pierwszy wytrąca się chlorek srebra, a następnie chromian(VI) srebra, który nadaje roztworowi brunatnoczerwone zabarwienie:



Metodę tę można stosować do produktów bezbarwnych lub słabo zabarwionych, w zakresie wartości pH między 6 a 10. Miareczkowanie azotanem(V) srebra można również przeprowadzić potencjometrycznie. Metodę tę zalecają polskie normy dla soków owocowych i warzywnych (PN-EN 12133:2001), skrobi (PN-EN ISO 5810:2002), mięsa i przetworów mięsnych (PN-ISO 1841-2:2002) oraz serów (PN-EN ISO 5943:2006).

Metoda Volharda (PN-90/A-75101/10) polega na wytrąceniu jonów chlorkowych w środowisku kwaśnym za pomocą nadmiaru mianowanego roztworu azotanu(V) srebra, a następnie odmiareczkowaniu nadmiaru dodanego azotanu(V) srebra za pomocą tiocyjanianu amonu lub potasu w obecności ałunu żelazowo-amonowego ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) jako wskaźnika, aż do otrzymania różowoczerwonego zabarwienia roztworu:



Metodę Volharda zaleca polska norma PN-ISO 1841-1:2002 dla mięsa i przetworów mięsnych. Badaną próbkę ekstrahuje się gorącą wodą, następnie strąca się białka, po przesączeniu dodaje się azotanu(V) srebra, a jego nadmiar odmiareczkuje się tiocyjanianem potasu.

Metody potencjometryczne polegają na zmierzeniu różnicy potencjałów, jaka występuje między

dwiema elektrodami chlorosrebrowymi, z których jedna jest zanurzona w roztworze wzorcowym o znanym stężeniu jonów Cl, a druga - w roztworze badanym.

Metody spektrofotometryczne polegają na związaniu jonami Hg_2^{2+} chlorków zawartych w badanym roztworze, usunięciu difenylkarbazonem nadmiaru rtęci i pomiarze absorbancji przy długości fali 552 nm.

Metoda analizy przepływowo-wstrzykowej (*flow injection analysis*; FIA) polega na oznaczeniu chlorków w przepływie z użyciem jonoselektywnej elektrody chlorkowej jako detektora i 0,1 M roztworu KNO_3 jako strumienia nośnego w spirali reakcyjnej. W warunkach analizy przepływowo-wstrzykowej wysokość pików, który jest sygnałem pochodzącym od detektora, jest proporcjonalna do stężenia analitu po czasie jego pobytu w spirali reakcyjnej przed osiągnięciem stanu równowagi przez układ. Stężenie chlorków odczytuje się z odpowiednio sporządzonej krzywej kalibracyjnej.

Metoda nefelometryczna, stosowana do próbek bezbarwnych, polega na pomiarze stopnia zmętnienia koloidowego osadu chlorku srebra po dodaniu do badanej próbki, zakwaszonej kwasem azotowym(V), azotanu(V) srebra. Następnie porównuje się stopień zmętnienia badanej próbki ze stopniem zmętnienia zawiesin wzorcowych.

Ćwiczenia

1. Oznaczanie zawartości chlorków w mleku

Odczynniki i sprzęt

Roztwory Carreza I i II, 10% roztwór chromianu(VI) potasu, 0,1 M roztwór azotanu(V) srebra

Wykonanie oznaczenia

Do kolby miarowej o pojemności 250 cm³ odmierzyć 25 cm³ średniej próbki laboratoryjnej mleka. Dodać 100 cm³ wody i po 5 cm³ płynów Carreza I i II. Uzupełnić wodą destylowaną do kreski, energicznie wymieszać, odstawić. Po upływie 10 min zawartość kolby przesączyć. Pobrać 100 cm³ klarownego przesączu i dodać do niego 1 cm³ 10% roztworu chromianu (VI) potasu. Zmiareczkować 0,1M roztworem azotanu(V) srebra do uzyskania pomarańczowego zabarwienia.

Obliczenia

Zawartość chlorków (X), wyrażoną w procentach (w/w), obliczyć według wzoru:

$$X = \frac{a \cdot 3,546}{100 - d}$$

gdzie:

- a - objętość 0,1 M roztworu azotanu(V) srebra zużytego do miareczkowania [cm³],
- d - gęstość mleka w temperaturze 20°C (zmierzona piknometrem lub areometrem),

3,546 - współczynnik przeliczeniowy (1 cm³ 0,1 M roztworu azotanu(V) srebra odpowiada 3,546 mg Cl)

2. Oznaczanie zawartości chlorków w pieczywie

Zasada oznaczenia polega na miareczkowaniu wyciągu wodnego wyrobu roztworem AgNO_3 wobec $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ jako wskaźnika.

Do kolby stożkowej o poj. 200cm^3 odważyć z dokładnością do $0,01$ g ok. 25 g próbki, dodać 100cm^3 gorącej wody destylowanej, wymieszać i ogrzać na wrzącej łaźni wodnej przez 15 min. Następnie kolbę z zawartością ochłodzić do temp. pokojowej i przenieść ilościowo do kolby miarowej o poj. 200cm^3 , uzupełnić wodą do kreski i wymieszać. Zawartość kolby przesączyć przez fałdowany sącdek do suchej zlewki. Pipetą pobrać 20cm^3 , wprowadzić do kolby stożkowej o poj. 100cm^3 , dodać 5 kropel roztworu $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ i miareczkować $0,1$ n roztworem AgNO_3 do chwili wystąpienia trwałej barwy pomarańczowoceglastej.

W przypadku wyrobów o kwaśnym smaku, roztwór po ochłodzeniu zobojętnić roztworem NaOH wobec papierka wskaźnikowego.

Zawartość chlorku sodowego (X) obliczyć w % korzystając z wzoru:

$$X = \frac{a \times 0,005845 \times V \times 10000}{c \times b \times (100 - w)}$$

w którym:

a – objętość ściśle $0,1\text{n}$ roztworu AgNO_3 zużytego do miareczkowania (w cm^3),

V- objętość kolby użytej do przygotowania wodnego wyciągu z miękiszu pieczywa (w cm^3),

c - masa próbki (w g),

b – objętość badanego wodnego wyciągu użytego do miareczkowania (w cm^3),

$0,00585$ - ilość NaCl odpowiadająca 1cm^3 $0,1\text{n}$ roztworu AgNO_3 (w g),

w-wilgotność produktu (w %).

Analiza wybranych produktów spożywczych

1. Produkty przemysłu owocowo-warzywnego

1.a) Analiza dżemu, marmolady, koncentratu pomidorowego, kremogenów itp.

W otrzymanych produktach oznaczyć:

- a) zawartość wody metodą (susząrkową –str. 13), (susząrkową z piaskiem str.13) oraz na wagosuszarce str.14),
- b) aktywność wody (str.15),
- c) pH oraz kwasowość (str.5, 8),
- d) cukry redukujące i ogółem metodą Lane-Eynona (str.35),
- e) zawartość białka metodą Kiejdahla (str.28).

1.b) Analiza soków owocowych

W otrzymanych produktach oznaczyć:

- a) ekstrakt (str.18)
- b) aktywność wody (str.15),
- c) pH, kwasowość (str.5),
- d) cukry redukujące i ogółem metodą Lane-Eynona (str. 35),
- e) zawartość białka metodą Kiejdahla (str.28).
- f) gęstość metodą piknometryczną i areometryczną (str. 20).

2. Analiza miodu

W otrzymanych produktach oznaczyć:

- a) zawartość wody metodą (susząrkową –str. 13), (susząrkową z piaskiem str.13) oraz refraktometrycznie str.14),
- b) aktywność wody (str.15),
- c) pH oraz kwasowość (str. 6),
- d) cukry redukujące i ogółem metodą Lane-Eynona (str. 35),

3. Analiza mleka

W otrzymanych produktach oznaczyć:

- a) zawartość wody metodą (susząrkową –str. 13), (susząrkową z piaskiem str.13) oraz (susząrkową na zwitkach bibuły str.13),
- b) aktywność wody (str.15),
- c) pH oraz kwasowość ogólną (str.6),
- d) białko metodą Kiejdahla i formolową (str. 28),
- e) zawartość chlorków (str. 41)

4. Analiza pieczywa

W otrzymanych produktach oznaczyć:

- a) zawartość wody metodą (susząrkową –str. 13) oraz na wagosuszarce str.14),
- b) aktywność wody (str.15),

- c) pH oraz kwasowość (str.),
- d) białko metodą Kieldahla (str. 28),
- e) zawartość chlorków (str.42)

5. Analiza czekolady

W otrzymanych produktach oznaczyć:

- a) zawartość wody metodą (suszkową –str. 13), (suszkową z piaskiem str. 13)
- b) aktywność wody (str.15),
- c) pH oraz kwasowość ogólną i lotną (str.6,8),
- d) zawartość cukrów ogółem metodą Lane-Eynona (str. 35)
- e) białko metodą Kieldahla (str.28),

Bączkowicz M. i inni: Podstawy analizy i oceny jakości żywności. Skrypt do ćwiczeń pod redakcją T.Fortuny, Wyd. Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, Kraków 2012

Krełowska-Kułas M.:Badanie jakości produktów spożywczych. Państwowe Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa 1993

Wojtacki M.:Produkty pszczele i przetwory miodowe. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1982

Instrukcja obsługi do aktywności wody HydroPalm

Instrukcja obsługi aparatu TECATOR

Instrukcja obsługi wagosuszarki