

## Metóda GS4-5 (2003)

# Stanovenie redukujúcich cukrov v repnej melase metódou konštantného objemu podľa Lanea a Eynona

oficiálna metóda\*

## 1 Rozsah

Tu popísaná metóda je aplikovateľná na repnú melasu (1), ktorá obsahuje menej ako 5% redukujúcich cukrov (Všeobecná trieda 4).

## 2 Oblasť použitia

Táto metóda, ktorá môže tvoriť základ zmlúv o obchodovaní s melasou, meria redukujúce látky v repnej melase. Nemôže sa použiť na stanovenie skutočnej sacharózy na základe rozdielu od celkových redukujúcich cukrov, kvôli vplyvu látok, ktoré majú redukujúce vlastnosti. Je určená na zistenie hodnoty melasy na základe redukujúcich cukrov a na uspokojenie obchodných požiadaviek.

## 3 Definície pojmov (2)

**3.1 Redukujúce cukry** – primárne sú to glukóza a fruktóza prítomné v melase.

**3.2 Invert** – je ekvimolárna zmes glukózy a fruktózy.

**3.3 Repná melasa** – je vedľajší produkt pri výrobe repného cukru alebo rafinácii. Je to tmavá vysoko viskózná kvapalina, z ktorej sa už ďalší cukor nedá získať normálnou kryštalizáciou.

## 4 Princíp metódy

Metóda je založená na schopnosti redukujúcich cukrov redukovať Fehlingov roztok za štandardných podmienok.

Odmerná metóda podľa Lanea a Eynona je veľmi dobre známa v cukrovarníckom priemysle, je jednoduchá a schopná dávať reprodukovateľné výsledky za štandardných podmienok. Niektoré necukry, najmä vápnik, môžu vplyvať na výsledok tohto stanovenia možnou tvorbou komplexu s glukózou a fruktózou. Tento účinok sa eliminuje viazaním vápnika s EDTA.

## 5 Chemikálie a materiál

UPOZORNENIE A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA:

POUŽÍVATELIA TEJTO METÓDY BY SA PRED PRÁCOU S TÝMITO ČINIDLAMI MALI OBOZNÁMIŤ S NÁRODNOU LEGISLATÍVOU TÝKAJÚCOU SA ZDRAVIA A BEZPEČNOSTI PRI PRÁCI.

\* Predmet ratifikácie na 24. zasadaní, 2006.

Používajte len destilovanú vodu alebo vodu podobnej kvality. Chemikálie by mali mať stupeň čistoty pre analýzu alebo vyšší, pokiaľ nie je uvedené inak.

**5.1 Kyselina chlorovodíková**, koncentrovaná,  $\rho_{20} \approx 1,18$  g/ml.

**5.2 Kyselina benzoová** – stupeň čistoty na všeobecné použitie.

**5.3 Roztok metylénovej modrej, 1g/100ml.** Rozpusťte 1 g metylénovej modrej (čistej) vo vode a doplňte na objem 100 ml.

**5.4 Roztok hydroxidu sodného, približne 1 mol/l.** Rozpusťte 40 g hydroxidu sodného v približne 500 ml vody. Roztok ochlaďte, preneste do 1 l odmernej banky a doplňte vodou po značku.

**5.5 Kyselina chlorovodíková, približne 0,5 mol/l.** Rozriedte 44,5 ml koncentrovanej kyseliny (5.1) na objem 1 l.

**5.6 Roztok disodnej soli EDTA, 40 g/l.** Rozpusťte 20 g soli vo vode a doplňte na objem 500 ml.

**5.7 Tekutý parafín** – v úlohe odpeňovača, alebo akýkoľvek iný odpeňovač, ktorý neredukuje Fehlingov roztok.

**5.8 Roztok fenoltaleínu, 1 g/100ml.** Rozpusťte 1 g fenoltaleínu (stupeň čistoty indikátor) v 60 ml priemyselného metylovaného liehu (denaturovaný alkohol) a doplňte na objem 100 ml vodou.

**5.9 Štandardný roztok invertu, 2,5 g/l.** Odvážte 9,50 g sacharózy a preneste bez strát do 1 l odmernej banky za pomoci 100  $\pm$  5 ml vody.

Do roztoku sacharózy pridajte 5 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej (5.1), jemne miešajúc počas pridávania. Prikryte hrdlo banky malou kadičkou, aby sa zabránilo vniknutiu cudzích látok a nechajte stáť nevyhnutný čas na úplnú inverziu sacharózy. Tento čas závisí od teplotných podmienok. Inverzia je ukončená po 3 dňoch státia pri teplote 20–25 °C alebo po 8 dňoch pri 12–15 °C.

Zriedte roztok invertu vodou na objem približne 800 ml.

Rozpusťte približne 2 g kyseliny benzoovej (5.2) v približne 75 ml horúcej vody a pridajte tento roztok do roztoku invertu. Nakoniec doplňte objem na 1 l pri 20 °C a pomiešajte. Takto získate roztok invertu 10 g/l. Keď sa roztok invertu uchováva v uzavretej nádobe, zostáva stabilný minimálne 6 mesiacov.

Pripravte neutrálny štandardný roztok invertu 2,5g/l odpipetovaním 50 ml roztoku invertu 10 g/l do 200ml odmernej banky, pridajte dve kvapky roztoku fenoltaleínu (5.8). Pridávajte 1 mol/l roztok hydroxidu sodného (5.4) za jemného miešania až sa objaví ružová farba. Odstráňte ružovú farbu roztoku invertu pridaním jednej až dvoch kvapiek 0,5 mol/l roztoku kyseliny chlorovodíkovej (5.5). Nakoniec doplňte objem vodou po značku a premiešajte. Tento roztok sa musí pripravovať tesne pred použitím.

### 5.10 Fehlingov roztok.

- *Mednatý roztok (Roztok A)*. Odvážte 138,56 g pentahydrátu síranu meďnatého a rozpustite vo vode. Preneste roztok, bez strát, do 2l odmernej banky, doplňte po značku vodou pri 20 °C a pomiešajte. Ak je to potrebné, prefiltrujte cez inertný filtračný materiál, napr. porézna keramika alebo sintrované sklo.

- *Alkalický roztok vlnanu (Roztok B)*. Oddelene odvážte 692,18 g vlnanu sodno-draselného a 200 g hydroxidu sodného a rozpustite v približne 500 ml vody. Roztok ochlaďte a prenesť bez strát do 2l odmernej banky, doplňte vodou po značku pri 20 °C a pomiešajte. Ak je to potrebné, prefiltrujte cez inertný filtračný materiál, napr. porézna keramika alebo sintrované sklo.

- *Zmiešaný Fehlingov roztok*. Zmiešajte rovnaké objemy Roztoku A a Roztoku B tak, že nalejete Roztok A do Roztoku B, za miešania sklenenou tyčinkou. Prefiltrujte, ak je to potrebné a uchovajte vo vhodnej uzavretej nádobe.

**5.11 Pemza** – prášková (alebo sklenené guľičky).

## 6 Prístrojové vybavenie

**6.1 Odmerné sklo** – kalibrované podľa národných noriem.

**6.2 Teplomery**. Používajte teplomery, ktoré boli kalibrované voči certifikovaným referenčným teplomerom, pre všetky potrebné teploty.

**6.3 Horúci titrátor/iluminátor**. Na tento účel je vhodný kombinovaný ohrievač/iluminátor, navrhnutý UM, ale nie je nevyhnutný.

*POZNÁMKA – UM = United Molasses Co Ltd. Ohrievač/iluminátor je dostupný od Clive Shelton Associates, Provident House, Burrell Row, Beckenham, Kent BR3 1AT, England.*

**6.4 Analytická váha** – s rozlíšením 1 mg.

**6.5 Nádoby na váženie**.

**6.6 Stopky (1 hod)** – merajúce minúty a sekundy.

**6.7 Varné banky, Pyrex** – okrúhleho alebo podobného tvaru, objem 400 ml.

**6.8 Filtračný lievik**.

**6.9 Vodný kúpeľ** – udržiavaný na 20,0 ± 1 °C.

**6.10 Kovové kruhy** – alebo iné zariadenie na zaťaženie, aby sa udržali banky vo fixnej pozícii vo vodnom kúpeli.

## 7 Vzorky

**7.1 Príprava vzoriek**. Vzorky dôkladne pomiešajte.

## 8 Postup

### 8.1 Všeobecné poznámky.

- *Odmerné sklo*. Vnútrošný povrch všetkého odmerného skla musí byť bez stôp po masnote. Je vhodné občasné umytie zmesou kyseliny chrómovej. Používanie špeciálneho laboratórneho detergentu znižuje potrebu umývania kyselinou chrómovou.

- *Podmienky ohrevu*. Bez štandardných podmienok ohrevu nie je možné získať reprodukovateľné výsledky.

Pri stanovení redukujúcich cukrov touto metódou sa vyžadujú nasledovné podmienky.

Ohrev musí byť usporiadaný tak, aby 75 ml vody vo varnej banke s objemom 400 ml dosiahlo bod varu z teploty 20 °C za 2,5 min.

Zdroj svetla by mal poskytnúť prostriedok na pozorovanie farebnej zmeny. Pri jednotlivých chemikoch môže byť potrebné nastavenie pozície lampy, aby sa dosiahol najlepší osvetľovací efekt.

Pri vytváraní podmienok ohrevu pre test je nevyhnutné pridať približne 50 mg jemnej pemzy alebo niekoľko sklenených guľičiek (5.11) do vody na podporu rovnomerného varu. Za dosiahnutie bodu varu považujeme, keď sa bublinky pary prebývajú rovnomerne cez povrch vody v banke.

- *Laboratórna teplota*. Všetky metódy popísané na nasledovných stranách sa vzťahujú na štandardnú laboratórnu teplotu 20 °C, aj keď dôkladná kontrola teploty pomocou vodného kúpeľa o teplote 20 °C je tiež prípustná.

**8.2 Štandardizácia Fehlingovho roztoku**. Nastavte zariadenie na ohrev tak, že 75 ml vody obsiahnutej vo varnej banke začne vriť z izbovej teploty za dobu 2,5 min ± 5 sek. Je potrebné pridať do vody malé množstvo práškovej pemzy, aby sa zabezpečil rovnomerný var. Ak sa používa UM ohrievač, je potrebné ho zapnúť aspoň 10 min pred určením požiadaviek na ohrev. Opláchnite a naplňte 50ml byretu štandardným roztokom invertu 2,5 g/l (5.9) a druhú 50ml byretu naplňte vodou.

Napipetujte 20 ml zmiešaného Fehlingovho roztoku (5.10) do varnej banky a pridajte z byrety 15 ml vody. Pridajte z byrety 39 ml štandardného roztoku invertu (5.9), aby ste získali celkový objem 74 ml. Pridajte malé množstvo práškovej pemzy (5.11) a niekoľko kvapiek odpeňovača (5.7). Jemným krúžením roztoky premiešajte. Umiestnite varnú banku na ohrevné zariadenie a nechajte roztok dosiahnuť bod varu. Spustite stopky a nechajte roztok vriť presne 2 min. Pridajte 4 kvapky roztoku metylénovej modrej (5.3). Dokončite titráciu pomalým pridávaním invertného roztoku z byrety.

Pridávajte invertný roztok v malých prídavkoch, ktoré postupne zmenšujete, na začiatku po 0,2 ml, potom 0,1 ml a nakoniec po kvapkách. Ukončite titráciu na konci 1 min ± 5 sek od okamihu prídania roztoku metylénovej modrej. To dáva celkový čas varu 3,0 min ± 5 sek. Koncový bod titrácie je určený zmiznutím modrého zafarbenia a objavením sa slabo ružovej farby od vyzrážaného oxidu meďného. Zopakujte titráciu, ak je to potrebné, aby ste dosiahli koncový bod v určenom limite. Počas titrácie sa banka nesmie odložiť zo zdroja ohrevu ani miešať.

Zaznamenajte titer. Ak má Fehlingov roztok správnu silu, 20 ml roztoku by malo spotrebovať 40 ml invertného roztoku, pri celkovom objeme 75 ml. Ak je titer menej ako 40 ml, potom má roztok málo medi. Ak je viac ako 40 ml, v roztoku je príliš veľa medi. V oboch prípadoch treba roztok upraviť, buď prídanim síranu meďnatého alebo zriedením vodou (postupujte ako je popísané v Metódach GS4/3-3 a GS4/3-7).

Po úprave sily meďnatého roztoku je potrebné zopakovať štandardizáciu.

Ak má Fehlingov roztok správnu silu, 20 ml zodpovedá 100 mg invertného cukru.

**8.3 Roztok vzorky**. Obsah redukujúcich cukrov v repnej melase je okolo 1,5 % a tento faktor spolu s tmavou farbou repnej melasy spôsobujú určité problémy pri aplikácii metódy podľa Lanea a Eynona. Koncový bod titrácie býva prekrytý farbou melasy, avšak skúsení chemici vedia dosiahnuť uspokojivé výsledky aj napriek týmto prekážkam.

Pri skúšaní repnej melasy je potrebné používať roztok melasy 20 g/100 ml, aby sa dosiahol titer menej ako 50 ml. Niektorí chemici môžu považovať koncový bod za veľmi nejasný, keďže farebná zmena je zo špinavej modrej do hnedočervenej.

Tento problém je možné prekonať pridaním známeho množstva invertného cukru vo forme roztoku 10 g/l (z bodu 5.9) do roztoku melasy a po vykonaní titrácie urobiť korekciu na pridaný invert. Odvážte 25 g repnej melasy a preneste bez strát do 250ml odmernej banky, aby ste získali objem asi 150 ml. Použitím pipety pridajte 50 ml invertného roztoku 10 g/l, ktorý bol pripravený pre štandardizáciu Fehlingovho roztoku v bode 5.9.

**8.4 Titrácia vzorky.** Presvedčite sa, že zariadenie na ohrev pracuje v predpísaných podmienkach. Opláchnite a naplňte byretu roztokom 20 g/l. Vykonajte predbežnú titráciu.

Do varnej banky napipetujte 20 ml Fehlingovho roztoku (5.10), pridajte 20 ml roztoku melasy, malé množstvo práškovej pemzy (5.11) a niekoľko kvapiek odpeňovača (5.7).

Umiestnite banku na ohrevné zariadenie, nechajte roztok dosiahnuť bod varu a pridajte 4 kvapky roztoku metylénovej modrej (5.3). Titrujte na začiatku prídavkami 2 ml roztoku melasy a postupne znižujte pridávané množstvo na 0,2 ml a snažte sa dosiahnuť koncový bod titráciu asi za 1 min, odkedy roztok začal vriieť. Koncový bod titrácie je určený zmiznutím modrého zafarbenia a objavením sa slabo ružovej farby od vyzrážaného oxidu meďného. Zaznamenajte titer ( $T_1$ ).

Zoberte ďalšiu byretu a naplňte ju vodou. Vykonajte druhú titráciu tak, že do varnej banky pridáte 20 ml Fehlingovho roztoku, roztok melasy o objeme, ktorý ste získali v prvej titracii, znížený o 2 ml a potrebné množstvo vody z byrety, aby výsledný objem bol 73 ml. Po 2 min varu pridajte 4 kvapky roztoku metylénovej modrej a dokončite titráciu prídavkami, spočiatku 0,1 ml a nakoniec po kvapkách. Titrácia musí byť ukončená na konci 1 min  $\pm$  5 sek, čo dáva celkový čas varu 3 min  $\pm$  5 sek. Zaznamenajte titer ( $T_2$ ).

Konečná titrácia sa vykoná tak, že do varnej banky dáte 20 ml Fehlingovho roztoku, objem roztoku melasy z druhej titrácie ( $T_2$ ) znížený o 0,5 ml a potrebné množstvo vody z byrety tak, aby výsledný objem bol 74,5 ml. Titrácia sa vykoná rovnakým spôsobom ako druhá titrácia. Zaznamenajte titer ( $T_3$ ) a použite ho na výpočet obsahu redukujúcich cukrov.

## 9 Vyjadrenie výsledkov

**9.1 Výpočet obsahu redukujúcich cukrov.** Keďže je prítomná sacharóza, vo výpočte sa musí použiť korekčný faktor (4). Faktor sa mení s množstvom sacharózy v skúšanom objeme roztoku melasy (pozri nižšie). Na určenie faktoru nie je potrebné poznať obsah sacharózy vo vzorke veľmi presne. Pre tento prí-

pad uvažujme, že repná melasa obsahuje napr. 46 % sacharózy. 20 ml Fehlingovho roztoku zodpovedá 100 mg invertného cukru, ale treba urobiť korekciu na pridaný invertný cukor. V tomto postupe prídavok zodpovedal 2 mg na ml roztoku melasy 100 g/l. Aby sme získali obsah invertu v percentách, výpočet má tvar:

$$\frac{100 F(100 - 2T)}{T \times C}$$

Kde:  $T = T_3 =$  titer (ml),

$F =$  faktor sacharózy,

$C =$  koncentrácia roztoku vzorky (g/l).

Keď použijeme koncentráciu melasy 100 g/l, výpočet sa zjednoduší na tvar:

$$\text{Redukujúce cukry (\% m/m)} = (100/T - 2) \times F$$

Výsledok zaokrúhlite na najbližších 0,05 % m/m.

### Korekčné faktory

Hmotnosť sacharózy prítomnej v skúšanom objeme roztoku (g)	Faktor $F$	Hmotnosť sacharózy prítomnej v skúšanom objeme roztoku (g)	Faktor $F$
0,0	1,000	5,0	0,906
0,5	0,988	6,0	0,894
1,0	0,975	7,0	0,884
2,0	0,950	8,0	0,874
3,0	0,934	9,0	0,865
4,0	0,917	10,0	0,856

**9.2 Presnosť.** Presnosť tejto metódy nebola určená.

## 10 Literatúra

1. *Správa zo 17. zasadania ICUMSA.* 1978, s. 211.
2. BAKER B. P. (ed.): *Composition, Properties and Uses of Molasses and Related Products.* United Molasses Co Ltd London, 1987.
3. SCHNEIDER F. (ed.): *Sugar Analysis: ICUMSA Methods.* 1979, s. 41–55.
4. *Správa z 20. zasadania ICUMSA.* 1990, s. 330.