

Metóda GS4/3-7 (2007*)

Stanovenie celkových redukujúcich cukrov po hydrolýze v melase a rafinovaných sirupoch metódou konštantného objemu podľa Lanea a Eynona

oficiálna metóda (1)

1 Rozsah

Táto metóda je aplikovateľná na všetky vzorky melasy (Všeobecná trieda 4). Môže sa tiež aplikovať na niektoré cukorné sirupy (Všeobecná trieda 3).

2 Oblasť použitia

Táto metóda, ktorá môže tvoriť základ zmlúv o obchodovaní s melasou, meria celkové redukujúce cukry, ako je invertný cukor, po hydrolýze vo vzorkách melasy. Nemôže sa použiť na stanovenie skutočnej sacharózy (2) odpočítaním počiatočných redukujúcich cukrov a následným vynásobením koeficientom 0,95 (pozri tiež metódu GS4/3-9). Keď sa použije tento postup alebo priame vynásobenie celkových redukujúcich cukrov po hydrolýze koeficientom 0,95, aby sa získal „cukor“ (sacharóza), takto získaný výsledok je len na uspokojenie obchodníckych požiadaviek. Nejedná sa o presné meranie cukru (sacharózy).

Táto metóda sa tiež používa na stanovenie „sacharózy“ plus „invertu“ v rafinovaných cukroch stanovením celkových redukujúcich cukrov po hydrolýze. Výsledok sa zvyčajne prevedie na „% sacharózy“ vynásobením koeficientom 0,95.

3 Definície pojmov

3.1 Redukujúce cukry. Redukujúce cukry v melase po hydrolýze sú primárne, ale nie výlučne, glukóza a fruktóza.

3.2 Invert – je ekvimolárna zmes glukózy a fruktózy.

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 (3), je jednoduchá a schopná dávať reprodukovateľné výsledky za štandardných podmienok. Niektoré necukry, najmä vápnik, môžu vplývať na výsledok tohto stanovenia možnou tvorbou komplexu s glukózou a fruktózou. Tento účinok sa eliminuje viazaním vápnika s EDTA.

Pri rafinovaných sirupoch zvyčajne nie je potrebné pridať EDTA. **POZNÁMKA** – opis metódy, ktorý nasleduje, je určený pre melasu, ale každý detail, okrem prídavku EDTA, je aplikovateľný na rafinované sirupy.

* Predchádzajúca verzia je z roku 2003.

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. 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. Rozpustíte 1 g etylénovej modrej (čistej) vo vode a doplníte na objem 100 ml.

5.4 Roztok hydroxidu sodného, približne 2 mol/l. Rozpustíte 80 g hydroxidu sodného v približne 500 ml vody. Roztok ochlaďte, preneste do 1 l odmernej banky a doplníte vodou po značku.

5.5 Roztok hydroxidu sodného, približne 1 mol/l. Rozriedte roztok 2 mol/l (5.4) v objemovom pomere 1:1.

5.6 Kyselina chlorovodíková, 6,34 mol/l, $\rho_{20} = 1,1029$ g/ml. Rozriedte 630 \pm 5 ml kyseliny chlorovodíkovej, $\rho_{20} = 1,18$ g/ml, na objem 1 l vodou a nastavte presne na koncentráciu 6,34 mol/l po titracii 5 ml s 1 mol/l NaOH, použijúc metyloranž ako indikátor.

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

5.8 Roztok disodnej soli EDTA, 40 g/l. Rozpustíte 20 g soli vo vode a doplníte na objem 500 ml.

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

5.10 Roztok fenolftaleínu, 1 g/100 ml. Rozpustíte 1 g fenolftaleínu (stupeň čistoty indikátor) v 60 ml priemyselného metylovaného liehu (denaturovaný alkohol) a doplníte na objem 100 ml vodou.

5.11 Štandardný roztok invertu, 2,5g/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. Prikrýte 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 8 dňoch pri 12-15 °C.

Zriedte roztok invertu vodou na objem približne 800 ml. Rozpustíte približne 2 g kyseliny benzoovej (5.2) v približne 75 ml horúcej vody a pridajte tento roztok do roztoku invertu. Nakoniec doplníte 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.

Prípravte neutrálny štandardný roztok invertu 2,5 g/l odpipetovaním 50 ml roztoku invertu 10 g/l do 200ml odmernej banky,

pridajte dve kvapky roztoku fenolftaleínu (5.10). Pridávajte 1 mol/l roztok hydroxidu sodného (5.5) 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 (5.7). Nakoniec doplňte objem vodou po značku a premiešajte. Tento roztok sa musí pripravovať tesne pred použitím.

5.12 Fehlingov roztok.

- **Meďnatý roztok (Roztok A).** Odvážte 138,56 g pentahydrátu síranu meďnatého a rozpustíte 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 rozpustíte v približne 500 ml vody. Roztok ochlaďte a preneste 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.

5.13 Pemza – prášková (alebo sklenené guľičky).

6 Prístrojové vybavenie

6.1 Odmerné sklo – trieda A, 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. Obrievač/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 Vodné kúpele – udržiavané na 60 ±1 °C a 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.** Vnútorný povrch všetkého odmerného skla musí byť bez stôp po masnote. Je vhodné občasnú umytie zmesou kyseliny chrómovej. Používanie špeciálneho labora-

tórneho 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 (5.13) 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 vriec 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 (5.11) a druhú 50ml byretu naplňte vodou.

Napipetujte 20 ml zmiešaného Fehlingovho roztoku (5.12) do varnej banky a pridajte z byrety 15 ml vody. Pridajte z byrety 39 ml štandardného roztoku invertu (5.11), aby ste získali celkový objem 74 ml. Pridajte malé množstvo práškovej pemzy (5.13) a niekoľko kvapiek odpeňovača (5.9). Jemným krúžením roztoky premiešajte.

Umiestnite varnú banku na ohrevné zariadenie a nechajte roztok dosiahnuť bod varu. Spustíte stopky a nechajte roztok vriec presne 2 min. Pridajte 4 kvapky roztoku metylénovej modrej (5.3). Dokončíte titráciu pomalým prídávaním invertného roztoku z byrety. Pridávajte invertný roztok v malých prídavkoch, ktoré postupne znižujete, na začiatku po 0,2 ml, potom 0,1 ml a nakoniec po kvapkách. Ukončíte 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 slabozružovej 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. Preto pridajte do každého litra Fehlingovho roztoku $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ v množstve:

$$34,64 \times (1 - \text{titer}/40,0) \quad (\text{g}).$$

Rozpustite 105 % vypočítaného množstva do roztoku a opäť titrujte. Týmto spôsobom bude nakoniec sila Fehlingovho roztoku upravená riedením, čo je jednoduchšia procedúra.

LISTY CUKROVARNICKÉ a ŘEPAŘSKÉ

Ak je titer viac ako 40 ml, v roztoku je príliš veľa medi a každý liter sa musí zriediť množstvom vody rovným:

$$1000 \times (\text{titer}/40,0 - 1) \quad (\text{ml}).$$

Pridajte 95 % vypočítaného objemu vody a opäť titrujte.

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

8.3 Príprava hydrolyzovaného roztoku melasy. Najprv pripravte roztok melasy 50 g/l. Odvážte čo najrýchlejšie do čistej navažovacej kadičky 10 ±0,2 g vzorky a zaznamenajte hmotnosť s presnosťou 0,001 g.

Do vzorky pridajte približne 15 ml vody a dokonale premiešajte malou sklenenou tyčinkou. Roztok preneste bez strát do 200ml odmernej banky. Opláchnite tyčinku a kadičku nevyhnutným množstvom vody a pridajte oplachy do odmernej banky.

Pridajte potrebné množstvo vody, aby ste zvýšili objem na približne 90 ml a premiešajte roztok krúžením banky. Nakoniec doplňte objem na 200 ml vodou o príslušnej teplote a premiešajte. Takto získate roztok melasy 50 g/l.

Odpipetujte 25 ml roztoku melasy 50g/l do 250ml odmernej banky. Pridajte 5 ml kyseliny chlorovodíkovej, 6,34 mol/l, z 25ml byrety. Roztok miešajte, aby ste predišli lokálnemu prekysleniu. Potom ponorte banku do vodného kúpeľa s teplotou 60 °C a jemne krúžte 3 min, aby teplota okyslenej melasy stúpila čo najrýchlejšie. Umiestnite zaťažovacie zariadenie (kovový kruh) okolo hrdla banky a nechajte stáť vo vodnom kúpeli 12 min. Počas tejto doby zabráňte, aby došlo ku kontaktu banky s ohrevným telesom vodného kúpeľa. Takéto priestorové usporiadanie musí byť súčasťou vodného kúpeľa.

Vyberte banku z vodného kúpeľa a po odstránení zaťažovacieho zariadenia rýchlo ochladte v studenej tečúcej vode. Zriedte roztok na približne 125 ml a pridajte niekoľko kvapiek roztoku fenoltaleínu (5.10). Potom pridajte potrebné množstvo 2 mol/l roztoku hydroxidu sodného (5.4), aby roztok získal červenkastú farbu. Počas pridávania hydroxidu roztok mierne miešajte.

Odstráňte červenú farbu roztoku pridaním niekoľkých kvapiek 0,5 mol/l roztoku kyseliny chlorovodíkovej (5.7).

Pridajte 4 ml roztoku EDTA, dobre roztok premiešajte a doplňte objem vodou pri 20 °C a premiešajte. Tento roztok zodpovedá 0,5 g melasy na 100 ml.

8.4 Titrácia vzorky. Presvedčite sa, že zariadenie na ohrev pracuje v predpísaných podmienkach. Opláchnite a naplňte byretu roztokom hydrolyzovanej melasy. Vykonajte predbežnú titráciu.

Do varnej banky napipetujte 20 ml Fehlingovho roztoku (5.12), pridajte 20 ml roztoku hydrolyzovanej melasy, malé množstvo práškovej pemzy. 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 hydrolyzovanej melasy o objeme, ktorý ste získali v prvej titrácii, 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.

POZNÁMKA – Ak je predbežná titrácia (T_1) menej ako 30 ml alebo sa jedná o medzioperačnú kontrolu, druhú titráciu (T_2) je možné vynechať.

POZNÁMKA – Kvôli vysokej hodnote celkového invertu vo Vysokej Skúšanej Melase (High Test Molasses) po hydrolyze, príprava roztoku musí byť modifikovaná nasledovne. Odpipetujte 25 ml roztoku Vysokej Skúšanej Melasy, 40 g/l, a spracujte ako bežnú melasu (pozri 8.3), okrem toho, že pridáte 2 ml EDTA pred konečnou úpravou objemu. Takto získate roztok na titráciu o koncentrácii 0,4 g/100 ml.

9 Vyjadrenie výsledkov

9.1 Výpočet. Koncentrácia celkových redukujúcich cukrov v melase po hydrolyze je daná:

$$\text{Podiel redukujúcich cukrov (ako invertný cukor)} = \frac{1000}{C \cdot T} (\%),$$

kde: C = koncentrácia melasy v skúšanom roztoku (g/100 ml),
 $T = T_3$ = titer (ml spotrebovaného roztoku melasy).

Ak $C = 0,5$ g/100 ml, potom:

$$\text{Podiel celkových redukujúcich cukrov} = \frac{2000}{T} (\%).$$

Obsah celkových redukujúcich cukrov v melase je zvyčajne medzi 50 a 60 %. Použitie roztoku hydrolyzovanej melasy o koncentrácii 0,5 g/100 ml je vhodný pre obsah celkových redukujúcich cukrov v rozpätí od 40 % (titer = 50 ml) do 80 % (titer = 25 ml).

9.2 Presnosť (4). Absolútny rozdiel medzi dvoma výsledkami získanými za podmienok opakovateľnosti by nemal byť vyšší ako 1,51 % celkových redukujúcich cukrov v melase.

Absolútny rozdiel medzi dvoma výsledkami získanými za podmienok reprodukovateľnosti by nemal byť vyšší ako 2,47 % celkových redukujúcich cukrov v melase.

10 Literatúra

1. *Správa z 18. zasadania ICUMSA*. 1982, s. 135.
2. *Správa zo 17. zasadania ICUMSA*. 1978, s. 107.
3. SCHNEIDER F. (ed.): *Sugar Analysis: ICUMSA Methods*. 1979, s. 41–55.
4. EGGLESTON G.: *Referee's Report*. General Subject 4, ICUMSA, 2006.