

METODE VZORČENJA TER FIZIKALNO-KEMIJSKE ANALIZE SADNIH IN ZELENJAVNIH IZDELKOV

1. METODE VZORČENJA SADNIH IN ZELENJAVNIH IZDELKOV

Vzorci zamrznjenega sadja, zamrznjene sadne kaše, pasteriziranega sadja, pasterizirane sadne kaše, sadnega sirupa, kompota, "sladka", sadnega sira, kandiranega sadja, suhega sadja, mešanih sadnih in zelenjavnih izdelkov, nizkokaloričnih sadnih izdelkov, citrus baze in namiznih oliv (v nadaljnjem besedilu: sadni izdelki) ter vzorce zamrznjene zelenjave, sterilizirane zelenjave, pasterizirane zelenjave, marinirane zelenjave (zelenjava v kislu), biološko konzervirane zelenjave, zelenjavnega soka, zgoščenega zelenjavnega soka, posušene zelenjave, zelenjavne omake, drugih zelenjavnih izdelkov (v nadaljnjem besedilu: zelenjavni izdelki) mora po tem pravilniku jemati uradna oseba.

Vzorci sadnih in zelenjavnih izdelkov se jemljejo:

- v proizvodnji - iz proizvodnih partij;
- v prometu - iz embalažnih enot.

Vzorci sadnih in zelenjavnih izdelkov v proizvodnji se morajo jemati tako, da je kot vzorec za analizo za analizo lahko izbrana vsaka embalažna enota proizvodnje partije.

Vzorci sadnih in zelenjavnih izdelkov v prometu se marajo jemati tako, da je kot vzorec za analizo lahko izbrana vsaka embalažna enota, ki je dana v promet.

Vzorci se morajo jemati enako v proizvodnji in v prometu.

Vzorec sadnega ali zelenjavnega izdelka, vzeti za analizo, mora kazati povprečno sestavo celotne količine izdelka, od katere je vzeti.

S proizvodno partijo (serijo) sadnih in zelenjavni izdelkov po tem pravilniku je mišljena ustrezna količina istovrstnih izdelkov, proizvedena po isti tehnologiji v enakih pogojih in pakirana v embalažne enote ustrezne mase ali prostornine z obvezno identifikacijsko oznako.

Z embalažnimi enotami sadnih in zelenjavnih izdelkov so mišljene določene količine istovrstnih izdelkov, pakirane v posamična embalažna pakiranja ustrezne mase ali prostornine z obvezno identifikacijsko oznako.

Vzorec sadnega in zelenjavnega izdelka morata sestavljati najmanj dva posamična primerka, ki morata biti identična po sestavi, z enako maso ali prostornino, ki je potrebna za fizikalne in kemične analize.

Število vzorcev sadnih in zelenjavnih izdelkov je odvisno od vrste izdelka, njegove mase ali prostornine izdelka v embalažni enoti ter od količine izdelka, od katere se vzorec vzame in se določi na podlagi tabele 1.

Če sta za vzorec vzeta več kot 2 posamična primerka, se naredi en vzorec, s tem da je lahko za vzorec vzeti vsak primerka.

Vzorec mora vsebovati najmanj dva identična primerka. En primerka pošlje uradna oseba takoj na analizo, drugi pa rabi za superanalizo.

Na zahtevo stranke se mora vzeti tudi tretji identični primerka, ki se ji da na razpolago.

Tabela 1. Število vzorcev vzetih za analizo, glede na količino, od katere je le-ta vzeta

Sadni in zelenjavni izdelki	Količina, od katere je vzeta vzorec	Število vzorcev vzetih za analizo
		1
a) embalažne enote do 1 kg	- do 3000 embalažnih enot - za vsakih nadaljnjih 1000 embalažnih enot	najmanj 1 vzorec najmanj 1 vzorec
b) embalažne enote od 1 kg do 5 kg	- do 6000 embalažnih enot - za vsakih nadaljnjih 6000 embalažnih enot	najmanj 1 vzorec najmanj 1 vzorec
c) embalažne enote nad 5 kg	- do 15000 embalažnih enot - za vsakih nadaljnjih 15000 embalažnih enot	najmanj 1 vzorec najmanj 1 vzorec

Pri jemanju vzorcev sadnih in zelenjavnih izdelkov mora uradna oseba, ki vzame vzorec za analizo, sestaviti zapisnik, v katerega vpiše podatke, pomembne za rezultat analize: kraj, pogoje hrambe, datum in čas, ko je vzorec vzeta, vrsto in količino izdelka, od katerega je vzorec vzeta, število vzete vzorcev in njihovo količino, identifikacijsko oznako in količino vzorca, ki se pošilja na analizo.

Zapisnik podpišeta uradna oseba, ki vzame vzorec in stranka.

Vzorci se zaznamujejo z oznako, ki je ni mogoče zlahka odstraniti ali zbrisati, nato se pritisne uradni pečat oziroma se da plomba.

Vzorci sadnih in zelenjavnih izdelkov se morajo pakirati tako, da so zagotovljeni pogoji hrambe, predpisani z normami kakovosti sadnih, zelenjavnih in gobjih izdelkov ter pektinskih preparatov.

2. FIZIKALNO-KEMIJSKE ANALIZE SADNIH IN ZELENJAVNIH IZDELKOV

2.1 Splošno

Analitična čistoča vseh reagentov, ki se uporabljajo za fizikalno-kemijske analize sadnih in zelenjavnih izdelkov mora biti p.a., voda pa destilirana.

Natančnost določanja z metodami fizikalno-kemičnih analiz se ugotavlja po načelih sodobne analitične prakse in se izraža kot absolutni ali relativni odklon od povprečja, dobljenega na podlagi rezultatov najmanj dveh vzporednih določanj.

2.2 Fizikalno-kemijske analize

2.2.1 Določanje topne suhe snovi - refraktometrijska metoda

Princip in uporaba

Topno suho snov v sadnih in zelenjavnih izdelkih določamo z refraktometrom pri 20 °C tako, da direktno odčitamo topno suho snov na skali refraktometra ali pa izmerimo lomni količnik raztopine, ki jo analiziramo, na podlagi katerega po tabeli določimo količino topne suhe snovi.

To metodo uporabljamo predvsem za tekoče in polgoste (kašaste) sadne in zelenjavne izdelke ter za izdelke s celimi plodovi ali deli plodov.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) refraktometer s skalo za merjenje lomnega količnika, graduirano na 0,001 in možnostjo ocene do 0,0002, ki mora biti nastavljena tako, da kaže lomni količnik destilirane vode pri 20 °C 1,3330;
- 2) refraktometer s skalo za direktno odčitavanje suhe snovi (mase saharoze) v odstotkih, graduirano na 0,5 %, z možnostjo ocene 0,25 %, ki mora biti nastavljen tako, da kaže destilirana voda pri 20 °C 0 % suhe snovi;
- 3) napravo za kroženje vode (termostat), ki v prizmah refraktometra vzdržuje konstantno temperaturo (20 °C), z natančnostjo $\pm 0,5$ °C.

Priprava vzorca za analizo

Tekoči izdelki - laboratorijski vzorec dobro premešamo in uporabimo neposredno za določanje.

Polgosti izdelki - vzorec homogeniziramo in en del pretlačimo skozi štirikrat prepognjeno gazo. Prvih nekaj kapljic zlijemo proč, ostalo tekočino pa uporabimo za določanje.

Gosti in trdni izdelki - 40 g vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g v tarirano čašo in dodamo 100 do 150 ml destilirane vode. Vsebino v čaši segrevamo na vroči kopeli in jo pustimo vreti 2 do 3 minute, nato pa močno premešamo s stekleno palčko. Po 20 minutah jo stehamo z natančnostjo 0,01 g in filtriramo skozi naguban filtrirni papir v suho posodo. Filtrat uporabimo za določanje.

Zamrznjeni izdelki - po tajanju vzorca, kolikor je potrebno, najprej odstranimo seme in peščišča, nato pa izdelek pomešamo s tekočino, ki izteče pri tajanju in ravnamo odvisno od konsistence, kot je predpisano za polgoste ali goste izdelke.

Dehidrirani izdelki - del laboratorijskega vzorca razrežemo na koščke, če je potrebno, odstranimo seme in peščišča in vsebino pazljivo premešamo 10 do 20 g vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g v tarirano čašo in dodamo pet do desetkrat večjo maso destilirane vode. Čašo z vsebino damo za 30 minut na toplo ali vrelo vodno kopel in občasno mešamo s stekleno palčko. Če je treba, segrevanje podaljšamo, dokler ne dobimo homogene zmesi. Zmes ohladimo in dobro premešamo. Po 20 minutah vsebino stehamo z natančnostjo 0,01 g in filtriramo skozi nagubani filtrirni papir. Filtrat uporabimo za določanje.

Določanje

Poskrbimo za predpisano temperaturo merjenja raztopine, ki jo analiziramo, kanemo 2 do 3 kapljice na spodnjo, nepremično prizmo refraktometra, ki jo takoj stisnemo k zgornji, premični prizmi. Svetlobni vir nastavimo tako, da dobro osvetlimo zorno polje, vrtljivo skalo pa nastavimo tako, da je mejna črta svetlega in temnega polja ostra.

Odvisno od vrste refraktometra odčitavamo lomni količnik ali odstotek saharoze.

Z istim vzorcem, pripravljenim za analizo, opravimo dve določanji.

Korekcija

Če temperatura pri določanju ni bila 20 °C $\pm 0,5$ °C, je potrebna naslednja korekcija:

- a) za refraktometer s skalo za odčitavanje lomnega količnika

$$n_D^{20} = n_D^t + 0,00013 \cdot (t - 20) \quad (1)$$

kjer je:

t = temperatura merjena v °C;

- b) za refraktometer s skalo, ki kaže odstotek mase saharoze, pa korigiramo rezultat po tabeli 2.

Izračunavanje

Za refraktometer s skalo za odčitavanje lomnega količnika odčitamo v tabeli 3 odstotek saharoze, ki ustreza odčitani vrednosti lomnega količnika, ki jo po potrebi korigiramo po formuli 1.

Če gre za tekoči ali polgosti izdelek, količino topnih suhih snovi izračunamo po naslednji formuli:

$$\frac{P \cdot m_1}{m_0} \quad (2)$$

kjer je:

P - odstotek mase topne suhe snovi v razredčeni raztopini;

m_0 - masa vzorca pred razredčitvijo, v g;

m_1 - masa vzorca po razredčitvi, v g.

Kot rezultat vzamemo aritmetično sredino dveh vzporednih merjenj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Rezultat izrazimo na eno decimalko.

Za refraktometer s skalo, ki kaže odstotek mase saharoze, je pri tekočih in polgostih izdelkih količina topne suhe snovi enaka odčitani vrednosti, če je potrebno pa jo korigiramo po tabeli 2.

Če smo vzorec razredčili, vsebnost topnih suhih snovi izračunamo po formuli (2).

Če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti, vzamemo kot rezultat aritmetično sredino dveh določanj.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 0,5 g topne suhe snovi na 100 g izdelka.

Tabela 2. Točnost odčitavanja na refraktometru s skalo, ki kaže saharozo, za temperaturo, ki ni enaka temperaturi $20\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$

Temperatura v °C	Odčitavanje na skali količine topne suhe snovi v odstotkih (m/m)									
	5	10	15	20	25	30	40	50	60	70
	Vrednost korekcije, ki jo odštejemo									
15	0,29	0,31	0,33	0,34	0,34	0,35	0,37	0,38	0,39	0,40
16	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,28	0,30	0,30	0,31	0,32
17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	0,23	0,23	0,24
18	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,16	0,16
19	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08
	Vrednost korekcije, ki jo prištejemo									
21	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
22	0,13	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16
23	0,20	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24
24	0,27	0,28	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32
25	0,35	0,36	0,37	0,38	0,38	0,39	0,40	0,40	0,40	0,40

Tabela 3. Lomni količnik in ustrezní odstopek topne suhe snovi (saharoze)

Lomni količnik	Količina topne suhe snovi (saharoze)	Lomni količnik	Količina topne suhe snovi (saharoze)	Lomni količnik	Količina topne suhe snovi (saharoze)	Lomni količnik	Količina topne suhe snovi (saharoze)
n_D^{20}	% (m/m)	n_D^{20}	% (m/m)	n_D^{20}	% (m/m)	n_D^{20}	% (m/m)
1	2	3	4	5	6	7	8
1,333 0	0	1,367 2	22	1,407 6	44	1,455 8	66
1,334 4	1	1,368 9	23	1,409 6	45	1,458 2	67
1,335 9	2	1,370 6	24			1,460 6	68
1,337 3	3	1,372 3	25	1,411 7	46	1,463 0	69
1,338 8	4			1,413 7	47	1,465 4	70
1,340 3	5	1,374 0	26	1,415 8	48		
		1,375 8	27	1,417 9	49	1,467 9	71
1,341 8	6	1,377 5	28	1,420 1	50	1,470 3	72
1,343 3	7	1,379 3	29			1,472 8	73
1,344 8	8	1,381 1	30	1,422 2	51	1,475 3	74
1,346 3	9			1,424 3	52	1,477 8	75
1,347 8	10	1,382 9	31	1,426 5	53		
		1,384 7	32	1,428 6	54	1,480 3	76
1,349 4	11	1,386 5	33	1,430 8	55	1,482 9	77
1,350 9	12	1,388 3	34			1,485 4	78
1,352 5	13	1,390 2	35	1,433 0	56	1,488 0	79
1,354 1	14			1,435 2	57	1,490 6	80
1,355 7	15	1,392 0	36	1,437 4	58		
		1,393 9	37	1,439 7	59	1,493 3	81
1,357 3	16	1,395 8	38	1,441 9	60	1,495 9	82
1,358 9	17	1,397 8	39			1,498 5	83
1,360 5	18	1,399 7	40	1,444 2	61	1,501 2	84
1,362 2	19			1,446 5	62	1,503 9	85
1,363 8	20	1,401 6	41	1,448 8	63		
		1,403 6	42	1,451 1	64		
1,365 5	21	1,405 6	43	1,453 5	65		

2.2.2 Določanje skupne suhe snovi

Princip in uporaba

Skupno suho snov sestavlja vsa količina snovi iz sestave izdelka, ki v predpisanih pogojih ne izhlapi.

Odkvisno od sestave izdelka, uporabljamo za določanje skupne suhe snovi tri postopke:

- sušenje pri 105 °C - za vse sadne in zelenjavne izdelke, razen za izdelke z veliko sladkorja oziroma eteričnih olj;
- sušenje v vakuumu - za izdelke, pri katerih dolgo sušenje spremeni njihovo sestavo, ter za izdelke, ki vsebujejo več kot 10 % vode;
- destilacijo (rekuperacijo) - za izdelke s precej zmanjšano količino vode in veliko hlapnih sestavin ter za izdelke, ki vsebujejo manj kot 1 % vode (posušeno sadje in vrtnine ter sadni in zelenjavni izdelki v prahu). 105 °C do konstantne mase.

a) Sušenje pri 105 °C

Princip

Po tem postopku določamo ostanek po sušenju pri 105 °C do konstantne mase.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) laboratorijski sušilnik;
- 2) eksikator s sušilnim sredstvom;
- 3) posode iz aluminija ali nerjavnečega jekla ali steklene valjaste posode z ravnim dnom in premerom 60 mm, visoke 25 mm, s pokrovom, ki posodo hermetično zapre in se lahko sname;
- 4) analitsko tehtnico;
- 5) stekleno palčko, katere dolžina ustreza velikosti posode;
- 6) nagubani filtrirni papir, ki zgoreva brez pepela;
- 7) pesek, ki ga uporabljamo za goste izdelke in ga moramo poprej tretirati s 5 %-no klorovodikovo kislino, izpran tako, da ni več ostankov HCl, posušen in presejan skozi sito, tako da je velikost delcev 100 do 400 µm, nato pa žarjen.

Priprava vzorca za sušenje

Tekoči ali poltekoči izdelki - Vzorec homogeniziramo z mešanjem.

Gosti, kašasti ali heterogeni izdelki - Vzorce pomešamo in vzamemo količino, ki zadostuje za najmanj dve določanji (vzorec homogeniziramo z mešanjem ali tako, da ga zdrobimo v terilnici).

Količina vzorca za analizo

Tekoči in poltekoči izdelki

Kovinsko posodo s trakom nagubanega filtrirnega papirja sušimo v sušilniku, skupaj s snetim pokrovom v predpisanih pogojih, nato posodo pokrijemo vzamemo iz sušilnika, jo ohladimo v eksikatorju in zatem stehtamo z natančnostjo 0,0002 g.

Iz pripravljenega vzorca vzamemo s pipeto 10 ml, kadar gre za tekoči in nekaj mililitrov, kadar gre za poltekoči izdelek, hitro naneseemo na filtrirni papir v stehtani posodi in posodo takoj pokrijemo. Posodo skupaj z vzorcem stehtamo z natančnostjo 0,0002 g.

Gosti (kašasti) ali heterogeni izdelki

V posušeno in stehtano kovinsko posodo damo 10 g do 20 g peska in stekleno palčko in jo nato skupaj s snetim pokrovom sušimo v predpisanih pogojih v sušilniku. Posodo pokrijemo, jo vzamemo iz sušilnika in ohladimo v eksikatorju, nato pa stehtamo z natančnostjo 0,0002 g.

V ohlajeno in stehtano posodo s peskom odtehtamo 2 g do 5 g pripravljenega vzorca, dobro premešamo s stekleno palčko in vse skupaj stehtamo z natančnostjo 0,0002 g (če težko mešamo, po tehtanju posode, dodamo malo destilirane vode).

Sušenje v sušilniku pri 105 °C ± 0,5 °C

Kovinsko posodo, v kateri je filtrirni papir in količina vzorca, ki jo analiziramo, damo v laboratorijski sušilnik, v katerem je temperatura 105 °C ± 0,5 °C in segrevamo skupaj s snetim pokrovom pri atmosferskem tlaku 1 uro. Po tehtanju sušenje nadaljujemo, dokler ni razlika po dveh zaporednih sušenjih v časovnem razmiku 0,5 ure po hlajenju in tehtanju manjša od 0,001 g. Tehtamo z natančnostjo 0,0002 g.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

b) Sušenje v vakuumskem sušilniku

Princip

Po tem postopku določamo ostanek po sušenju do konstantne mase pri znižanem tlaku (30 mbar) v toku suhega zraka s pretokom 40 l/h ali pri temperaturi 70 °C.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) laboratorijski sušilnik, v katerem je možno sušenje pri temperaturi 70 °C pri znižanem tlaku 2 KPa (30 mbar) v toku suhega zraka (10 l/h ali 90 l/h), katerega pretok izmerimo pred vhomom v sušilnik pri normalnem tlaku. Zrak se suši tako, da prehaja skozi stekleno izpiralko, v kateri je koncentrirana žveplova kislina.

Temperatura sušilnika mora biti povsod v prostoru za sušenje enaka.

Priprava vzorca za sušenje

Tekoči in poltekoči izdelki - posušeno in stehtano kovinsko posodo, v kateri sta filtrirni papir in vzorec, ki ga analiziramo, damo v vakuumski sušilnik, v katerem je temperatura 70 °C in sušimo pri znižanem tlaku (30 mbar) v toku suhega zraka s pretokom 40 l/h točno 3 ure. Po treh urah jo ohladimo v eksikatorju in stehtamo z natančnostjo ± 0,0002 g in sušimo naprej v enakih pogojih, dokler ni razlika rezultatov dveh zaporednih tehtanj, opravljenih v enournem časovnem presledku, manjša od 0,001 g.

Gosti, kašasti in heterogeni izdelki - posušeno in stehtano kovinsko posodo, v kateri so pesek, steklena palčka in vzorec, ki ga analiziramo, damo v vakuumski sušilnik, v katerem je temperatura 70 °C. Sušimo skupaj s snetim pokrovom pri znižanem tlaku (30 mbar) v toku suhega zraka s pretokom 10 l/h 3 ure. Nato posodo pokrijemo, vzamemo jo iz sušilnika, ohladimo v eksikatorju in nato stehtamo z natančnostjo 0,0002 g. Sušimo naprej v enakih pogojih, vse dokler ni razlika rezultatov dveh zaporednih tehtanj v 4-urnem časovnem razmiku manjša od 0,001 g.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje za postopka a in b

Odstotek mase skupne suhe snovi je enak:

$$\left(\frac{M_2 - M_0}{M_1 - M} \right) \cdot 100$$

kjer je:

M_0 - masa posode in pomožnega materiala (filtrirni papir, pesek, steklena palčka, pokrov) v g;

M_1 - masa iste posode z vzorcem pred sušenjem v g;

M_2 - masa iste posode z ostankom po sušenju v g.

Kot rezultat vzamemo ugotovljeno povprečno vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Rezultat izrazimo na eno decimalko.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju, na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 1 % od ugotovljene povprečne vrednosti če je skupna suha snov večja od 10 g v 100 g izdelka oziroma ne večja od 2 % - če je skupna suha snov manjša od 10 g v 100 g izdelka.

Opomba Če vsebuje izdelek malo vode, lahko rezultat izrazimo kot odstotek mase vode.

c) Določanje vode z destilacijo - po Deanu in Starku

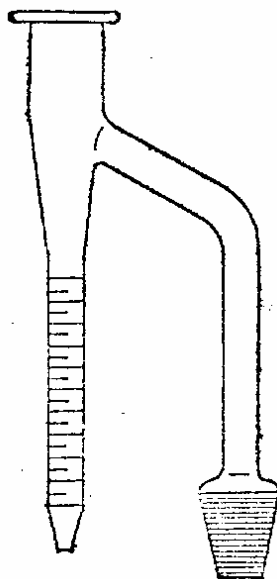
Princip

Vodo iz vzorca, ki ga analiziramo, destiliramo v specialni aparaturi s pomočjo organskega topila, ki se ne meša z vodo, nato v graduirani cevi predestilirano količino izmerimo.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) aparat po Deanu in Starku (slika 1), umerjen pred prvo uporabo;
- 2) električni aparat za segrevanje z napravo za kontrolo temperature ali vodno kopel;
- 3) analitsko tehtnico.



Slika 1. Aparat po Deanu in Starku

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- benzen;
- toluen.

Opomba Da bi iz graduirane epruvete in notranjosti kondenzatorja odstranili vsako sled maščobe, moramo aparaturo očistiti z mešanico kromžveplove kisline in izprati z destilirano vodo, nato pa z acetonom. Posušimo jo na zračnem toku brez segrevanja.

Priprava vzorca

Laboratorijski vzorec dobro premešamo.

Količina vzorca za analizo

5 g do 100 g vzorca, pripravljenega za analizo, odtehtamo (na aluminijasti foliji) z natančnostjo $\pm 0,01$ g (količina vzorca za analizo je odvisna od količine vode v njem).

Določanje

Stehtano količino vzorca za analizo damo v destilacijsko bučko in prelijemo s potrebno količino organskega topila, katerega prostornina ne sme biti večja od $2/3$ prostornine destilacijske bučke.

Aparaturo sestavimo, spustimo vodo skozi hladilnik in destiliramo.

Pri destilaciji prehajata vodna para in para organskega topila v graduirano cev, kjer se kondenzirata in lovita, prebitek topila pa se vrača. Destiliramo, dokler prehaja voda. Voda prehaja, dokler je kondenzirana tekočina motna, kapljice vode pa se izločajo in stekajo v graduirano cev.

Ko v graduirano cev voda ne priteka več in prehaja popolnoma bister brezvodni kondenzat organskega topila, destiliramo še 15 minut. Tedaj nehamo segrevati in pustimo določen čas, da se voda popolnoma loči. Pri destilaciji ostanejo kapljice vode v cevi kondenzatorja in ob stenah predložka. Te kapljice moramo na ustrezen način združiti s predestilirano vodo (s pomočjo steklene palčke z gumeno cevko ipd.).

Ko je graduirana cev popolnoma ohlajena, odčitamo prostornino vode v njej.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Skupno suho snov izrazimo kot število gramov suhe snovi v 100 g izdelka, torej:

$$100 - V$$

kjer je:

V - količina vode v izdelku, izražena v gramih na 100 g vzetega materiala, oziroma odstotek vode.

Odstotek vode izračunamo po formuli:

$$V = \frac{v \cdot 100}{\emptyset}$$

kjer je:

v - prostornina odčitane vode;

\emptyset - odtehtek v g.

2.2.3 Določanje direktno reducirajočih in skupnih sladkorjev – z Luffovo raztopino

Princip

Ta metoda temelji na principu da reducirajoči sladkorji (naravni invert) v določenih pogojih pretvorijo bakrov (II) sulfat (CuSO_4) iz Luffove raztopine v bakrov (I) oksid (Cu_2O). Nепorabljeno količino bakrovih (II) ionov retitriramo z raztopino tiosulfata. Na podlagi razlike med porabo za slepi preskus in preskus odčitamo količino sladkorja iz tabele.

Nereducirajoči disaharid (saharozo) moramo poprej invertirati oziroma hidrolizirati v reducirajoče monosaharide s kislino, nato pa določiti z Luffovo raztopino. Tako dobimo podatek o skupni količini sladkorjev v vzorcu, ki ga analiziramo (skupni invert).

Razlika med dobljenim skupnim invertom in naravnim invertom daje količino reducirajočih sladkorjev, nastalih z inverzijo saharoze.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo:

- 1) pipeti s prostornino 10 ml in 25 ml;
- 2) erlenmajerico s prostornino 300 ml;
- 3) merilne bučke s prostornino 100 ml, 200 ml in 500 ml.

Reagenti

1) Luffov reagent:

- raztopina bakrovega sulfata: 25 g bakrovega sulfata ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) raztopimo v 100 ml vode;

- raztopina citronske kisline: 50 g citronske kisline ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) raztopimo v 50 ml vode;

- raztopina natrijevega karbonata: 143 g brezvodnega natrijevega karbonata (Na_2CO_3) raztopimo v približno 300 ml tople vode in ohladimo.

V 1000 ml merilno bučko vlijemo raztopino natrijevega karbonata in dodamo raztopino citronske kisline, medtem pa previdno mešamo. Mešamo, dokler se ne neha razvijati ogljikov dioksid, nato dodamo raztopino bakrovega sulfata in dopolnimo do 1 litra. Pustimo čez noč in če je potrebno filtriramo. Kontroliramo molarlost:

$c(\text{Cu}) = 0,1 \text{ mol/l}$; $c\left(\frac{1}{2} \text{Na}_2\text{CO}_3\right) = 2 \text{ mol/l}$;

2) raztopino natrijevega tiosulfata, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$;

3) raztopino škroba: v liter vrele vode dodamo 5 g topnega škroba, pomešanega s 30 ml vode. Kuhamo 3 min, ohladimo in eventualno dodamo 10 mg merkurijodida kot konzervansa;

4) raztopino žveplove kisline, $c\left(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4\right) = 6 \text{ mol/l}$;

5) 30 %-no (m/V) raztopino kalijevega jodida;

6) plovec, prekuhan v klorovodikovi kislini, izpran in posušen;

7) izopentanol (ni nujno potreben);

8) natrijev hidroksid, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;

9) klorovodikovo kislino, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$;

10) 1 %-no raztopino fenolftaleina v etanolu;

11) raztopino Carrez I: raztopimo 21,95 g cinkovega acetata - dihidrata, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ali 24 g cinkovega acetata - trihidrata, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ in 3 g glacialne očetne kisline ter do 100 ml dopolnimo z vodo;

12) raztopino Carrez II: raztopimo 10,6 g kalijevega heksacianoferata II - trihidrata, $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ter do 100 ml dopolnimo z vodo;

13) klorovodikovo kislino, koncentrirano, $\rho_{20} = 1,19 \text{ g/cm}^3$;

14) raztopino natrijevega hidroksida, $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$.

Kontrola reagenta po Luffu:

a) S pipeto odmerimo 25 ml reagenta po Luffu, dodamo 3 g kalijevega jodida in 25 ml 6 mol/l žveplove kisline. Titriramo z 0,1 mol/l raztopino natrijevega tiosulfata v prisotnosti škroba, ki ga dodamo ob koncu titracije.

Količina porabljenega 0,1 mol/l natrijevega tiosulfata mora znašati 25 ml (če ne znaša 25 ml, moramo dodati CuSO_4).

b) V 100 ml merilno bučko odmerimo s pipeto 10 ml reagenta po Luffu in dopolnimo z vodo do oznake. V erlenmajerici pomešamo 10 ml razredčenega reagenta s 25 ml 0,1 mol/l klorovodikove kisline in segrevamo 10 minut na vreli vodni kopeli. Raztopino nato ohladimo in dopolnimo s sveže prekuhano vodo do začetne prostornine, nato pa titriramo z 0,1 mol/l raztopino natrijevega hidroksida ob navzočnosti fenolftaleina. Količina porabljene 0,1 mol/l raztopine natrijevega hidroksida mora znašati med 5,5 ml in 6,5 ml.

c) S pipeto odmerimo 10 ml razredčenega reagenta in titriramo z 0,1 mol/l raztopino klorovodikove kisline ob navzočnosti fenolftaleina, dokler ne zgine vijoličasta barva. Količina porabljene raztopine klorovodikove kisline mora znašati od 6 do 7,5 ml.

d) pH Luffovega reagenta pri temperaturi 20°C znaša 9,3 do 9,4.

Priprava vzorca

Laboratorijski vzorec pazljivo premešamo in prefiltriramo skozi vato ali filtrirni papir.

Količina vzorca za analizo

5 g pripravljenega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,001 g v 400 ml čašo in dodamo 200 ml vode. Če je potrebno, odvečne snovi odstranimo z dodatkom 5 ml raztopine Carrez I in 5 ml raztopine Carrez II. Vsakič, ko dodamo raztopino, vsebino dobro premešamo. Vso količino kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 250 ml, dopolnimo do oznake, premešamo in filtriramo. To je filtrat I.

Določanje naravnega inverta

V merilno bučko s prostornino 100 ml odmerimo s pipeto 25 ml filtrata I in dopolnimo do oznake z vodo. V erlenmajerico s prostornino 300 ml odmerimo s pipeto 25 ml Luffove raztopine in dodamo 25 ml razredčenega filtrata I (mora vsebovati 15 do 60 mg sladkorja) in plovec.

Erlenmajerico segrevamo direktno na gorilniku, dokler vsebina po 2 minutah ne zavre. Nato naj vre na mrežici z okroglo odprtino \varnothing 6 cm do 7 cm, erlenmajerico pa z gumenim zamaškom spojimo s povratnim hladilnikom. Od trenutka, ko zavre, naj vre točno 10 minut, nato vsebino bučke ohladimo v tekoči vodi, po 5 minutah pa dodamo 10 ml raztopine kalijevega jodida in postopoma 25 ml 6 mol/l raztopine žveplove kisline. Raztopino žveplove kisline moramo dodajati previdno, ker je možno, da nastane pena. Nato titriramo z 0,1 mol/l raztopino natrijevega tiosulfata ob nenehnem mešanju, dokler barva ne postane rumena. Dodamo nekaj mililitrov raztopine škroba in titriramo naprej z natrijevim tiosulfatom, po kapljicah, dokler povsem ne zgine modra barva.

V enakih pogojih moramo narediti tudi slepi preskus z enako količino Luffovega reagenta, le da dodamo namesto razredčenega filtrata 125 ml vode.

Izračunavanje naravnega inverta

Za analizo smo vzeli 5 g vzorca, razredčili pa smo ga takole:

- 5 g smo razredčili do 250 ml;
- 25 ml pa smo razredčili do 100 ml.

Če smo za titracijo slepega preskusa (S_p) porabili 24,9 ml 0,1 mol/l raztopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, za titracijo preskusa (P) pa 20,9 ml iste raztopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, izračunamo razliko ($S_p - P$) = 4,0 ml, kar ustreza vrednosti 9,7 mg naravnega inverta, odčitani iz tabele 4.

$$\text{Odstotek naravnega inverta} = \frac{250 \cdot 100 \cdot 9,7 \cdot 100}{5 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100} = 7,76$$

Določanje skupnega inverta

V merilno bučko s prostornino 100 ml odmerimo s pipeto 10 ml filtrata I, razredčimo s približno 30 ml vode in dodamo 0,5 ml koncentrirane HCl. Merilno bučko z vsebino damo na vrelo vodno kopel in vsebino invertiramo 30 minut, nato nevtraliziramo z 1 mol/l raztopino NaOH in dopolnimo do oznake z vodo.

Nadaljnji postopek je enak kot pri naravnem invertu.

Izračunavanje skupnega inverta

Za analizo smo vzeli 5 g vzorca, razredčili pa smo ga takole: 5 g smo razredčili do 250 ml, od tega smo s pipeto odmerili 10 ml in razredčili do 100 ml. Za končni postopek smo s pipeto odmerili 25 ml.

Za titracijo slepega preskusa (S_P) smo porabili 24,9 ml 0,1 mol/l raztopine $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, za titracijo preskusa (P) pa 9,9 ml iste raztopine, tako da znaša razlika ($S_P - P$) = 15 ml, kar ustreza vrednosti 38,5 mg skupnega inverta, odčitani iz tabele 4.

$$\text{Odstotek skupnega inverta} = \frac{250 \times 100 \times 38,5 \times 100}{5 \times 10 \times 25 \times 1000} = 77,0$$

Izračunavanje odstotka saharoze

Odstotek saharoze izračunamo po formuli:

$$\text{odstotek saharoze} = (b - a) \cdot 0,95$$

kjer je:

a = odstotek naravnega inverta;

b = odstotek skupnega inverta.

Opomba: Posebej moramo paziti na količino sladkorja.

Na 25 ml Luffove raztopine dodamo 25 ml razredčenega filtrata I, ki sme vsebovati najmanj 15 mg, največ pa 62 mg reducirajočih sladkorjev, izraženih kot glukoza.

Da bi preprečili peno, je priporočljivo, da vlijemo pred dodatkom žveplove kisline 1 ml izopentanola.

Tabela 4. Tabela za določanje količine sladkorja s 25 ml Luffove raztopine

Raztopina natrijevega tiosulfata $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$ v ml	Glukoza, fruktoza ali invertni sladkor	
	mg	razlika
1	2	3
1	2,4	/
2	4,8	2,4
3	7,2	2,4
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,5
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,6
12	30,2	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,7
15	38,5	2,8
16	41,3	2,8
17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	2,9
20	53,0	2,9
21	56,0	2,9
22	59,1	3,1
23	62,2	3,1

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 0,5 % relativne vrednosti.

2.2.4 Določanje mineralnih snovi

Princip in uporaba

Metoda temelji na odstranjevanju organskih primesi, dobljenih z izpiranjem in obarjanjem, njihovem sežiganju pri $600\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter tehtanju dobljenega ostanka.

Metodo uporabljamo za določanje mineralnih primesi v sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo:

- 1) sežigalno peč z napravo za regulacijo temperature pri $600\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 10\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 2) analitsko tehtnico;
- 3) homogenizator;
- 4) eksikator s sušilnim sredstvom;
- 5) čaše s prostornino 250 ml, 800 ml in 2000 ml;
- 6) sežigalno kremenovo, porcelansko in platinsko posodo;
- 7) filtrirni papir, ki zgoreva brez pepela;
- 8) lij;
- 9) Bunsenov gorilnik.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) raztopino natrijevega klorida (NaCl), 15 %-no (m/m);
- 2) klorovodikovo kislino (HCl), koncentrirano;
- 3) raztopino srebrovega nitrata $c(\text{AgNO}_3) = 0,1\text{ mol/l}$.

Priprava in količina vzorca za analizo

Laboratorijski vzorec ali originalno pakiranje sadnega ali zelenjavnega izdelka, katerega neto masa ne sme biti manjša od 500 g, homogeniziramo, da dobimo pasto in odtehtamo 500 g kot vzorec za analizo.

Opomba: Zamrznjeni izdelek odtajamo v pokriti posodi in ga skupaj s tekočino, ki izteče pri tem, štejemo za vzorec za analizo.

Pri analizi posušenih sadnih in zelenjavnih izdelkov odtehtamo 100 g vzorca za analizo, ga prenesemo v čašo s prostornino 800 ml in dodamo 400 ml vode. Zmes segrejemo do vretja in jo pustimo čez noč pri sobni temperaturi, da izdelek rehidrira.

Pred določanjem primesi vsebino dobro premešamo.

Postopek za ločevanje primesi

Pripravljeno količino vzorca za analizo prenesemo v čašo s prostornino 2000 ml, dopolnimo z vodo in premešamo s stekleno palčko. Pustimo 10 minut in dekantiramo v drugo čašo s prostornino 2000 ml. Prvo čašo ponovno napolnimo z vodo, premešamo in jo pustimo 10 minut. Nato vsebino iz druge čaše dekantiramo v tretjo čašo s prostornino 2000 ml in po 10 minutah vsebino tretje čaše dekantiramo v lij.

Postopek ponovimo tako, da vsebino prve čaše dekantiramo v drugo čašo, dopolnimo z vodo in po 10 minutah dekantiramo v tretjo čašo, iz nje pa dekantiramo v lij. Operacijo ponavljamo vse, dokler se iz vzorca za analizo ne izloči vsa pulpa. Tedaj prenesemo ostanek iz prve in druge čaše v tretjo čašo.

Seme in sadno pulpo, ki je lahko v usedlini z ostankom, izločimo z učinkovanjem z vrelo raztopino natrijevega klorida, ki ga nato odstranimo tako, da ga izperemo z vročo vodo. Da ni klorovih ionov preverimo s pomočjo raztopine srebrovega nitrata.

Ostanek kvantitativno prenesemo v lij s filtrirnim papirjem, dobro izperemo z vodo in damo skupaj s filtrirnim papirjem v sežigalno posodo, ki smo jo poprej žarili in tarirali.

Sežiganje

Sežigalno posodo skupaj s filtrirnim papirjem in ostankom nekaj minut segrevamo na rahlem plamenu gorilnika, nato pa sežigamo v sežigalni peči pri $600\text{ °C} \pm 10\text{ °C}$ približno 1 uro. Posodo nato ohladimo v eksikatorju in stehtamo z natančnostjo 0,0002 g.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Količino mineralnih primesi, izraženo kot odstotek mase, izračunamo po naslednji formuli:

$$(M_2 - M_1) \cdot \frac{100}{M_0}$$

kjer je:

M_0 – masa vzorca v g;

M_1 – masa sežigalne posode v g;

M_2 – masa sežigalne posode in pepela v g.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 3 % relativne vrednosti.

2.2.5 Določanje v klorovodikovi kislini netopnega pepela

Princip in uporaba

Metoda temelji na sežiganju vzorca pri $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ in odstranjevanju v razredčeni raztopini klorovodikove kisline netopnih mineralnih primesi.

Metodo uporabljamo za določanje količine silicijevih spojin iz tal in tistih, ki so v sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) raztopino klorovodikove kisline, ki vsebuje 10 % (m/m) klorovodika;
- 2) raztopino srebrovega nitrata, približno 17 g/l.

Aparatura in pribor

Uporabljamo naslednji pribor:

- 1) sežigalno peč z napravo za regulacijo temperature pri $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$;
- 2) analitsko tehtnico;
- 3) vodno kopel;
- 4) sušilnik z avtomatično regulacijo temperature pri $103\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$;
- 5) eksikator s sušilnim sredstvom;
- 6) kremenovo ali platinsko posodo za sežiganje vzorca;
- 7) kvantitativni filtrirni papir, ki zgori brez pepela.

Priprava vzorca - Laboratorijski vzorec pazljivo zdrobimo in homogeniziramo. Zamrznjen izdelek odtajamo in tekočino, ki pri tem izteče, primešamo.

Količina vzorca za analizo - Prazno sežigalno posodo žarimo, ohladimo v eksikatorju do sobne temperature in stehamo z natančnostjo 0,0002 g. Nato z natančnostjo 0,01 g odtehamo vanjo 4 g do 25 g pripravljenega laboratorijskega vzorca, odvisno od količine vode v njem.

Sušenje in sežiganje vzorca

Sežigalno posodo z odtehtano količino vzorca za analizo damo na vrelo vodno kopel, da voda izpari, nato pa v sušilnik, v katerem je temperatura $103\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Posušeni izdelki ni potrebno sušiti. Nato damo posodo v sežigalno peč. Sežigamo pri temperaturi $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$. Pepel mora biti bel. Posodo nato vzamemo ven, ohladimo v eksikatorju in dodamo vanjo 10 ml do 25 ml raztopine klorovodikove kisline.

Posodo pokrijemo z urnim steklom in segrevamo 15 minut na topli kopeli. Vsebino posode nato prelijemo skozi filtrirni papir v filtrirni lij. Posodo izperemo z destilirano vodo in ponovno prelijemo skozi filtrirni papir. Postopek ponavljamo, dokler iz raztopine, ki izteka iz lija, ne odstranimo vseh sledov klorovih ionov, preskus pa kontroliramo z raztopino srebrovega nitrata.

Filtrirni papir z usedlino damo ponovno v sežigalno posodo, ki smo jo poprej žarili in stehali, in sušimo pri temperaturi $103\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Nato ga damo v sežigalno peč in sežigamo 30 minut pri $525\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$.

Po hlajenju v eksikatorju posodo s pepelom stehamo z natančnostjo 0,0002 g.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanja

Količino v klorovodikovi kislini netopnega pepela izrazimo v odstotkih mase:

$$\text{odstotek v HCl} = \frac{(m_2 - m_1)}{(m_0 - m_1)} \cdot 100$$

netopnega pepela

kjer je:

m_0 - masa vzorca in sežigalne posode v g;

m_1 - masa sežigalne posode v g;

m_2 - masa sežigalne posode in pepela v g.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Rezultat izrazimo na dve decimalki.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh določanj, ki ju vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravi isti analitik ne sme biti večja od 0,01 g v klorovodikovi kislini netopnega pepela na 100 g vzorca.

2.2.6 Določanje pH vrednosti

Princip

Metoda temelji na merjenju razlike med potencialoma elektrod, potopljenih v tekočino, ki jo analiziramo.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še naslednji pribor:

- 1) pH meter, katerega skala je razdeljena na 0,1 ali še manjše enote.
Če pH meter ni opremljen s sistemom za korekcijo temperature, merimo pri 20 °C;
- 2) stekleni elektrodi, ki sta lahko različne geometrijske oblike in ju hranimo v vodi;
- 3) kalomelni elektrodi, ki vsebujeta nasičeno raztopino kalijevega klorida in ju hranimo v njej. Če obe elektrodi hranimo v vodi, mora biti nivo kalijevega klorida v njih višji od vodne gladine;
- 4) vodno kopel.

Priprava vzorca za določanje pH

Tekoči izdelki in izdelki, ki se lahko filtrirajo (tekočine iz kompota ali iz vložnih sadežev, slane tekočine, fermentirane tekočine ipd. - Laboratorijski vzorec homogeniziramo s pazljivim mešanjem.

Gosti ali polgosti izdelki in izdelki - iz katerih je težko izločiti tekočino (sirup, pire, žele ipd.). Laboratorijski vzorec premešamo, nato zdrobimo v homogenizatorju ali terilnici.

Zamrznjeni izdelki - Po odtajanju izdelka odstranimo koščice, seme in peščiča ter ravnamo, kot je opisano za tekoče in polgoste izdelke.

Posušeni izdelki - Laboratorijski vzorec zdrobimo na koščke in odstranimo koščice in peščiča. Zdrobljeni vzorec damo v čašo in dodamo dva do trikrat večjo vodno maso (če je potrebno, še več, da dobimo ustrezno konzistenco). Vsebino segrevamo 30 minut na vreli vodni kopeli in občasno mešamo s stekleno palčko. Nato vzorec premešamo in ga homogeniziramo z mletjem ali v terilnici.

Sveže pripravljene izdelki s trdno in tekočo fazo - Ravnamo, kot je opisano za tekoče in polgoste izdelke.

Količina vzorca za analizo

Za analizo vzamemo količino vzorca, ki zadostuje, da se potopita elektrodi, kar je odvisno od aparature, ki jo bomo uporabili.

Umerjanje pH metra

Za umerjanje pH metra uporabljamo puferno raztopino znanega pH pri določeni temperaturi, katerega vrednost naj bo približna vrednosti pH raztopine, ki ji določamo pH.

Če pH meter nima naprave za korekcijo temperature, moramo temperaturo puferne raztopine naravnati na $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

Določanje pH

Elektrodi potopimo v vzorec, ki ga analiziramo in sistem za korelacijo temperature pH metra nastavimo na temperaturo merjenja. Če ni sistema za korekcijo temperature, moramo temperaturo vzorca naravnati na $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

Najprej merimo po navodilu, priloženem pH metru, ki ga uporabljamo.

pH odčitavamo z natančnostjo 0,05 pH enot direktno na skali instrumenta do konstantne vrednosti.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Kot rezultat vzamemo aritmetično sredino dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Rezultat izrazimo z natančnostjo 0,05 pH enot.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravi isti analitik, ne sme biti večja od 0,1 pH enote (absolutna razlika).

Pripombe k postopku

Za umerjanje lahko uporabimo naslednje puferne raztopine:

- puferno raztopino s pH pri 20 °C 3,57 pripravimo takole: vzamemo nasičeno raztopino kislega kalijevega tartrata ($\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_5$), ki ima pri 25 °C pH 3,56 pri 30 °C pa je pH te raztopine 3,50;

- puferno raztopino s pH pri 25 °C 6,88 pripravimo takole: odtehtamo 3,402 g kislega kalijevega ortofosfata (KH_2PO_4) z natančnostjo 0,001 g in 3,549 g kislega dinatrijevega ortofosfata (Na_2HPO_4) z enako natančnostjo ter raztopimo v 1000 ml destilirane vode s temperaturo 20 °C;

pH te raztopine je pri 10 °C 6,92 pri 30 °C pa je pH te raztopine 6,85;

- puferno raztopino s pH pri 20 °C 4,00 pripravimo takole: odtehtamo 10,211 g kislega kalijevega ftalata [$\text{KH C}_6\text{H}_4(\text{COOH})_2$], ki je sušen eno uro pri temperaturi 105 °C, in ga raztopimo v 1000 ml destilirane vode s temperaturo 20 °C. pH te raztopine je pri 10 °C 4,00, pri 30 °C pa je pH te raztopine 4,01;

- puferno raztopino s pH pri 20 °C 5,00: uporabimo raztopino kislega dinatrijevega citrata, $c(\text{Na}_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7) = 0,1 \text{ mol/l}$.

2.2.7 Določanje benzojeve kisline - spektrofotometrijska metoda

Princip in uporaba

Vzorec homogeniziramo, razredčimo in nakisamo, nato ekstrahiramo benzojevo kislino z dietiletom. Po ponovni ekstrakciji z alkalijami in čiščenju z oksidacijo s kalijevim kromatom v kislem mediju določamo benzojevo kislino, raztopljeno v dietiletru, s spektrofotometrom.

Metodo uporabljamo za določanje benzojeve kisline v sadnih in zelenjavnih izdelkih, izključujoč tiste izdelke, ki vsebujejo p-klorobenzojevo kislino (ker je ta odporna proti oksidaciji) ter tiste, ki vsebujejo kromžveplovo kislino (ker se ta pri oksidaciji s kromžveplovo kislino pretvori v benzojevo kislino).

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še naslednji pribor:

- 1) merilne bučke s prostornino 50 ml;
- 2) čaše s prostornino 50 ml in 100 ml;
- 3) pipete s prostornino 20 ml;
- 4) graduirane pipete;
- 5) steklenice iz borosilikatnega stekla z brušenimi zamaški in ravnim dnom, s prostornino 250 ml;
- 6) lij ločnik s prostornino 500 ml;
- 7) vodno kopel, primerno za kontrolo temperature od 70 °C do 80 °C;
- 8) homogenizator;
- 9) spektrofotometer za določanje v ultravioletnem delu spektra, opremljen z monokromatorjem, ki omogoča merjenje z natančnostjo 0,5 nm, s silicijevimi kivetami z 10 mm ali 20 mm debelo optično plastjo (bolje 20 mm zaradi večje občutljivosti) in s pokrovom iz brušenega stekla;
- 10) analitsko tehtnico.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) vinsko kislino, kristalizirano;
- 2) natrijev hidroksid s koncentracijo približno $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$;
- 3) kalijev dikromat, raztopino 33 do 34 g/l;
- 4) raztopino žveplove kisline, dobljeno z razredčitvijo 2 prostorninskih delov koncentrirane žveplove kisline ($\rho_{20} = 1,84 \text{ g/cm}^3$) z enim prostorninskim delom vode;
- 5) dietileter, destiliran neposredno pred uporabo;
- 6) standardno raztopino benzojeve kisline, 0,100 g benzojeve kisline v 1 l dietiletra.

Priprava vzorca za analizo

Tekoči in gosti izdelki (kašasti in bistri izdelki, sirupi) - Pazljivo premešan laboratorijski vzorec homogeniziramo.

Trdni izdelki (sadje, vrtnine) - Laboratorijski vzorec razrežemo na drobne koščke, če je potrebno, odstranimo seme in peščišča in pazljivo homogeniziramo približno 40 g vzorca.

Zamrznjeni ali hitro zamrznjeni izdelki – Laboratorijski vzorec odtajamo v pokriti posodi, tekočino, ki izteče pri tem, pa mu dodamo pred homogenizacijo.

Količina vzorca za analizo

Tekoči izdelki - S pipeto odmerimo 20 ml pripravljenega vzorca, razredčimo s približno 50 ml vode in prenesemo v lij ločnik (lij ločnik A).

Opomba: Količino vzorca za analizo lahko merimo tudi po masi; približno 20 g pripravljenega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g.

Kašasti izdelki – s pipeto odmerimo 20 ml pripravljenega vzorca, damo v terilnico in razredčimo z 20 ml vode. Po dekantiranju tekočino filtriramo.

Postopek ponovimo dvakrat zaporedoma s po 20 ml vode in po dekantiranju tekočino filtriramo.

Filtrat lovimo naravnost v lij ločnik s prostornino 500 ml (lij ločnik A).

Opomba: Količino vzorca za analizo lahko merimo tudi po masi; približno 20 g pripravljenega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g.

Gosti ali trdni izdelki - Približno 10 g pripravljenega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g in skupaj s 30 ml do 40 ml vode kvantitativno prenesemo v steklenico s prostornino 250 ml. Dodamo približno 50 mg natrijevega hidrogenkarbonata, pretresemo, damo na vodno kopel s temperaturo 70 °C do 80 °C in pustimo na njej 15 do 30 minut. Vsebino steklenice filtriramo in dvakrat izperemo s po 15 ml do 20 ml vode.

Ves filtrat lovimo v lij ločnik s prostornino 500 ml (lij ločnik A) in pustimo, da se ohladi.

Opomba: Natrijev hidrogenkarbonat dodamo, da nevtraliziramo benzojevo kislino, katere sledovi se lahko izgubijo med izparevanjem.

Ekstrakcija benzojeve kisline

V lij ločnik (A), v katerem je pripravljen vzorec, dodamo 1 g vinske kisline in 60 ml dietiletra, nato pazljivo pretresemo. Pustimo stati, dokler se plasti ne ločijo, nato etrsko plast prenesemo v drug lij ločnik s prostornino 500 ml (lij ločnik B). Vodno plast iz lija ločnika (A) izperemo s 60 ml dietiletra, pustimo stati, da se plasti ločijo in etrsko plast ponovno prenesemo v lij ločnik (B).

Enako ravnamo tudi pri tretjem ločevanju, ko uporabimo za izpiranje 30 ml dietiletra. Etrsko plast prenesemo v lij ločnik (B).

Benzojevo kislino ekstrahiramo iz etrske raztopine tako, da zaporedno dodajamo najprej 10 ml, nato pa 5 ml raztopine natrijevega hidroksida, potem pa še dvakrat po 10 ml vode. Vsebino vsakič pretresemo in pustimo, da se plasti ločijo. Vodno plast spustimo v skodelico, nato jo damo na vodno kopel s temperaturo 70 °C do 80 °C in segrevamo, dokler se prostornina alkalne raztopine ne zmanjša približno za polovico, pri čemer odstranimo sledove raztopljenega dietiletra.

Čiščenje benzojeve kisline

Po hlajenju vlijemo vsebino posode v steklenico s prostornino 250 ml, v kateri je mešanica 20 ml raztopine žveplove kisline in 20 ml raztopine kalijevega dikromata. Steklenico zamašimo, pretresemo in pustimo stati najmanj 1 uro.

Opomba: V vzorcu so lahko tudi drugi konzervansi kot derivati benzojeve kisline. V tem primeru steklenico pustimo stati najmanj 3 ure, da trihidroksibenzojeva kislina popolnoma oksidira in da preprečimo vsako interferenco pri določanju. Daljši čas reakcije ne bo vplival na rezultat, ker je benzojeva kislina odporna proti tej mešanici. Če vsebuje prvotni izdelek tudi sorbinsko kislino, traja podaljšana oksidacija 24 ur, da se ta kislina popolnoma razkroji.

Ekstrakcija prečiščene benzojeve kisline

Benzojevo kislino ekstrahiramo iz te raztopine dvakrat s po 20 ml do 25 ml dietiletra, pri čemer zbiramo etrsko raztopino. Etrsko raztopino dvakrat izperemo z nekaj mililitri vode. Po skrbnem dekantiranju filtriramo skozi suh filtrirni papir in filtrat lovimo v merilno bučko s prostornino 50 ml.

Filtrirni papir nato izperemo z nekaj mililitri dietiletra, ki mu dodamo toliko raztopine za izpiranje, kolikor zadostuje, da filtrat razredčimo in bučko dopolnimo do oznake.

Določanje benzojeve kisline

S spektrofotometrom merimo ekstinkcijo etrske raztopine glede na ekstinkcijo čistega dietiletra pri 267,5 do 272 nm in 276,5 nm (glej opombo). Ekstinkcijo benzojeve kisline izračunamo po formuli:

$$E_2 - \frac{E_1 + E_3}{2}$$

kjer je:

E_1 - ekstinkcija pri 267,5 nm;

E_2 - ekstinkcija pri 272 nm;

E_3 - ekstinkcija pri 276,5 nm.

Opomba: Absorpcijski spekter etrske raztopine prečiščene benzojeve kisline preskušamo z dvema absorpcijskima maksimumoma in sicer pri 272 nm in pri 279 nm.

Benzojevo kislino, ekstrahirano z dietiletrom, določamo tako, da izmerimo relativno višino vrha pri 272 nm glede na črto, ki povezuje minimuma na abscisi pri 267,5 nm in 276,5 nm.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Priprava umeritvene krivulje

V šest merilnih bučk s prostornino 50 ml damo po 5, 7,5, 10, 12,5, 15 in 30 ml standardne raztopine benzojeve kisline. Razredčimo z dietiletrom in dopolnimo do oznake.

Dobljene raztopine vsebujejo 10, 15, 20, 25, 30 in 40 mg benzojeve kisline v 1 litru.

Nato opravimo diferenčna merjenja teh raztopin po postopku, opisanem pod točko Določanje benzojeve kisline.

Narisana krivulja kaže diferenčna merjenja (ordinata) v primerjavi z zgoraj navedenim številom miligramov benzojeve kisline na liter (abscisa).

Izračunavanje

a) Količina vzorca za analizo, vzeta s pipeto

Količino benzojeve kisline v miligramih na liter izdelka izračunamo po formuli:

$$m_2 \cdot \frac{50}{20} = 2,5 \cdot m_2$$

kjer je:

m_2 - masa benzojeve kisline, odčitana na umeritveni krivulji, v mg.

b) Količina vzorca za analizo, merjena po masi

Količino benzojeve kisline, izraženo v miligramih na kilogram izdelka, izračunamo po formuli:

$$m_2 \cdot \frac{50}{m_1}$$

kjer je:

m_1 - masa vzorca v g;

m_2 - masa benzojeve kisline, odčitana na umeritveni krivulji, v mg.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 10 mg benzojeve kisline na liter ali kilogram izdelka.

Opomba: Metoda dopušča, da določamo benzojevo kislino z natančnostjo približno 2 mg, če vsebuje izdelek manj kot 50 mg benzojeve kisline na liter ali kilogram.

2.2.8 Določanje sorbinske kisline - spektrofotometrijska metoda

Princip in uporaba

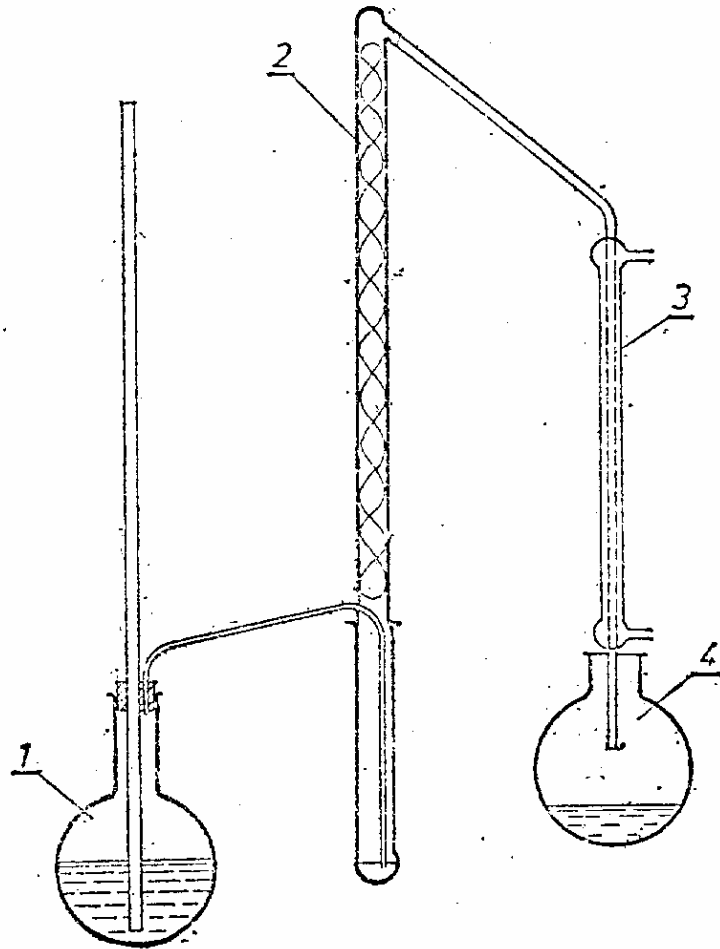
Po homogenizaciji vzorca iz sadja in vrtnin izločimo sorbinsko kislino z destilacijo z vodno paro. Nato jo oksidiramo s kromžveplovo kislino; po reakciji s tiobarbiturno kislino se pojavi rožnato rdeča barva, ki jo lahko izrazimo s spektrofotometrom pri 532 nm.

S to metodo določamo sorbinsko kislino v sadju in vrtninah ter v sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Aparatura in pribor

Uporabljamo naslednji pribor:

- 1) steklene čaše s prostornino 100 ml;
- 2) pipete s prostornino 1, 2, 5 in 50 ml;
- 3) aparaturo za destilacijo z vodno paro (slika 2);
- 4) merilne bučke s prostornino 100, 500 in 1000 ml;
- 5) erlenmajerice s prostornino 500 ml;
- 6) vodno kopel;
- 7) homogenizator;
- 8) spektrofotometer.



Slika 2. Aparatura za destilacijo z vodno paro

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) vinsko kislino, kristalizirano;
- 2) standardno raztopino sorbinske kisline (0,010 g/l), ki jo pripravimo na dva načina:
 - a) 0,100 g sorbinske kisline raztopimo v 10 do 12 ml 0,1 mol/l raztopine natrijevega hidroksida in kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 1000 ml in nato dopolnimo z vodo do oznake. 100 ml te raztopine odmerimo s pipeto v merilno bučko s prostornino 1000 ml in dopolnimo z vodo do oznake,
 - b) 134 ml kalijevega sorbata raztopimo v 1000 ml vode, 100 ml te raztopine pa odmerimo s pipeto v merilno bučko s prostornino 1000 ml in dopolnimo z vodo do oznake;
- 3) raztopino kalcijevega hidroksida s koncentracijo približno $c(1/2\text{Ca}(\text{OH})_2) = 0,04 \text{ mol/l}$;

4) raztopino kromžveplove kisline: 0,050 g kalijevega dikromata raztopimo v približno 90 ml vode in nato kvantitativno prenesemo v merilo bučko s prostornino 200 ml. Dodamo 100 ml c ($1/2 \text{ H}_2\text{SO}_4$) = 0,3 mol/l raztopine žveplove kisline in dopolnimo z vodo do oznake;

(1 l raztopine žveplove kisline s c ($1/2 \text{ H}_2\text{SO}_4$) = 0,3 mol/l vsebuje 14,7 g žveplove kisline oziroma 8,4 žveplove kisline $d^{20} = 1,84 \text{ g/cm}^3$);

5) raztopino tiobarbiturne kisline: 0,500 g tiobarbiturne kisline raztopimo v 50 ml vode in dodamo 10 ml 1 mol/l raztopine natrijevega hidroksida. Vsebino kvantitativno preneseno v merilno bučko s prostornino 100 ml, dodamo 11 ml 1 mol/l raztopine klorovodikove kisline in dopolnimo do oznake.

Ta raztopina ni obstojna in jo moramo porabiti v 5 urah po pripravi.

Priprava vzorca

Trdni izdelki (sadje in vrtnine) - Del laboratorijskega vzorca razrežemo na koščke, odstranimo seme, nato odtehtamo približno 40 g vzorca in ga homogeniziramo.

Zamrznjeni ali hitro zamrznjeni izdelki - Moramo jih poprej odtajati, tekočino, ki izteče pri tem pa jim dodati pred homogenizacijo.

Tekoči in gosti izdelki (kašasti izdelki in sirupi) - Laboratorijski vzorec homogeniziramo.

Določanje

10 ml sadnega soka ali 10 g vzorca, pripravljenega za analizo odmerimo s pipeto (z natančnostjo 0,01 g) in z najmanjšo možno količino vode kvantitativno prenesemo v destilacijsko bučko (izpiralko), nato dodamo 0,5 g vinske kisline. Destilacijsko bučko z nastavkom spojimo z aparaturo za destilacijo z vodno paro in istočasno začnemo segrevati destilacijsko bučko izpiralko in bučko za razvijanje vodne pare, pri čemer moramo paziti, da je prostornina tekočine v izpiralki konstantna (± 5 ml). Pri trdnih in gostih izdelkih moramo destilat loviti v bučko s prostornino 500 ml, dokler ni prostornina približno dvajsetkrat večja od prostornine v destilacijski bučki. Ko končamo destilacijo, izmerimo količino dobljenega destilata z graduiranim valjem. Pri tekočih izdelkih lovimo destilat v merilno bučko s prostornino 200 ml in nehamo destilirati, ko doseže destilat oznako.

Če vsebuje vzorec, ki ga analiziramo, etanol, ga moramo odstraniti takole: 25 ml destilata odmerimo s pipeto v 100 ml čašo in dodamo 1,5 ml do 2 ml raztopine kalcijevega hidroksida do alkalne reakcije. Nato damo posodo na vrelo vodno kopel in uparjamo do polovice prostornine (približno 30 minut). Ostanek kvantitativno prenesemo v 25 ml merilno bučko in dopolnimo z vodo do oznake.

Če vsebuje vzorec, ki ga analiziramo, eterična olja (kot jih vsebujejo sokovi iz plodov citrusov), jih moramo odstraniti na enak način kot etanol, vendar uparjanje nadaljujemo, dokler ni prostornina v čaši 1 ml do 2 ml. Ostanek kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 25 ml in dopolnimo do oznake.

Če so v vzorcu eterična olja česna in čebule ter pora, je postopek enak, le da destilat uparjamo, dokler ne postane suh, nato pa ga z vodo ponovno razredčimo do začetne prostornine. Postopek nadaljujemo tako, da v merilno bučko s prostornino 25 ml odmerimo s pipeto 10 ml destilata oziroma raztopine, ponovno razredčene po uparjanju.

10 ml prostornina je predvidena za vzorce, ki vsebujejo največ 200 mg/l ali kg sorbinske kisline. Če vsebuje vzorec več kot 200 mg/l ali kg sorbinske kisline, odmerimo s pipeto 2 ml ali 5 ml vzorca in dopolnimo z vodo do 10 ml. Dodamo 4 ml raztopine kromžveplove kisline in damo merilno bučko 10 minut na vrelo vodno kopel. Nato dodamo 4 ml sveže pripravljene 0,5 %-ne raztopine tiobarbiturne kisline, bučko damo ponovno na vodno kopel in jo pustimo na njej še 20 minut. Vsebino bučke ohladimo v vodni kopeli, v kateri je led, nato dopolnimo z vodo do oznake. Po 30 minutah izmerimo intenziteto nastale rožnate barve tako, da odčitamo ekstinkcijo na spektrofotometru na valovni dolžini 532 nm. Slepí preskus naredimo na enak način in z istimi reagenti, le da damo namesto 10 ml destilata 10 ml destilirane vode.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Priprava umeritvene krivulje

Standardno raztopino, ki vsebuje 10 mg sorbinske kisline na liter ali kilogram, razredčimo tako, da dodamo enemu prostorninskemu delu standardne raztopine štiri prostorninske dele vode. Razredčena raztopina vsebuje 2 mg/l sorbinske kisline. Nato v serijo šestih merilnih bučk s prostornino 50 ml odmerimo z graduirano pipeto: 0, 2, 4, 6, 8 in 10 ml razredčene raztopine in vsako bučko dopolnimo z vodo do 10 ml tako, da dodamo 10, 8, 6, 4, 2 in 0 ml vode. Dobljene raztopine vsebujejo: 0, 0'4, 0'8, 1'2, 1'6 in 2 mg sorbinske kisline na liter.

V vsako merilno bučko dodamo nato po 4 ml raztopine kromžveplove kisline in jih damo 10 minut na vrelo vodno kopel. Potem dodamo v vsako bučko po 4 ml tiobarbiturne kisline in jih damo spet na vrelo vodno kopel še za 20 minut. Vsebino bučk ohladimo v vodni kopeli, v kateri je led ter nato bučke dopolnimo z vodo do oznake.

Po 30 minutah izmerimo intenziteto nastale rožnate barve tako, da odčitamo ekstinkcijo na spektrofotometru pri valovni dolžini 532 nm.

Umeritveno krivuljo naredimo tako, da na absciso naneseemo miligrame sorbinske kisline na liter, na ordinato pa ustrezne ekstinkcije.

Izračunavanje

a) Če je vzorec merjen po prostornini, je količina sorbinske kisline v mg/l = $\frac{m_1 \cdot 200}{V_1}$

kjer je:

m_1 - masa sorbinske kisline v mg/l, odčitana z umeritvene krivulje;

V_1 - prostornina vzetega vzorca v mililitrih (najpogosteje je 10 ml, lahko pa je tudi 5 ml oziroma 2 ml);

b) če je vzorec merjen po masi, je količina sorbinske kisline v mg/kg = $\frac{m_1 \cdot V \cdot 100}{m_0 \cdot V_1}$

kjer je:

m_0 - masa vzetega vzorca v g;

m_1 - masa sorbinske kisline v litru destilata, odčitana na standardni krivulji, v mg;

V - prostornina destilata v ml;

V_1 - alikvotni del destilata (najpogosteje je 10 ml, lahko pa je tudi 5 ml oziroma 2 ml).

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 5 % (relativne vrednosti) njune srednje vrednosti.

2.2.9 Določanje etanola

Princip in uporaba

Etanol, izločen z destilacijo, oksidiramo s kalijevim bikromatom v prisotnosti žveplove kisline, nato pa prebitek kalijevega bikromata retitriramo z amonijevim železovim (II) sulfatom, pri čemer kot indikator uporabljamo železov ortofenantrolin.

Metodo uporabljamo za določanje etanola v sadnih in zelenjavnih izdelkih, ki ne vsebujejo več kot 5 % (m/m) etanola.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo:

1) destilirni aparat, sestavljen iz balona za destilacijo s prostornino 500 ml, rektifikacijske kolone in kondenzatorja z nastavkom. Kondenzat se skozi nastavek steka v merilno bučko s prostornino 100 ml.

Lahko uporabljamo tudi vse druge modele aparata za destilacijo z vodno paro, če ustrezajo naslednjim zahtevam: pri destilaciji 200 ml 10 %-nega etanola v vodi mora končni destilat po petih zaporednih destilacijah vsebovati najmanj 9,9 % etanola oziroma izguba etanola med destilacijo ne sme biti večja od 0,02 %;

2) merilno bučko s prostornino 100 ml;

3) pipete s prostornino 5 ml, 10 ml in 20 ml;

4) erlenmajerico s širokim vratom in brušenim zamaškom, ki bučko hermetično zapre, bučka mora biti čista in ne sme biti mastna;

5) 50 ml bireto s petelinčkom.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

1) žveplovo kislino z relativno prostorninsko maso $1,836 \text{ g/cm}^3$;

2) raztopino žveplove kisline z relativno prostorninsko maso $1,488 \text{ g/cm}^3$ - raztopino 500 ml koncentrirane žveplove kisline ($\rho_{20} = 1,836 \text{ g/cm}^3$) v 1 l raztopine;

3) kalcijev hidroksid, Ca(OH)_2 - suspenzijo, dobljeno z gašenjem 110 g do 112 g CaO v 1 l vode (pred uporabo dobro pretresemo);

4) raztopino kalijevega bikromata: $42,572 \text{ g K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ na liter (1 ml te raztopine ustreza 0,01 g etanola);

5) raztopino amonijevega železovega (II) sulfata heksahidrata $[(\text{NH}_4)_2 \text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$: $170,2 \text{ g/l}$ železovega (II) sulfata razdrobimo v malo vode, dodamo 20 ml žveplove kisline ($1,836 \text{ g/cm}^3$) in dopolnimo z destilirano vodo do 1 l.

Raztopino stabiliziramo tako, da dodamo aluminij. V 2 ml te raztopine ustreza 1 ml raztopine kalijevega bikromata;

6) indikator železov ortofenantrolin: raztopimo $0,695 \text{ g FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ v 100 ml vode in dodamo 1,485 g ortofenantrolina. Segrevamo, da se hitreje raztopi. Raztopina je obstojna.

Priprava vzorca

Gosti in trdni izdelki (sadje in vrtnine) - Laboratorijski vzorec homogeniziramo, pri čemer pazimo da se ne poveča temperatura vzorca.

Tekoči izdelki (pulpa, sirupi ipd.) - Vzorec dobro premešamo in homogeniziramo.

Določanje

Količina vzorca za analizo, stehtana z natančnostjo 0,01 g, mora biti takšna, da je količina etanola v 100 ml destilata manjša od 1 g.

Stehtano količino vzorca razredčimo s približno 50 ml vode in kvantitativno prenesemo v balon za destilacijo, pri čemer uporabimo destilirano vodo (največ 120 ml).

S suspenzijo Ca(OH)_2 vzorec nevtraliziramo do pH 8. Da bi bilo vrenje enakomerno, dodamo nekaj steklenih kroglic. Destilacijo naravnamo tako, da destilat izteka iz kondenzatorja s temperaturo $15 \text{ }^\circ\text{C}$ do $20 \text{ }^\circ\text{C}$ v merilno bučko, v kateri je 10 ml vode. Destiliramo, dokler ne dobimo 80 ml do 85 ml destilata. Kondenzator in nastavek izperemo z nekaj kapljicami vode, nato merilno bučko dopolnimo do oznake (100 ml).

V erlenmajerico s prostornino 250 ml in brušenim zamaškom izmerimo s pipeto 20 ml raztopine kalijevega bikromata (V_1) in 20 ml žveplove kisline ($\rho_{20} = 1,836 \text{ g/cm}^3$). Ohlajeni zmesi dodamo 10 ml destilata (V_0) (pri tem posodo hladimo od zunaj). Bučko zamašimo z zamaškom, na katerega obrušeni del kanemo kapljico žveplove kisline. Vsebino dobro pretresemo in počakamo najmanj 30 minut, medtem pa od časa do časa pretresemo.

Ko dodajamo destilat, ne sme zmes dobiti zelene barve, tj. v njej mora biti prebitok bikromata. Če dobi zmes zeleno barvo, moramo oksidacijo ponoviti z manjšo količino destilata (npr. 5 ml), če je potrebno pa moramo ponoviti destilacijo z manjšo količino vzorca za analizo.

Vsako spremembo količine destilata in vzorca upoštevamo pri izračunavanju količine etanola. Zmes pustimo stati 30 minut v zamašeni erlenmajerici, nato jo titriramo z raztopino amonijevega železovega (II) sulfata, pri čemer postaja čedalje bolj zelena, dokler ne preide v zeleno modrikasto. Tedaj dodamo iz steklenice s kapalko 4 kapljice indikatorja železovega ortofenantrolina in titriramo naprej, dokler zeleno modra barva ne preide v rdeče rjavo. Zadnja sprememba je zelo hitra (1 kapljica) in pomeni konec titracije (V_2).

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Slepi preskus

Slepi preskus naredimo v enakih pogojih kot preskus, le da dodamo namesto vzorca destilirano vodo. Retitrirano količino amonijevega železovega (II) sulfata označimo kot V_3 .

Opomba: Če vsebuje vzorec premajhno količino etanola, uporabimo za oksidacijo manjšo količino kalijevega bikromata (npr. 5 ml in 10 ml), s tem da dodamo 15 ml oziroma 10 ml vode, kar moramo upoštevati pri izračunavanju.

Izračunavanje

a) Količina etanola pri trdnih izdelkih

$$\text{Količina etanola v odstotkih} = 0,01 \cdot V_1 \cdot \frac{V_3 - V_2}{V_3} \cdot \frac{100}{V_0} \cdot \frac{100}{m}$$

kjer je:

m - masa vzorca v g;

V_0 - prostornina destilata v ml;

V_1 - prostornina raztopine kalijevega bikromata, porabljenega za oksidacijo, v ml;

V_2 - prostornina raztopine amonijevega železovega (II) sulfata, porabljenega za retitracijo bikromata, v ml;

V_3 - prostornina raztopine amonijevega železovega (II) sulfata, porabljenega za titracijo pri slepem preskusu, v ml.

b) Količina etanola pri tekočih izdelkih

$$\text{Količina etanola v g/100 ml} = 0,01 \cdot V_1 \cdot \frac{V_3 - V_2}{V_3} \cdot \frac{100}{V_0} \cdot \frac{100}{V_4}$$

kjer imajo V_0 , V_1 , V_2 in V_3 enak pomen kot pri prejšnjem izračunavanju, V_4 pa je prostornina vzorca v ml.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcju opravil isti analitik, ne sme biti večja od 1 % relativne vrednosti povprečno ugotovljene vrednosti.

Opomba: Če so v destilatu etanola olja, je destilat moten, s kapljicami olja po površini. V takem primeru prenesemo destilat v merilno bučko s prostornino 100 ml in pustimo stati dve uri. Nato ga dopolnimo z vodo tako, da je oznaka med obema plastema in pustimo še dve uri. Nabrano količino olja odstranimo tako, da jo odsesamo s pipeto ali filtriramo skozi filtrirni papir, pri čemer lij pokrijemo z urnim steklom. Filtrat, ki je še moten, damo z 10 g granuliranega polistirena (zrnca 1-2 mm) v erlenmajerico, premešamo in tresemo v zamašeni erlenmajerici 15 minut, zatem pa ga precedimo skozi gazo v pokritem liju. Raztopina mora biti bistra in skoraj povsem brez vonja. Določanje nadaljujemo po že opisanem postopku te metode.

2.2.10 Določanje kloridov v vrtninah

Princip in uporaba

Skupne kloride določamo tako, da dodamo prebitek standardne raztopine srebrovega nitrata znanega titra. Prebitek srebrovega nitrata retitriramo z raztopino kalijevega tiocianata znanega titra.

Količino kloridov izrazimo v odstotkih mase natrijevega klorida.

Metodo uporabljamo za določanje skupnih kloridov v zelenjavnih izdelkih.

Če vsebuje izdelek naravne pigmente - antocianine, metodo uporabljamo z opisano modifikacijo.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) homogenizator ali terilnico (možnar);
- 2) čašo s prostornino 250 ml;
- 3) merilni bučki s prostornino 100 ml in 250 ml;
- 4) polnilne pipete s prostornino 1, 5, 20 in 25 ml;
- 5) erlenmajerico s prostornino 250 ml;
- 6) bireto s prostornino 25 ml.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) raztopino srebrovega nitrata $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$ srebrov nitrat sušimo 2 uri pri temperaturi $150 \text{ }^\circ\text{C}$ in pustimo, da se ohladi v eksikatorju. 16,9875 g srebrovega nitrata raztopimo v vodi v 1000 ml merilni bučki in dopolnimo z vodo do oznake;
- 2) železov (III) amonijev sulfat $[(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{SO}_4 \cdot \text{Fe}_2 (\text{SO}_4)_3 \cdot 24 \text{ H}_2\text{O}]$: uporabimo nasičeno raztopino, nakisano s 5 ml dušikove kisline ($\rho_{20} = 1,39 \text{ do } 1,42 \text{ g/cm}^3$) za 100 ml raztopine;
- 3) raztopino kalijevega tiocianata $s c(\text{KSCN}) = 0,1 \text{ mol/l}$: v merilni bučki s prostornino 1000 ml raztopimo v vodi 9,72 g kalijevega tiocianata in dopolnimo z vodo do oznake. To raztopino standardiziramo z raztopino srebrovega nitrata (1) v prisotnosti raztopine železovega (III) amonijevega sulfata (2);
- 4) nitrobenzen;
- 5) raztopino dušikove kisline: en prostorninski del dušikove kisline ($\rho_{20} = 1,39 \text{ do } 1,42 \text{ g/cm}^3$) raztopimo v treh prostorninskih delih vode.

Priprava vzorca

Izdelki z jasno izraženo tekočo in trdno fazo - Če je specifikacija, določamo v fazi, ki je navedena v specifikaciji. Če ni specifikacije, ves laboratorijski vzorec premešamo in določamo na homogeniziranem vzorcu.

Tekoči izdelki - Vzorec dobro premešamo.

Gosti, kašasti in trdni izdelki - Vzorec zmeljemo ali homogeniziramo v homogenizatorju ali terilnici ter dobro premešamo.

Določanje

25 g pripravljenega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g v čašo s prostornino 250 ml in med mešanjem dodamo 100 ml tople vode. Mešamo naprej, dokler vsebina ne postane homogena, nato segrevamo, da zavre in pustimo vreti eno minuto. Vsebino čaše ohladimo in kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 250 ml ter nato dopolnimo z vodo do oznake. Dobro premešamo, pustimo 15 minut, nato pa filtriramo skozi naguban filtrirni papir v isto in suho erlenmajerico. To je filtrat F.

Titracija

V erlenmajerico odmerimo s pipeto 20 ml filtrata F in dodamo 5 ml raztopine dušikove kisline in 5 ml raztopine železovega (III) amonijevega sulfata. Nato z bireto dodamo določeno prostornino (V_1) raztopine srebrovega nitrata, ki zadostuje, da obori klorove ione in 5 ml do 10 ml prebitka. Dodamo 3 ml nitrobenzena in dobro pretresemo, da usedlina koagulira.

Opomba: Pri delu z nitrobenzenom, ki je toksičen, moramo biti previdni.

Prebitek srebrovega nitrata retitriramo s kalijevim tiocianatom, dokler ne dobimo rdeče rjave oborine, ki mora biti obstojna 5 minut. Označimo prostornino porabljenega raztopine kalijevega tiocianata (V_2).

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Količino kloridov, izraženo kot odstotek natrijevega klorida, izračunamo po formuli:

$$\frac{0,5845 \cdot (V_1 - V_2) \cdot V_3}{m \cdot V_4}$$

kjer je:

V_1 - prostornina porabljenega srebrovega nitrata v ml;

V_2 - prostornina porabljenega kalijevega tiocianata v ml;

V_3 - prostornina razredčenega filtrata v ml;

V_4 - prostornina alikvotnega dela razredčenega filtrata, vzetega za titracijo, v ml;

m - masa vzetega vzorca v g.

Opomba: 1) Če raztopina kalijevega tiocianata ni točno 0,1 mol/l, vzamemo za V_2 ustrezno korekturo.

2) Če je $V_3 = 250$ ml in $V_4 = 20$ ml, lahko uporabimo enostavnejšo formulo:

$$\frac{7,30625 \cdot (V_1 - V_2)}{m}$$

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti. Rezultat izrazimo na dve decimalki.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcem opravil isti analitik, ne sme biti večja od 0,05 g natrijevega klorida na 100 g izdelka.

Opomba: Če so v izdelku antocianini, uporabljamo pri določanju kloridov modificirano metodo, po kateri se antocianini pred titracijo odstranijo na sledeč način:

Reagenti

Poleg reagentov, navedenih pri metodi pod točko 2.10, uporabljamo še:

- 1) raztopino kalijevega permanganata (KMnO_4), nasičeno: približno 6,5 g kalijevega permanganata raztopimo v 100 ml vode;
- 2) natrijev nitrit ali kalijev nitrit, kristaliziran.

Postopek

V erlenmajerico odmerimo s pipeto 20 ml filtrata F (dobljenega po postopku, opisanem pri metodi za določanje kloridov), nato dodamo 20 ml dušikove kisline in točno 20 ml raztopine srebrovega nitrata (V_1). Zmes segrevamo, dokler ne zavre, in pustimo vreti dve do tri minute. Segrevamo naprej in postopoma dodajamo 0,5 ml do 1 ml KMnO_4 , dokler ne dodamo skupaj 5 ml do 10 ml. Raztopina mora postati brezbarvna. Kolikor pa ne postane brezbarvna, pa dodamo nekaj kristalčkov natrijevega nitrata ali kalijevega nitrata, da se razbarva. Raztopino pustimo vreti še 5 minut, jo ohladimo, vlijemo 5 ml kisle raztopine železovega (III) amonijevega sulfata [$(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{SO}_4\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$] in postopek določanja nadaljujemo, kot je opisano pod točko Titracija, le da ni treba dodajati nitrobenzena.

2.2.11 Določanje pektinov s kolorimetrijsko metodo

Princip in uporaba

Skupne pektinske snovi oborimo z etanolom. Ko dodamo karbazol, se pojavi rdeča barva, ki jo izmerimo s spektrofotometrom na 535 nm.

To metodo uporabljamo za določanje pektinskih snovi v sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Aparatura in pribor

Poleg običajnega laboratorijskega pribora uporabljamo še:

- 1) fotometer ali spektrofotometer za delo v vidnem delu spektra;
- 2) centrifugo s 3.000 vrtljaji v minuti, ki ima graduirane centrifugirne epruvete, s prostornino 50 ml;
- 3) homogenizator;
- 4) vodno kopel s termoregulatorjem;
- 5) bučke z okroglim dnom in brušenim vratom s prostornino 1 ali 2 l, povratni hladilnik z brušenim nastavkom;
- 6) stekleno palčko z gumeno cevko na koncu;
- 7) jeklenko s komprimiranim zrakom ali dušikom z redukcijskim ventilom;
- 8) led;
- 9) bireto s prostornino 50 ml;
- 10) epruvete z debelimi stenami in steklenimi brušenimi zamaški, bakreno držalo s 4 epruvetami, ki lahko rabi za vzdrževanje temperature, in leseno stojalo za epruvete;
- 11) merilne bučke s prostornino 100 ml;
- 12) graduirane pipete s prostornino 1 ml in 5 ml;
- 13) polnilne pipete s prostornino 1 ml, 10 ml in 15 ml;
- 14) analitsko tehtnico;
- 15) filtrirni papir.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) etanol, absolutni;
- 2) etanol, 96 %-ni;
- 3) etanol, 63 %-ni: 100 ml destilirane vode pomešamo z 200 ml 96 %-nega etanola.

Čiščenje 96 %-nega etanola: 1 liter 96 %-nega etanola s 4 g cinka v prahu in 2 ml koncentrirane žveplove kisline kuhamo 24 ur v bučki z okroglim dnom, spojeni s povratnim hladilnikom, destiliramo, nato pa dodamo 4 g cinka v prahu in 4 g kalijevega hidroksida;

4) raztopino natrijevega hidroksida s $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$;

5) žveplovo kislino, koncentrirano $\rho_{20} = 1,83 \text{ g/ml}$; če dodamo karbazol, se ne sme obarvati;

6) boraksovo raztopino: 0,250 g boraksa ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$) raztopimo v 100 ml H_2SO_4 . Segrevamo, dokler se ne pojavi žveplov dioksid (SO_2), nato dodamo 0,15 g karbamida [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$]. Ohladimo in prenesemo v merilno bučko s prostornino 100 ml, nato dopolnimo z žveplovo kislino do oznake $\rho_{20} = 1,839 \text{ g/cm}^3$;

7) raztopino 0,15 %-nega karbazola ($\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_4\text{C}_6\text{H}_4$) v etanolu: v merilni bučki s prostornino 100 ml raztopimo v etanolu 0,15 g karbazola, poprej kristaliziranega v toluenu in dopolnimo z etanolom (absolutnim) do oznake. Z mešanjem 0,2 ml karbazolove raztopine, 6 ml žveplove kisline in 1 ml destilirane vode moramo dobiti raztopino, ki je bistra približno kot voda.

(Karbazolovo raztopino hranimo v temni steklenici pri temperaturi $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Raztopina je obstojna 12 tednov);

8) fosforjev pentoksid;

9) galakturonsko kislino, monohidrat [$(\text{HOCH}/\text{CHOH})_3 \cdot \text{CH}(\text{COOH}) \cdot \text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$] z molekulsko maso 212,16. Čistočo kisline preverimo tako, da 0,500 g kisline titriramo z 0,1 mol/l natrijevega hidroksida do pH 8;

10) standardno raztopino: odtehtamo 0,1205 g galakturonske kisline, ki smo jo s P_2O_5 5 ur sušili v vakuumu pri $20 \text{ }^\circ\text{C}$ in kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 1000 ml. Dodamo 0,5 ml raztopine natrijevega hidroksida in dopolnimo z destilirano vodo do oznake. Pretresemo in pustimo čez noč.

1 ml te raztopine vsebuje $100 \text{ } \mu\text{g}$ anhidrida galakturonske kisline.

V 7 merilnih bučk s prostornino 100 ml odmerimo s pipeto po: 10, 20, 30, 40, 50, 60 in 70 ml standardne raztopine. Dopolnimo do oznake z destilirano vodo in pretresemo. Dobljena raztopina vsebuje 10, 20, 30, 40, 60, 50, 60 in 70 $\mu\text{g/ml}$ anhidrida galakturonske kisline.

Postopek določanja

OBARJANJE SKUPNIH PEKTINOV

Priprava vzorca

Ko sadje in vrtnine operemo in osušimo, homogeniziramo laboratorijski vzorec 3 minute v homogenizatorju.

Odvisno od količine pektinskih snovi v izdelku, odtehtamo 0,5 g do 15 g vzorca, pripravljenega za analizo in damo v centrifugirno epruveto (vzamemo 10 g svežega sadja ali vrtnin, 15 ml soka, 4 g zgoščenega sadnega soka ali citrus baze oziroma sadne baze, 2 g paradižnikovega koncentrata oziroma 0,5 g do 1 g izdelkov, obogatenih s pektinom).

Goste in pastozne izdelke razredčimo z 12 ml destilirane vode. Epruveto dopolnimo do 40 ml s 96 %-nim etanolom, ki smo ga poprej na vodni kopeli ob občasnem mešanju s stekleno palčko segreli do $75 \text{ }^\circ\text{C}$. Stekleno palčko nato izperemo s 5 ml 96 %-nega etanola.

Epruveto uravnotežimo in vsebino centrifugiramo 15 minut s 3000 vrtljaji v minuti. Z dekantiranjem odstranimo etanol iz usedline. Nato usedlino skupnih pektinov izperemo tako, da uporabimo namesto 96 %-nega etanola 63 %-ni etanol.

Usedlino izpiramo, dokler ne ugotovimo, da v dekantiranem etanolu ni sladkorja (reakcija s Fehlingovo raztopino).

Vso usedlino kvantitativno prenesemo z destilirano vodo v merilno bučko s prostornino 100 ml. Dodamo 5 ml 1 mol/l raztopine natrijevega hidroksida in dopolnimo z destilirano vodo do oznake. Vsebino premešamo in pustimo 15 minut, medtem pa jo od časa do časa premešamo. Tekočino nato filtriramo in vzamemo alikvotni del filtrata za kolorimetrijsko določanje.

Kolorimetrijsko določanje pektinskih snovi

V tri epruvete s steklenimi brušenimi zamaški odmerimo s pipeto po 6 ml koncentrirane žveplove kisline, ohlajene pri 0 °C. Dodajamo po kapljicah 1 ml raztopine, ki jo analiziramo in pri temperaturi, nižji od 4 °C, močno pretresemo.

Epruvete nato segrevamo na vroči vodni kopeli točno 6 minut, nato jih hladimo v ledu 15 minut. V dve epruveti dodamo po 0,2 ml karbazolove raztopine (15 %), v tretjo pa vlijemo 0,2 ml absolutnega etanola in dobro premešamo.

Vse tri epruvete pustimo 30 minut pri 25 °C (v termostatu), nato pa v 10 ml kiveti pri valovni dolžini 535 nm izmerimo optično gostoto rdeče obarvane raztopine proti slepemu preskusu.

Priprava umeritvene krivulje

Odmerimo po 1 ml standardne raztopine in ravnamo, kot je opisano pri kolorimetrijskem določanju. Pripravimo umeritveno krivuljo $A = f(c)$. Na abscisi označimo koncentracije anhidrida galakturonske kisline, izražene v µg/ml, na ordinato pa nanese optično gostoto (E).

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanja.

Izračunavanje

Količina anhidrida galakturonske kisline (x), izražena v mg/kg ali mg/l izdelka, je enaka:

$$x = \frac{A \cdot 100}{\emptyset}$$

kjer je:

A - količina pektinske snovi, odčitana na umeritveni krivulji;

Ø - stehtana količina vzorca, vzeta za analizo v g ali ml.

Izračunano vrednost, pomnoženo s koeficientom 1,37, pretvorimo v mg pektinov/kg izdelka.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 6 % povprečno ugotovljene vrednosti.

2.2.12 Določanje alkalnosti skupnega in v vodi topnega pepela

Definicija

Z alkalnostjo skupnega pepela so mišljeni miliekvivalenti kisline, potrebni za nevtralizacijo pepela iz 100 g vzorca.

Alkalnost skupnega pepela lahko definiramo tudi kot alkalično število. Z alkaličnim številom je mišljeno število mililitrov enomolske monobazne kisline, potrebnih za nevtralizacijo 1 g pepela iz vzorca.

Z alkalnostjo v vodi topnega pepela je mišljeno število mililitrov enomolske monobazne kisline, potrebnih za nevtralizacijo vodnega ekstrakta pepela iz 100 g vzorca.

Princip in uporaba

Skupni pepel

Vzorec sežgemo pri temperaturi $525 \text{ °C} \pm 25 \text{ °C}$, nato količino alkalij v pepelu nevtraliziramo z žveplovo kislino znanega titra z metiloranžem kot indikatorjem.

V vodi topen pepel

Vzorec sežgemo pri temperaturi $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, pepel pa ekstrahiramo z vročo vodo. Vodni ekstrakt pepela nevtraliziramo z žveplovo kislino znanega titra z metiloranžem kot indikatorjem.

Metodo uporabljamo za določanje alkalnosti skupnega in v vodi topnega pepela v sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) sežigalno posodo iz kremenca ali drugega proti koroziji odpornega materiala;
- 2) električno mufelsko peč s termoregulacijo $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- 3) eksikator s sušilnim sredstvom;
- 4) bireto;
- 5) analitsko tehtnico.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) raztopino žveplove kisline znanega titra, $c(1/2\text{ H}_2\text{SO}_4) = 0,1\text{ mol/l}$;
- 2) raztopino natrijevega hidroksida znanega titra, $c(\text{NaOH}) = 0,1\text{ mol/l}$ (za skupni pepel);
- 3) indikator: dodamo 4 ml raztopine metilenskega modrila s koncentracijo 10 g/l na 100 ml raztopine metiloranža s koncentracijo 1 g/l (znan kot indikator Toshio).

A) Določanje alkalnosti skupnega pepela

Priprava vzorca

Laboratorijski vzorec dobro premešamo in homogeniziramo. Zamrznjeni vzorec poprej odtajamo, tekočino, ki pri tem izteče, pa mu dodajamo pred homogenizacijo.

Količina vzorca za analizo

5 g do 10 g pripravljenega vzorca odtehtamo z natančnostjo 1 mg v sežigalno posodo, ki smo jo poprej žarili in stehali z natančnostjo 0,1 mg.

Opomba: Če gre za tekoči izdelek, merimo količino vzorca za analizo po prostornini s 5 ml do 10 ml pipeto, kar upoštevamo pri izračunavanju na 100 ml vzetega vzorca.

Sežiganje

Vzorec v posodi, če je treba, poprej uparimo, nato pa sežigamo v mufelski peči pri $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokler pepel ne postane sivo bel. Posodo s pepelom ohladimo v eksikatorju in stehamo z natančnostjo 0,1 mg.

V pepel dodamo 10 ml do 15 ml žveplove kisline znanega titra. To je prostornina V. Dobljeno raztopino s toplo vodo kvantitativno prenesemo v erlenmajerico s prostornino 200 ml in segrevamo, dokler ne zavre. Vsebinsko nato ohladimo, dodamo 2 kapljici indikatorja in titriramo z 0,1 mol/l raztopino natrijevega hidroksida do spremembe barve. To je prostornina V_1 . Z raztopino 0,1 mol/l H_2SO_4 titriramo do nevtralnega odtenka (V_2).

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

B) Določanje alkalnosti v vodi topnega pepela

Priprava vzorca

Vzorec pripravimo enako kot vzorec pri določanju alkalnosti skupnega pepela.

Določanje

V sežigalno posodico, ki smo jo poprej žarili v mufelski peči pri $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, ohladili in stehali z natančnostjo 0,1 mg, damo 5 g do 10 g pripravljenega vzorca (stehtanega z natančnostjo 1 mg).

Opomba: Če gre za tekoči izdelek, merimo količino vzorca za analizo po prostornini s 5 ml do 10 ml pipeto, kar upoštevamo pri izračunavanju na 100 ml vzetega vzorca.

Sežiganje

Posodo z vzorcem sežigamo v mufelski peči pri $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokler pepel ne postane sivo bel. Posodo s pepelom ohladimo v eksikatorju in stehamo z natančnostjo 0,1 mg.

Ekstrakcija s toplo vodo

V pepel dodamo 20 ml vroče vode in filtriramo skozi filtrirni papir; medtem pa nekajkrat izpiramo z vročo vodo. Dobljeni filtrat ohladimo, dodamo dve do tri kapljice indikatorja in titriramo z 0,1 mol/l raztopino žveplove kisline. To je prostornina V_1 .

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

a) Alkalnost skupnega pepela

Alkalnost skupnega pepela, izraženo v milimolih na 100 g vzorca, izračunamo po formuli:

$$\frac{(V - V_1 + V_2)}{10} \cdot \frac{100}{m}$$

Alkalično število skupnega pepela v vzorcu, izraženo v mililitrih enomolske monobazne kisline na 1 g pepela, izračunamo po formuli:

$$\frac{(V - V_1 + V_2)}{10} \cdot \frac{100}{m_1}$$

kjer je:

V - prostornina dodane raztopine žveplove kisline c ($1/2\text{ H}_2\text{SO}_4$) = 0,1 mol/l v ml;

V_1 - prostornina raztopine natrijevega hidroksida c (NaOH) = 0,1 mol/l, porabljene za titracijo, v ml;

V_2 - prostornina raztopine žveplove kisline c ($1/2\text{ H}_2\text{SO}_4$) = 0,1 mol/l v ml;

m - masa vzorca v g;

m_1 - masa pepela v g.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

b) Alkalnost v vodi topnega pepela

Alkalnost v vodi topnega pepela, izraženo v milimolih na 100 g vzorca, izračunamo po formuli:

$$\frac{V'_1}{10} \times \frac{100}{m}$$

Alkalično število, izraženo v mililitrih enomolske raztopine monobazne kisline na 1 g pepela, izračunamo po formuli:

$$\frac{V'_1}{10} \times \frac{100}{m'}$$

kjer je:

V'_1 - prostornina raztopine žveplove kisline c ($1/2 \text{ H}_2\text{SO}_4$) = 0,1 mol/l v ml uporabljena za titracijo v vodi topnega pepela v ml;

m' - masa vzorca, vzetega za določanje v vodi topnega pepela v g;

m - masa pepela, dobljenega s sežiganjem pri določanju v vodi topnega pepela, v g.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 0,1 miliekvivalenta na 100 g vzorca ali na 1 g pepela.

2.2.13 Določanje eteričnih olj

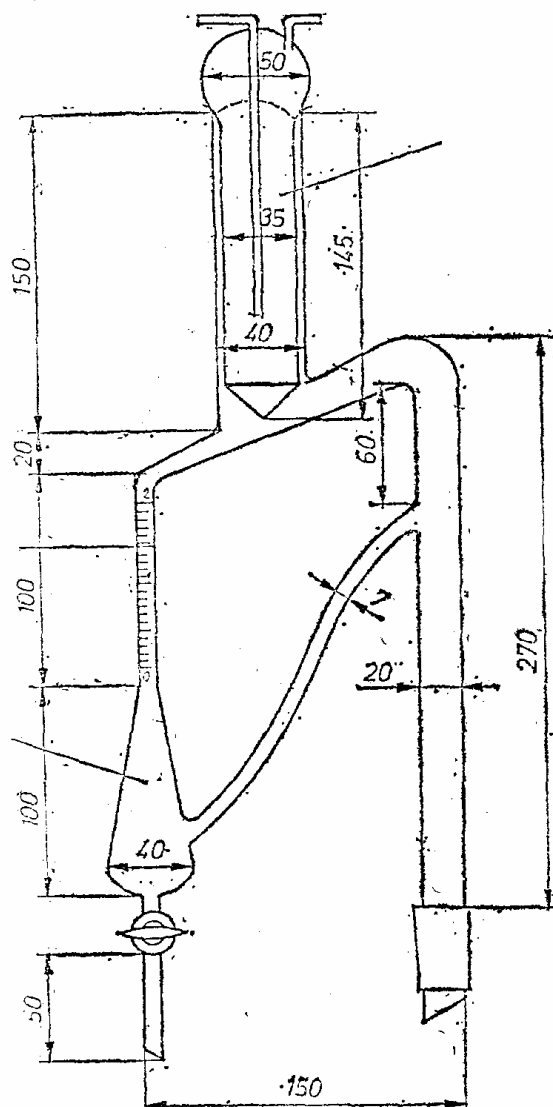
Princip in uporaba

Ta metoda temelji na izločanju eteričnih olj pri podaljšanem vretju vzorca, ki ga analiziramo, z vodno paro, ki se kot destilat kondenzira in steka v graduirano cev. Vzorec je lahko razredčen ali ne. Po hlajenju direktno odčitamo prostornino eteričnih olj izločenih iz destilata. Metodo uporabljamo za določanje eteričnih olj v izdelkih iz citrusov (sokovih, zgoščenih sadnih sokovih, citrus bazah, sirupih idr.).

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) aparat, ki omogoča izločanje eteričnih olj in njihovo kondenzacijo ter zbiranje kondenzata v graduirani cevi s prostornino 4 ml in z razdelki 0,05 ml (slika 3).
- 2) balon s prostornino 3 l z brušenim vratom, primeren za priključitev na aparaturo.



Slika 3. Aparat za izločanje eteričnih olj in kondenzacijo le-teh

Priprava vzorca

Vzorec pripravimo takole:

- 1) *pri izdelkih z malo eteričnih olj* (z manj kot 0,1 ml na 100 g ali 100 ml izdelka) kot sledi;
 - *pri tekočih izdelkih* - vzorec dobro premešamo;
 - *pri gostih izdelkih* (sirup, pulpa idr.) - odtehtamo količino laboratorijskega vzorca in pomešamo z enako količino vode;
- 2) *pri izdelkih, bogatih z eteričnimi olji* - vzorec razredčimo z vodo tako, da raztopina vsebuje manj kot 0,1 ml eteričnega olja v 100 mg ali 100 ml izdelka;
- 3) *pri izdelkih, zelo bogatih z eteričnimi olji* (citrus baze za osvežilne pijače) - odtehtano količino vzorca pazljivo homogeniziramo, nato razredčimo z vodo tako, da ne vsebuje več kot 0,1 ml eteričnega olja v 100 g ali 100 ml izdelka. Nato vzorec premešamo z mahaničnim mešalnikom z veliko hitrostjo, da se izognemo ločevanju faz;
- 4) *pri plodovih citrusov* - olupljen plod razrežemo na drobne koščke in ravnamo naprej kot je predpisano za pripravo vzorca za izdelke bogate z eteričnimi olji, ker je sestavni del te metode.

Količina vzorca za analizo

Vzeti moramo količino vzorca, ki zadostuje za 2 l vzorca za analizo.

Priprava aparature

Skozi hladilnik spustimo vodo in če konstrukcija aparature to omogoča, navlažimo njegovo notranjo stran s sredstvom za zmanjšanje površinske napetosti oziroma s sekundarnim natrijevim alkisulfatom. V graduirano epruveto vlijemo malo destilirane vode, samo epruveto pa med postopkom potopimo v večjo čašo z mrzlo vodo.

Določanje

2 l vzorca za analizo damo v balon, ki ga priključimo na aparaturu in začnemo segrevati. Ko raztopina zavre, naravnoma segrevanje tako, da se kondenzira po 1 kapljica v sekundi.

Raztopino pustimo vreti 1 do 3 ure, pri čemer eterična olja zbiramo v graduirani cevi. Ko se prostornina eteričnega olja v graduirani epruveti neha povečevati, ponavadi po 15 do 30 minutah, prekinemo segrevanje, eterično olje v graduirani cevi pa pustimo, da se ohladi.

Potem hladilnik izperemo, vodo pa postopoma izpuščamo skozi pipo, dokler ne pride spodnja meja eteričnih olj na ničlišče, nato odčitamo prostornino eteričnih olj v mililitrih pri temperaturi 20 °C.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

a) Vzorec, merjen po prostornini

Količino eteričnih olj, izraženo v prostorninskih odstotkih, izračunamo po formuli:

$$\frac{V_1}{V_0} \times 100$$

kjer je:

V_0 - prostornina vzorca v 2 l vzorca za analizo, izražena v ml;

V_1 - prostornina eteričnih olj, ki se določajo, v ml.

b) Vzorec, merjen po masi

Količino eteričnih olj, izraženo v ml na 100 g izdelka, izračunamo po formuli:

$$\frac{V_1}{m} \times 100$$

kjer je:

V_1 - prostornina eteričnega olja v ml;

m - masa vzorca v g.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 5,0 % relativne vrednosti povprečno ugotovljene vrednosti.

2.2.14 Določanje etrskega ekstrakta začimbne paprike

Princip in uporaba

Iz posušenega vzorca ekstrahiramo v etiletru topne snovi. Metodo uporabljamo za začimbe iz zmlete paprike.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) ekstrakcijski tulec;
- 2) sušilnik z avtomatično regulacijo temperature pri $95\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$;
- 3) vodno kopel;
- 4) Soxletov aparat;
- 5) eksikator s sušilnim sredstvom;
- 6) pipete s prostornino 25 ml;
- 7) analitsko tehtnico.

Reagenti

Kot reagent uporabljamo etileter.

Določanje

Odtehtamo z natančnostjo 0,1 g približno 5 g zmlete začimbne paprike in sušimo 5 ur v sušilniku pri temperaturi $95\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. V tulec Soxletovega aparata odtehtamo z natančnostjo $\pm 0,0001\text{ g}$ približno 5 g posušenega vzorca in ekstrahiramo 8 ur z etiletrom.

Destiliramo etileter, ostanek v bučki Soxletovega aparata pa posušimo v sušilniku pri temperaturi $95\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ do konstantne mase. Posodo s posušenim ekstraktom ohladimo v eksikatorju, nato stehtamo z natančnostjo $\pm 0,0001\text{ g}$.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Odstotek etrskega ekstrakta izračunamo po formuli:

$$\text{odstotek etrskega ekstrakta} = \frac{\text{masa ekstrakta}}{\text{masa vzorca}} \cdot 100$$

Etrski ekstrakt izrazimo v odstotkih, računano na neto maso izdelka.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

2.2.15 Določanje L-askorbinske kisline

Princip in uporaba

2,6-p-diklorfenolindofenol oksidira askorbinsko kislino v dehidroaskorbinsko, dokler barva reagenta ne preide v brezbarvno levkobazo in rabi hkrati tudi kot indikator te redoksreakcije. Metodo uporabljamo za določanje askorbinske kisline v sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) čaše s prostornino 100 ml in 250 ml;
- 2) merilne valje s prostornino 100 ml in 200 ml;
- 3) polnilne pipete s prostornino 1, 2, 5, 10, 20 in 25 ml;

- 4) graduirane pipete s prostornino 2,5 ml in 10 ml;
- 5) merilne bučke s prostornino 100, 200 in 250 ml;
- 6) bireto s prostornino 50 ml;
- 7) erlenmajerice s prostornino 50, 200 in 250 ml.

Reagenti

Uporabljammo naslednje reagente:

- 1) metafosforjevo kislino - očetno kislino ($\text{HPO}_3\text{-HOAc}$): odtehamo 15 g sveže pulveriziranega HPO_3 in raztopimo z mešanjem v 40 ml HOAc in 200 ml H_2O ; razredčimo z vodo do 500 ml in hitro filtriramo skozi nagubani filtrirni papir v steklenico (reagent 1). HPO_3 se počasi spreminja v H_3PO_4 , če pa ga hranimo v hladilniku, je raztopina obstojna 7 do 10 dni;
- 2) metafosforjevo kislino - očetno kislino - žveplovo kislino ($\text{HPO}_3\text{-HOAc-H}_2\text{SO}_4$): pripravimo jo enako kot za reagent 1, le da uporabimo namesto vode raztopino žveplove kisline c ($1/2 \text{H}_2\text{SO}_4$) = 0,3 mol/l (reagent 2);
- 3) standardno raztopino askorbinske kisline s koncentracijo 1 mg/ml: neposredno pred uporabo odtehamo točno 50 mg askorbinske kisline (ki jo hranimo v eksikatorju, zavarovanem pred dnevno svetlobo) in prelijemo v merilno bučko s prostornino 50 ml, nato pa bučko dopolnimo do oznake z reagentom 1 ($\text{HPO}_3\text{-HOAc}$);
- 4) standardno raztopino indofenola: 50 mg 2,6 diklorindofenola Na-soli (ki je v eksikatorju nad natrijevim karbonatom) raztopimo v 50 ml H_2O , ki smo ji dodali 42 mg NaHCO_3 . Močno pretresemo in ko se barvilo raztopi, razredčimo z vodo do 200 ml. Skozi nagubani filtrirni papir filtriramo v temno steklenico (varujemo pred dnevno svetlobo in hranimo v hladilniku). Razkrojni produkti, ki se s časoma pojavijo v nekaterih vzorcih indofenola, dobljenega s sušenjem, se lahko pojavijo tudi v končni raztopini indofenola in povzročijo, da je konec titracije nejasen.

Ali je diklorindofenol v redu, kontroliramo tako, da v 15 ml reagenta indofenola dodamo točno 5 ml ekstrahirane raztopine, ki vsebuje pribitek askorbinske kisline. Če reducirajoča raztopina ni brezbarvna jo vržemo proč in naredimo novo osnovo raztopino. Če je napaka v posušeni substanci (indofenolu) pa vzamemo novo kemikalijo.

Za titracijo z diklorfenolom vzamemo trikrat po 2 ml standardne raztopine askorbinske kisline in prenesemo v erlenmajerice s prostornino 50 ml, v katerih je po 5 ml $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ (reagent 1) in hitro titriramo z raztopino indofenola (iz 50 ml birete), dokler ni jasno rožnata barva obstojna 5 sekund. Za vsako titracijo potrebujemo približno 15 ml raztopine indofenola, razlika med posameznimi titracijami pa ne sme biti večja od 0,1 ml.

Slepi preskus

Za tri vzorce slepega preskusa pripravimo po 7 ml $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ in približno 15 ml vode (tako da je prostornina približno enaka kot pri titraciji standardne raztopine z indofenolom). Porabo indofenolove raztopine za slepi preskus (ponavadi znaša približno 0,1 ml) odštejemo od porabljene standardne raztopine, uporabljene za titracijo.

Titer indofenolove raztopine izrazimo v številu mililitrov askorbinske kisline, ki je ekvivalentna 1 ml reagenta.

Indofenolno raztopino vsak dan standardiziramo s sveže pripravljeno raztopino askorbinske kisline;

- 5) timol modro 0,04 %-no, ki je indikator pH: 0,1 g indikatorja timol modrega s trenjem v homogenizatorju raztopimo v 10,75 ml raztopine natrijevega hidroksida c (NaOH) = 0,02 mol/l. Dobljeno raztopino razredčimo z vodo do 250 ml. Meja prehoda: barva reagenta je pri pH 1,2 je rdeča, pri pH 2,8 pa rumena.

Ugotavljanje količine alkalnih substanc

Določeni količini pripravljene homogeniziranega vzorca dodamo 25 ml raztopine $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ (reagent 1). Nato z indikatorjem timol modrim preskusimo pH tako, da kanemo nekaj kapljic na urno steklo (pH večji od 1,2 kaže, da so znatne količine alkalnih substanc). Tekoče vzorce pred ugotavljanjem količine alkalnih substanc z indikatorjem timol modrim razredčimo s približno dvakratno količino raztopine $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ (reagent 1).

Priprava vzorca za določanje

a) praškasti vzorec, ki ne vsebuje znatnejših količin alkalnih substanc, pripravimo tako, da ga homogeniziramo z reagentom ($\text{HPO}_3 - \text{HOAc}$) in razredčimo z istim reagentom do določene prostornine, tako da vsebuje količina vzorca za analizo od 10 mg do 100 mg askorbinske kisline v 100 ml. To prostornino označimo kot V (ml). Za ekstrakcijo vzamemo 10 ml raztopine na 1 g vzorca.

Tekoče in bistre vzorce pripravimo tako, da alikvotni del vsebuje približno 100 mg askorbinske kisline v vzorcu.

b) Praškasti vzorec, ki vsebuje znatne količine alkalnih substanc: pH pripravljene vzorca naravnamo s $\text{HPO}_3 - \text{HOAc} - \text{H}_2\text{SO}_4$ (reagent 2) tako, da znaša približno 1,2, razredčimo s $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ (reagent 1), tako da 100 ml vzorca vsebuje 10 mg do 100 mg askorbinske kisline. To prostornino označimo kot V (ml).

Določanje s titracijo

Tri paralelne vzorce, od katerih vsak vsebuje približno 2 mg askorbinske kisline in slepi vzorec titriramo kot pri določanju standardne raztopine. Če je prostornina alikvotnega dela (ki vsebuje približno 2 mg askorbinske kisline) manjša od 7 ml, moramo dodati raztopino $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ (reagent 1), tako da je prostornina za titracijo 7 ml.

Izračunavanje

Količina askorbinske kisline v 1 g ali 1 ml vzorca

$$= (X - B) \times \left(\frac{F}{E}\right) \times \left(\frac{V}{Y}\right)$$

kjer je:

X – povprečni mililitri za titracijo;

B – povprečni mililitri za titracijo pri slepem preskusu;

E – mg askorbinske kisline, ekvivalentni 1,0 ml standardne raztopine diklorfenolindofenola;

E – količina vzorca, vzete za postopek, v g ali ml;

V – prostornina začetne analizirane raztopine;

Y – prostornina alikvotnega dela titriranega vzorca.

Opomba: Pri izdelkih, ki vsebujejo železo (Fe), kositer (Sn) in baker (Cu), dobimo po tej metodi kot rezultat večjo količino askorbinske kisline. Z enostavnim preskusom lahko ugotovimo, ali je količina reducirajočih ionov tolikšna, da ovira takšno določanje.

Preskus, ali so prisotni ioni Fe, Cu in Sn, naredimo takole: 2 kapljici 0,05 %-ne vodne raztopine metilenskega modrila dodamo v 10 ml sveže pripravljene zmesi (1 + 1) raztopine vzorca in $\text{HPO}_3\text{-HOAc}$ (reagent 1) ter mešamo. Če barva indikatorja metilenskega modrila zgine v 5 do 10 sekundah, to pomeni, da so prisotni ioni Fe ali Cu. Kositer (Sn) ne reagira tako, zato ugotovimo prisotnost njegovih ionov takole: v 10 ml vzorca, pomešanega z 10 ml HCl (1 + 3), dodamo 5 kapljic 0,05 %-ne vodne raztopine indigo karmina in premešamo. Če barva zgine v 5 do 10 sekundah, pomeni, da je prisoten kositer (Sn) ali druga interferenčna substanca.

2.2.16 Določanje skupnega žveplovega dioksida

Princip in poraba

Vzorec za analizo nakisamo in segrevamo, nato pa v toku dušika izganjamo sproščeni žveplov dioksid. Žveplov dioksid absorbiramo in oksidiramo v izpiralki z nevtralno raztopino razredčenega vodikovega peroksida. Količino tako nastale žveplove kisline določamo s titracijo z raztopino natrijevega hidroksida.

Količino ugotovimo na podlagi obarjenega barijevega sulfata iz raztopine glede na delež žveplovega dioksida, in sicer:

- z merjenjem mase barijevega sulfata (točka A);
- z nefelometrijskim določanjem (točka B).

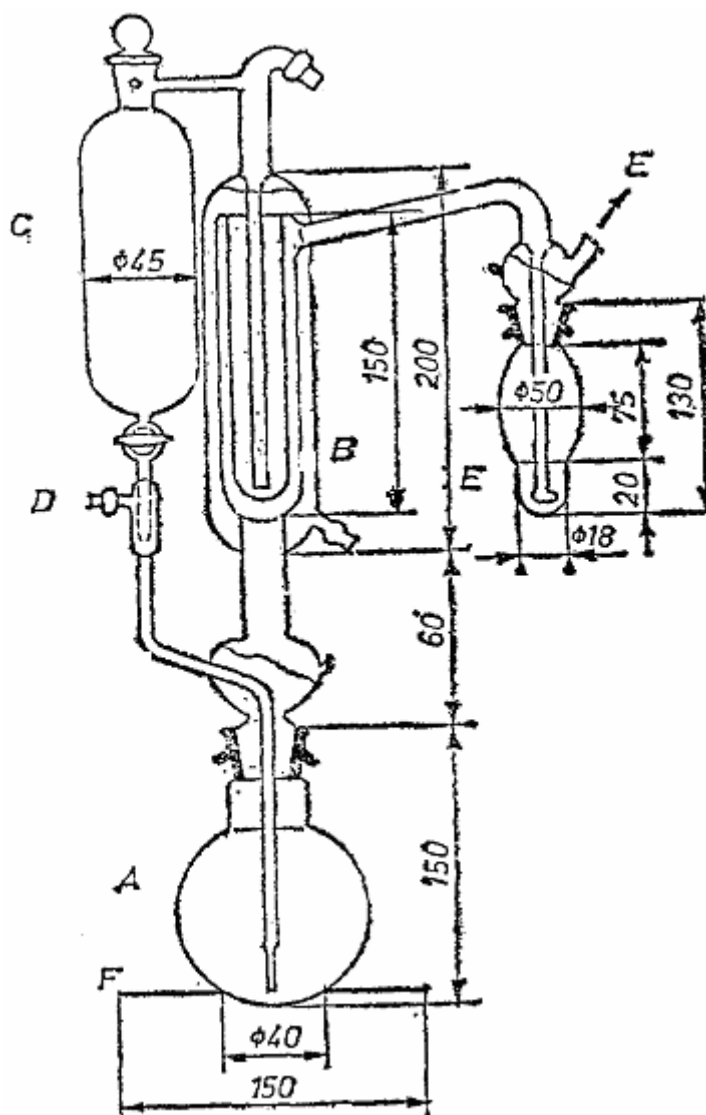
Metodo uporabljamo pri določanju količine skupnega žveplovega dioksida v sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) graduirane epruvete;
- 2) pipete s prostornino 10 ml;
- 3) semimikrobirete s prostornino 10 ml;
- 4) bireto s prostornino 25 ml;
- 5) homogenizator;
- 6) eksikator s sušilnim sredstvom;
- 7) aparaturo za določanje količine žveplovega dioksida (slika 4) z naslednjimi deli:
 - A - balonom z okroglim dnom, ki ima prostornino 250 ml ali več;
 - E - povratnim hladilnikom, prilagojenim balonu A;
 - C - ampulo, montirano na balon A;
 - D - pipo za dovod dušika;
 - E in E' - izpiralkama, primernima za pritrditev na hladilnik B;
 - F - azbestno ploščo s premerom 150 mm in glavno odprtino 40 mm (da bi se izognili pregrevanju, zlasti ekstrahiranih snovi).

Opomba: Če je bilo prejšnje določanje postopno in zmerno, moramo oprati samo balon A.



Slika 4. Aparatura za določanje količine žveplovega dioksida

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) dušik brez kisika;
- 2) vodikov peroksid brez sulfatnih ionov, raztopino 9,1 g/l;
- 3) klorovodikovo kislino, raztopino 100 g/l: en prostorninski del koncentrirane klorovodikove kisline $\rho_{20} = 1,19$ g/ml razredčimo s tremi prostorninskimi deli vode;
- 4) raztopino indikatorja: 100 mg bromfenol modrega raztopimo v 100 ml 20 %-nega etanola (V/V);
- 5) natrijev hidroksid brez sulfatnih ionov, raztopino s $c(\text{NaOH}) = 0,01$ mol/l ali
- 6) natrijev hidroksid brez sulfatnih ionov, raztopino s $c(\text{NaOH}) = 0,1$ mol/l;
- 7) jodovo raztopino s $c(1/2 \text{J}_2) = 0,02$ mol/l;
- 8) raztopino škroba s koncentracijo 5 g/l, ki vsebuje kot konzervans natrijev klorid s koncentracijo 200 g/l (raztopino škroba pripravimo tako, da mora raztopina vreti 10 minut);

- 9) kalijev metabisulfit, raztopino: v malo vode raztopimo 1,20 g kalijevega metabisulfitu ($K_2S_2O_5$) in 0,20 g dinatrijevega kislega etilendiaminovega tetraacetata. Raztopino kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 1000 ml, dopolnimo z vodo do oznake in pretresemo;
- 10) saharozo, raztopino s koncentracijo 100 g/l.

Preskus delovanja aparature

Aparatura, prikazana na sliki 4, mora biti taka, da se na njej opravijo naslednji preskusi:

- a) v balon (A) damo 100 ml vode in 5 ml raztopine klorovodikove kisline. Balon segrevamo ob povratnem hladilniku eno uro v toku dušika.

Izpiralki (E) in (E') vsebujeta po 5 ml vode in 0,1 ml raztopine indikatorja; njuni vsebini morata ostati nevtralni;

- b) v balon (A) damo 20 ml raztopine saharoze. Balon segrevamo 1 uro v toku dušika. Raztopina saharoze mora ostati brezbarvna, na stenah balona pa ne sme nastati usedlina karamela (ta preskus opravimo zaradi kontrole intenzitete segrevanja);

- c) ta preskus sestoji iz dveh operacij:

c₁) v balon (A) damo 20 ml raztopine kalijevega metabisulfitu in 5 ml raztopine klorovodikove kisline. Izločimo in ugotovimo količino žveplovega dioksida (v enakih pogojih kot pri postopku določanja) brez dodajanja klorovodikove kisline;

c₂) v erlenmajerico s prostornino 100 ml damo 20 ml raztopine kalijevega metabisulfitu in dodamo 5 ml raztopine klorovodikove kisline in 1 ml raztopine škroba. Titriramo z jodovo raztopino, dokler se ne pojavi modra barva. Količina žveplovega dioksida, dobljena pri (c₁), mora znašati približno 1 % vrednosti dobljene pri (c₂).

Postopek določanja

Priprava vzorca za analizo

Iz vzorca odstranimo koščice in seme ter ga pazljivo homogeniziramo. Zamrznjeni ali hitro zamrznjeni izdelek poprej odtajamo v pokriti posodi, tekočino, ki izteče pri tem, pa mu dodamo pred homogenizacijo.

Količina vzorca za analizo

Odvisno od količine žveplovega dioksida, odtehtamo z natančnostjo 0,01 g 10 g do 100 g pripravljenega vzorca, tako da vsebuje največ 10 mg žveplovega dioksida. Stehtano količino damo v balon (A).

V ampulo (C) aparature dodamo 100 ml vode in 5 ml raztopine klorovodikove kisline.

V izpiralki (E) in (E') damo po 3 ml raztopine vodikovega peroksida in po 0,1 ml raztopine indikatorja bromfenol modrega. Raztopino vodikovega peroksida nevtraliziramo z 0,01 mol/l raztopino natrijevega hidroksida.

Ampulo (C), hladilnik (B) in izpiralki (E) in (E') nastavimo in pustimo teči dušik skozi, da izženemo zrak iz balona (A) in cele naprave.

Pustimo, da priteka v balon (A) razredčena raztopina klorovodikove kisline, ki je v ampuli (C) (če je potrebno, lahko za trenutek prekinemo pretok dušika).

Vsebino balona počasi segrevamo dokler ne zavre in pustimo vreti tako, da se dušik enakomerno pretaka (1 do 2 mehurčka v sekundi) približno 30 minut.

Titracija

Vsebino druge izpiralke (E') prenesemo v prvo izpiralko (E) in nastalo žveplovo kislino titriramo z 0,01 mol/l ali 0,1 mol/l raztopino natrijevega hidroksida, odvisno od pričakovane količine žveplove kisline.

Določanje

Če je prostornina (V) 0,01 mol/l raztopine natrijevega hidroksida večja od 10 ml, opravimo gravimetrijsko določanje, kot je predpisano v prilogi (A) te metode.

Če je prostornina (V) 0,01 mol/l raztopine natrijevega hidroksida manjša od 10 ml, moramo opraviti nefelometrijsko določanje, kot je predpisano v prilogi B.

Če je prostornina omenjene raztopine natrijevega hidroksida manjša od 5 ml, opravimo samo nefelometrijsko določanje (priloga B). Če vzamemo 100 g vzorca, je meja 5 ml porabljenega reagenta, kar ustreza 16 mg/kg žveplovega dioksida.

Nad to mejo zadostuje acidimetrijsko določanje.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Količino žveplovega dioksida, izraženo v mg/kg izdelka, izračunamo po formuli:

$$0,32 \cdot \frac{V}{m} \cdot 10^3 = 320 \cdot \frac{V}{m}$$

kjer je:

m - masa vzorca v g;

V - prostornina 0,01 mol/l raztopine natrijevega hidroksida, porabljena za titracijo, v ml;

0,32 - masa žveplovega dioksida, ki ustreza 1 mililitru 0,01 mol/l raztopine natrijevega hidroksida, v mg.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 5 % relativne vrednosti povprečno dobljene vrednosti.

A) GRAVIMETRIJSKO DOLOČANJE ACIDIMETRIJSKO NASTALIH SULFATNIH IONOV

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) barijev klorid, raztopino 100 g/l;
- 2) klorovodikovo kislino s koncentracijo $\rho_{20} = 1,19$ g/ml;
- 3) raztopino za izpiranje usedline barijevega sulfata: v merilni bučki s prostornino 1000 ml raztopimo 26 mg barijevega klorida dihidrata ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), dodamo 1 ml koncentrirane klorovodikove kisline in dopolnimo z vodo do oznake.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) erlenmajerice s prostornino 50 ml;
- 2) pipete;
- 3) filtrirni papir, ki zgoreva brez pepela;
- 4) sežigalno peč s termoregulatorjem pri $800 \text{ }^\circ\text{C} \pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$;
- 5) sežigalne posode;
- 8) eksikator s sušilnim sredstvom (ki ni žveplova kislina);
- 7) analitsko tehtnico.

Določanje

Pri titraciji vlijemo v erlenmajerico s prostornino 50 ml vsebino izpiralke (E) in dodamo vodo, s katero smo jo izprali, tako da znaša celotna prostornina 25 ml. Nato dodamo 1 ml koncentrirane klorovodikove kisline in vsebino segrevamo, dokler ne zavre.

Dodajamo po kapljicah 2 ml raztopine barijevega klorida in med tem mešamo, pustimo, da se ohladi in počiva 12 ur. Nastalo usedlino barijevega sulfata kvantitativno prenesemo na filtrirni papir, ki smo ga poprej navlažili z vrelo vodo. Usedlino izperemo z 20 ml tople vode, nato pa petkrat s po 20 ml raztopine za izpiranje usedline barijevega sulfata. Odcedimo in posušimo.

V porcelansko sežigalno posodo, ki smo jo poprej žarili do konstantne mase in stehali z natančnostjo 1 mg, damo filtrirni papir z usedlino in žarimo v sežigalni peči pri $800\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 uri. Vzamemo iz peči, ohladimo v eksikatorju in stehamo z natančnostjo 1 mg. Na podlagi razlike v masi ugotovimo količino barijevega sulfata.

Gravimetrijsko določanje opravimo vzporedno na dveh vzorcih.

Izračunavanje

Količino žveplovega dioksida, izraženo v mg/kg izdelka, izračunamo po formuli:

$$\frac{0,2745 \cdot m_1}{m} \cdot 10^3$$

kjer je:

m_1 - masa dobljenega barijevega sulfata v mg;

m - masa vzorca v g;

0,2745 - masa žveplovega dioksida, ki ustreza 1 mg barijevega sulfata, v mg.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh določanj, ki ju vzporedno ali takoj eno za drugim opravi isti analitik, ne sme biti večja od 5 % relativne vrednosti povprečno dobljene vrednosti.

Razlika med rezultatoma, ki smo ju dobili po tej metodi in po acidimetrijski metodi, ne sme biti več kot 5 %.

Če je razlika med rezultatoma, ki smo ju dobili po acidimetrijski in gravimetrijski metodi, več kot 5 %, vzamemo kot rezultat vrednost, dobljeno po gravimetrijski metodi.

B) NEFELOMETRIJSKO DOLOČANJE ACIDIMETRIJSKO NASTALIH SULFATNIH IONOV

Reagenti

Poleg reagentov, navedenih pri tej metodi, uporabljamo še naslednje reagente:

1) standardno raztopino žveplove kisline: v merilno bučko s prostornino 1000 ml vlijemo 31,2 ml raztopine žveplove kisline $c(1/2\text{ H}_2\text{SO}_4) = 0,1\text{ mol/l}$ in dopolnimo z vodo do oznake (1 ml te raztopine ustreza 0,1 mg SO_2);

2) polivinilpirolidon, raztopino s koncentracijo 50 g/l brez sulfatnih ionov (z relativno molekularno maso povprečno 85000);

3) barijev klorid in polivinilpirolidon, mešano raztopino: 80 ml raztopine barijevega klorida s koncentracijo 100 g/l pomešamo z 20 ml raztopine polivinilpirolidona;

4) klorovodikovo kislino, raztopino 100 g/l; en prostorninski del koncentrirane klorovodikove kisline $\rho_{20} = 1,19\text{ g/ml}$ pomešamo s tremi prostorninskimi deli vode;

5) raztopino indikatorja: 100 mg bromfenol modrega raztopimo v 100 ml 20 %-nega etanola.

Aparatura in pribor

Uporabljamo naslednji pribor:

- 1) merilno bučko s prostornino 50 ml;
- 2) graduirane pipete ali bireto za odmerjanje, s prostornino 2, 4, 8, 12, 16 in 25 ml;
- 3) spektrofotometer za merjenje pri valovni dolžini 650 nm.

Postopek

Priprava umeritvene krivulje

V šest merilnih bučk s prostornino 50 ml damo po vrstnem redu 0, 2, 4, 8, 12 in 16 ml standardne raztopine žveplove kisline, 20 ml vode, 0,1 ml indikatorja, 1 ml raztopine klorovodikove kisline (100 g/l) ter 5 ml mešane raztopine barijevega klorida in polivinilpirolidona. Dopolnimo z vodo do oznake in pretresemo. Dobljene raztopine vsebujejo: 0, 0'2, 0'4, 0'8, 1'2 in 1'6 mg žveplovega dioksida.

Petnajst do dvajset minut potem, ko smo dodali mešano raztopino, izmerimo s spektrofotometrom ekstinkcijo pri 650 nm.

Umeritveno krivuljo narišemo tako, da naneseemo izmerjene ekstinkcije kot funkcijo koncentracije žveplovega dioksida v mg/l.

Nefelometrijsko določanje

- a) V primeru, ko je prostornina 0,01 mol/l raztopine natrijevega hidroksida, porabljenega za nevtralizacijo žveplove kisline, manjša od 5 ml.

Po titraciji prenesemo v merilno bučko s prostornino 50 ml vsebino izpiralke (E) skupaj z vodo, s katero smo jo izprali. Dodamo 1 ml raztopine klorovodikove kisline (100 g/l) in 5 ml mešane raztopine, dopolnimo do oznake in pretresemo.

15 do 20 minut potem, ko smo dodali mešano raztopino, izmerimo s spektrofotometrom ekstinkcijo pri 650 nm.

- b) V primeru, ko je prostornina 0,01 mol/l raztopine natrijevega hidroksida, porabljenega za nevtralizacijo žveplove kisline, med 5 in 10 ml.

Po titraciji prenesemo v merilno bučko s prostornino 50 ml vsebino izpiralke (E) skupaj z vodo, s katero smo jo izprali. Dopolnimo z vodo do oznake in pretresemo.

V novo merilno bučko s prostornino 50 ml vlijemo 25 ml te raztopine, dodamo 1 ml raztopine klorovodikove kisline (100 g/l) in 5 ml mešane raztopine. Dopolnimo z vodo do oznake in pretresemo.

15 do 20 minut potem, ko smo dodali mešano raztopino, izmerimo s spektrofotometrom ekstinkcijo pri 650 nm.

Nefelometrijsko določanje opravimo vzporedno na dveh vzorcih.

Izračunavanje

Če smo opravili določanje pod a), znaša pri nefelometrijskem določanju, ki ga predpisuje ta metoda, količina žveplovega dioksida v mg/kg:

$$c \cdot \frac{1000}{m}$$

kjer je:

c - koncentracija žveplovega dioksida v mg/l, ki je odčitana na umeritveni krivulji in ustreza izmerjeni ekstinkciji;

m - masa vzorca v g.

Če smo opravili določanje pod b), znaša pri nefelometrijskem določanju, ki ga predpisuje ta metoda, količina žveplovega dioksida v mg/kg izdelka:

$$c \cdot \frac{1000}{m} \cdot 2$$

kjer je:

c - koncentracija žveplovega dioksida v mg/l, ki je odčitana na umeritveni krivulji in ustreza izmerjeni ekstinkciji;

m - masa vzorca v g.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti, predpisane za to metodo.

Razlika med rezultatoma, ki smo ju dobili po tej metodi in po acidimetrijski metodi, ne sme biti več kot 5 %.

Če je razlika med rezultatoma, ki smo ju dobili po acidimetrijski in nefelometrijski metodi, več kot 5 %, vzamemo kot rezultat vrednost, dobljeno po nefelometrijski metodi.

2.2.17 Določanje hlapnih kislin

Princip in uporaba

Vzorec nakisamo z vinsko kislino, hlapne kisline predestiliramo z vodno paro, destilat pa titriramo z raztopino natrijevega hidroksida s fenolftaleinom kot indikatorjem.

Metodo uporabljamo za določanje hlapnih kislin pri sadju in vrtninah ter sadnih in zelenjavnih izdelkih.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) natrijev hidroksid, raztopimo s c (NaOH) = 0,1 mol/l: pripravimo jo in njeno koncentracijo določimo neposredno pred samo uporabo;
- 2) raztopino 10 g fenolftaleina v 1 l 95 %-nega etanola (V/V);
- 3) vinsko kislino, kristalno;
- 4) apnica, razredčeno 1 : 4, en prostorninski del nasičene raztopine kalcijevega hidroksida razredčimo s štirimi prostorninskimi deli vode. Mešanico pustimo stati, dokler ne dobimo kalcijev karbonat, nato odlijemo bistro raztopino, ki kaže alkalno reakcijo v prisotnosti raztopine fenolftaleina.

Raztopino uporabljamo za polnjenje razvijalca vodne pare;

- 5) kalcijev hidroksid, bistro nasičeno raztopino.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) aparat za destilacijo z vodno paro z razvijalcem vodne pare (ki ne vsebuje ogljikovega dioksida) iz stekla ali kovine, odporne proti visokim temperaturam, z zmogljivostjo približno 1500 ml;
- 2) izpiralko, sestavljeno iz steklene 270 mm dolge cevi s premerom 30 mm, katere spodnji del je zaprt in razširjen v obliki krogle s premerom 60 mm, kamor damo količino vzorca za analizo. Izpiralko damo na kovinski disk z odprtino s premerom 40 mm, na katero nalega dno izpiralke;
- 3) rektifikacijsko kolono, sestavljeno iz steklene cevi s premerom 20 mm in višino 500 mm, v kateri je mrežasta spirala iz nerjavečega jekla s 15 mm zavojnicami.

(Poleg opisanih lahko uporabljamo tudi druge naprave z enakim učinkom);

4) pokončni hladilnik (tipa WEST), dolg 400 mm in s premerom 10 mm, ki ga postavimo pokončno in hladimo ves čas med destilacijo.

Opomba: Poleg omenjenih aparatov lahko uporabljamo tudi druge, če izpolnjujejo naslednje minimalne zahteve:

- da v normalnih pogojih predestilirajo 99,5 % znane dodane količine očetne kisline v 250 ml destilata. Za ta preskus uporabimo 20 ml raztopine očetne kisline s c (CH_3COOH) = 0,1 mol/l;

- da dobimo v enakih pogojih destilacije v 250 ml destilata, od znane dodane količine mlečne kisline največ 5 % mlečne kisline. Za ta preskus uporabimo 20 ml raztopine mlečne kisline s c ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OCOOH}$) = 1 mol/l;

- da dobljena vodna para ne vsebuje ogljikovega dioksida (CO_2), kar preverimo tako, da dodamo 2 kapljici raztopine fenolftaleina in 0,1 ml raztopine natrijevega hidroksida v 250 ml destilata. Rožnata barva mora biti obstojna najmanj 10 sekund;

5) erlenmajerico s prostornino 500 ml;

6) graduirane pipete s prostornino 20 ml;

7) bireto s prostornino 25 ml in z razdelki 0,1 ml;

8) analitsko tehtnico.

Priprava vzorca za analizo

Tekoči izdelki in izdelki, ki se lahko filtrirajo (sadni sirupi, tekočine iz kompota, slane tekočine ipd.) - Laboratorijski vzorec popolnoma pomešamo in če vsebuje suspendirane delce, ga prefiltriramo skozi nagubani filtrirni papir. Če vsebuje vzorec ogljikov dioksid ali pa je v fazi fermentacije, ogljikov dioksid odstranimo tako, da odmerimo s pipeto 50 do 60 ml vzorca in ga damo v steklenico s prostornino 500 ml, nato pa pod znižanim tlakom stresamo 2 do 3 minute. Da bi preprečili penjenje, dodamo v odmerjeni vzorec 0,2 g taninske kisline.

Pastozni in trdni izdelki (suho in posušeno sadje in vrtnine ipd.) - Odstranimo seme in peščiča, nato pa vzorec homogeniziramo z mehničnim mešalnikom.

Zamrznjeni izdelki - Odtajamo jih, tekočino, ki pri tem izteče, pa dodamo izdelku pred homogenizacijo.

Količina vzorca za analizo

Tekoči izdelki – S pipeto odmerimo 20 ml pripravljenega vzorca za analizo in ga damo v izpiralko. Če vsebuje vzorec močne hlapne kisline, vzamemo manjšo količino vzorca in prostornino do 20 ml dopolnimo s potrebno količino vode.

Pastozni, trdni in zamrznjeni izdelki - Približno 10 g pripravljenega vzorca za analizo odtehtamo, v čašo, z natančnostjo 0,01 g in kvantitativno prenesemo v izpiralko z najmanjšo možno količino vode, ki še omogoča prenašanje in mešanje vzorca, vendar mora vzorec pri tem ostati tekoč.

Destilacija hlapnih kislin

Razvijalec vodne pare napolnimo z apnico do 2/3 prostornine. Nato vzorcju za analizo v izpiralki dodamo 0,5 g vinske kisline in izpiralko spojimo z razvijalcem vodne pare, rektifikacijsko kolono in hladilnikom. Z gorilnikom istočasno segrevamo razvijalec vodne pare in izpiralko. Če je začetna količina vzorca v izpiralki večja od 20 ml, segrevanje izpiralke naravnamo tako, da se prostornina zmanjša na 20 ml, nato pa postopoma segrevamo. Med segrevanjem mora razvijalec vodne pare ves čas proizvajati vsaj majhno količino pare. Destiliramo 10 do 15 minut. Destilat, zbran v erlenmajerici, mora biti enak dvanajstkratni prostornini vzorca za analizo.

Titracija hlapnih kislin

V destilat dodamo dve kapljici raztopine fenolftaleina in titriramo z raztopino natrijevega hidroksida, dokler se ne pojavi svetlo rožnata barva.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje in formula

Tekoči izdelki - Hlapne kisline, izražene v miliekvivalentih na 100 ml izdelka ali v gramih očetne kisline 100 g izdelka, izračunamo po formulah (1) in (2):

$$\frac{10 \times V_1}{V_0} \quad (1)$$

$$\frac{0,6 \times V_1}{V_0} \quad (2)$$

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Pastozni, trdni in zamrznjeni izdelki - Hlapne kisline, izražene v miliekvivalentih na 100 g izdelka, izračunamo po formulah (3) in (4):

$$\frac{10 \times V_1}{m_0} \quad (3)$$

$$\frac{0,6 \times V_1}{m_0} \quad (4)$$

kjer je:

V_0 - prostornina vzorca v ml;

V_1 - prostornina raztopine natrijevega hidroksida, porabljenega za titracijo, v ml;

m_0 - masa vzorca v g.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 0,2 miliekvivalenta na 100 ml ali 100 g izdelka oziroma ne večja od 1,2 mg očetne kisline na 100 ml ali 100 g izdelka.

2.2.18 Določanje skupne kislosti

A) Potenciometrijska metoda

Princip in uporaba

Metoda temelji na potenciometrijski titraciji z raztopino natrijevega hidroksida.

Metodo uporabljamo za določanje skupne kislosti sadja in vrtnin ter sadnih in zelenjavnih izdelkov.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) čašo s prostornino 250 ml z elektromagnetnim ali mehničnim mešalnikom;
- 2) graduirani pipeti s prostornino 25 in 100 ml;
- 3) merilno bučko s prostornino 250 ml;
- 4) homogenizator ali terilnico;

- 5) erlenmajerico s povratnim hladilnikom;
- 6) analitsko tehtnico;
- 7) potenciometer s stekleno elektrodo;
- 8) bireto s prostornino 100 ml.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) natrijev hidroksid, raztopino s $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$;
- 2) puferno raztopino znanega pH.

Priprava vzorca

Tekoči izdelki in izdelki, ki se lahko filtrirajo (sadni sirupi, slane tekočine, fermentirani izdelki) - Laboratorijski vzorec homogeniziramo in filtriramo skozi vato ali filtrirani papir. S pipeto odmerimo 25 ml filtrata, ga prenesemo v merilno bučko s prostornino 250 ml, dopolnimo do oznake z vodo in dobro pretresemo.

Opomba: Pri gaziranih izdelkih moramo poprej pod znižanim tlakom s 3 do 4-minutnim stresanjem odstraniti ogljikov dioksid.

Vzorec lahko merimo tudi po masi: približno 25 g vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g.

Drugi izdelki - Iz vzorca odstranimo peclje, koščice in peščišča, po možnosti pa tudi seme. Če je izdelek zamrznjen, ga moramo poprej odtajati, tekočino, ki izteče pri tem, pa mu dodati pred homogenizacijo.

Posušeni in dehidrirani izdelki - Razrežemo jih z nožem na koščke, nato laboratorijski vzorec premešamo v homogenizatorju ali terilnici.

25 g laboratorijskega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g in s 50 ml vode kvantitativno prenesemo v erlenmajerico. Vsebino mešamo, dokler ne postane tekočina homogena. Erlenmajerico spojimo s povratnim hladilnikom in vsebino segrevamo na vodni kopeli približno 30 minut. Ohlajeno vsebino erlenmajerice kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 250 ml in dopolnimo do oznake s sveže prekuhano in ohlajeno destilirano vodo, nato pa filtriramo.

Določanje s potenciometrijsko titracijo

Za umerjanje potenciometra uporabljamo puferno raztopino.

Količina vzorca za analizo

Odvisno od pričakovane kislosti, odmerimo s pipeto 25 ml do 100 ml pripravljenega vzorca in ga prenesemo v čašo z mešalnikom.

Titracija

Vklopimo mešalnik, nato iz birete hitro dodajamo raztopino natrijevega hidroksida, dokler ni pH približno 7. Zatem raztopino dodajamo počasneje, dokler ni $\text{pH } 8,1 \pm 0,2$.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Vzorec, merjen po prostornini

Skupno kislost, izraženo v milimolih monobazne kisline na 100 ml izdelka, če upoštevamo razredčitev, izračunamo po formuli:

$$\frac{250}{25} \cdot V_1 \cdot c \cdot \frac{100}{V_0} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0}$$

Vzorec, merjen po masi

Skupno kislost, izraženo v milimolih monobazne kisline na 100 g izdelka, če upoštevamo razredčitev, izračunamo po formuli:

$$\frac{250}{m} \cdot V_1 \cdot c \cdot \frac{100}{V_0}$$

kjer je:

V_0 - prostornina vzorca v ml;

V_1 - prostornina raztopine natrijevega hidroksida, porabljenega za določanje, v ml;

c - točna koncentracija raztopine natrijevega hidroksida v mol/l;

m - masa vzorca v g.

Drug način izražanja skupne kislosti

Skupno kislost lahko izrazimo, kot je običajno, s številom gramov kisline na 100 g ali 100 ml izdelka tako, da dobljene vrednosti pomnožimo z ustreznim faktorjem ene izmed kislin, navedenih v tabeli 5.

Tabela 5. Faktorji za preračunavanje skupne kislosti

Kislina	Faktor
jabolčna	0,067
oksalna	0,045
citronska (monohidrat)	0,070
vinska	0,075
očetna	0,060
mlečna	0,090

Ustrezne kisline so:

- jabolčna kislina - pri izdelkih iz pečkastega in koščičastega sadja;
- citronska kislina - pri izdelkih iz jagodičastega sadja in citrusov;
- vinska kislina - pri izdelkih iz grozdja;
- oksalna kislina - pri izdelkih iz špinacije in kislice;
- mlečna kislina - pri biološko konzerviranih izdelkih;
- očetna kislina - pri mariniranih izdelkih.

Izražanje rezultatov

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Rezultat izrazimo na eno decimalno mesto.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 2 % relativne vrednosti povprečno ugotovljene vrednosti.

B) Metoda, ki temelji na spremembi barve indikatorja

Princip in uporaba

Metoda temelji na titraciji z raztopino natrijevega hidroksida v prisotnosti fenolftaleina kot indikatorja.

Uporabljamo jo za določanje skupne kislosti sadja in vrtnin ter sadnih in zelenjavnih izdelkov.

Aparatura in pribor

Uporabljamo naslednji pribor:

- 1) homogenizator ali terilnico;
- 2) graduirani pipeti s prostornino 25 ml in 100 ml;
- 3) erlenmajerico s povratnim hladilnikom;
- 4) merilno bučko s prostornino 250 ml;
- 5) bireto s prostornino 100 ml;
- 6) analitsko tehtnico;
- 7) čaša z ustrežno prostornino.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) raztopino natrijevega hidroksida, s c (NaOH) = 0,1 mol/l;
- 2) raztopino 10 g fenolftaleina v 1 l 95 %-nega etanola (V/V).

Priprava vzorca

Tekoči izdelki in izdelki, ki se lahko filtrirajo (sadni sirupi, slane tekočine, fermentirani izdelki) - Laboratorijski vzorec dobro premešamo in filtriramo skozi vato ali filtrirni papir. S pipeto odmerimo 25 ml filtrata, ga prenesemo v merilno bučko s prostornino 250 ml, dopolnimo do oznake in dobro pretresemo.

Opomba: Pri gaziranih izdelkih moramo poprej pod znižanim tlakom z 2 do 3-minutnim stresanjem odstraniti CO₂.

Vzorec lahko merimo tudi po masi: približno 25 g pripravljenega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g.

Drugi izdelki - Iz laboratorijskega vzorca odstranimo peclje, koščice, peščišča, po možnosti pa tudi seme. Če je izdelek zamrznjen, ga moramo poprej odtajati, tekočino, ki izteče pri tem, pa mu dodati pred homogenizacijo.

Posušene in dehidrirane izdelke razrežemo na koščke. Laboratorijski vzorec nato premešamo v homogenizatorju ali terilnici.

25 g laboratorijskega vzorca odtehtamo z natančnostjo 0,01 g in s 50 ml vode kvantitativno prenesemo v erlenmajerico. Vsebino mešamo, dokler ne postane tekočina homogena. Nato erlenmajerico spojimo s povratnim hladilnikom in vsebino segrevamo na vodni kopeli približno 30 minut. Ohlajeno vsebino erlenmajerice kvantitativno prenesemo v merilno bučko s prostornino 250 ml in dopolnimo do oznake s sveže prekuhano in ohlajeno destilirano vodo, nato pa filtriramo.

Količina vzorca za analizo

Odvisno od pričakovane kislosti, odmerimo s pipeto 25 ml do 50 ml ali 100 ml vzorca za analizo in ga prenesemo v čašo z ustrežno prostornino.

Določanje skupne kislosti

V odmerjeno količino vzorca za analizo dodamo 0,25 ml do 0,5 ml raztopine fenolftaleina in med stresanjem titriramo z raztopino natrijevega hidroksida, dokler se ne pojavi svetlo rožnata barva, ki je obstojna najmanj 30 sekund.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Vzorec, merjen po prostornini: skupno kislost, izraženo v milimolih monobazne kisline na 100 ml izdelka, če upoštevamo razredčitev, izračunamo po formuli:

$$\frac{250}{25} \cdot V_1 \cdot c \cdot \frac{100}{V_0} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0}$$

Vzorec, merjen po masi: skupno kislost, izraženo v milimolih monobazne kisline na 100 g izdelka, če upoštevamo razredčitev, izračunamo po formuli:

$$\frac{250}{m} \cdot V_1 \cdot c \cdot \frac{100}{V_0}$$

kjer je:

V_0 - prostornina vzorca v ml;

V_1 - prostornina raztopine natrijevega hidroksida, porabljenega za določanje, v ml;

c - točna koncentracija raztopine natrijevega hidroksida v mol/l;

m - odtehtana masa izdelka v g.

Drug način izražanja skupne kislosti

Skupno kislost lahko izrazimo, kot je običajno, s številom gramov kisline na 100 g ali 100 ml izdelka tako, da dobljene vrednosti pomnožimo z ustreznim faktorjem ene izmed kislin, navedenih v tabeli 6.

Tabela 6. Faktor za izračunavanje skupne kislosti

Kislina	Faktor
jabolčna kislina	0,067
oksalna kislina	0,045
citronska kislina (monohidrat)	0,070
vinska kislina	0,075
očetna kislina	0,060
mlečna kislina	0,090

Ustrezne kisline so:

- jabolčna kislina - pri izdelkih iz pečkastega in koščičastega sadja;
- citronska kislina - pri izdelkih iz jagodastega sadja in citrusov;
- vinska kislina - pri izdelkih iz grozdja;
- oksalna kislina - pri izdelkih iz špinače in kislice;
- mlečna kislina - pri biološko konserviranih izdelkih;
- očetna kislina - pri mariniranih izdelkih.

Izražanje rezultatov

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Rezultat izrazimo na eno decimalko.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 2 % relativne vrednosti povprečno ugotovljene vrednosti.

2.2.19 Določanje sintetičnih barvil - kromatografska metoda

Princip in uporaba

Metoda temelji na nastanku soli z reakcijo med anionom sintetičnega barvila in kvartarnim kationom pri optimalnem pH, na ekstrakciji obarvane soli v kloroform in čiščenju ekstrakta z Al_2O_3 ter kromatografski identifikaciji barvila.

Aparatura in pribor

Poleg običajne, laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) centrifugo s centrifugirkami \varnothing 3,5 x 12 cm s prostornino 60 ml ali 100 ml;
- 2) kromatografske kolone \varnothing 1,2 x 10 cm;
- 3) pribor za papirno kromatografijo;
- 4) kromatografski filtrirni papir.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) kloroform;
- 2) Na_2CO_3 , 10 %-no raztopino;
- 3) benzalkonijev klorid, 10 %-no raztopino;
- 4) benzalkonijev klorid, 1 %-no raztopino;
- 5) H_2SO_4 , razredčeno;
- 6) formaldehid, 35 %-no raztopino;
- 7) 2 g natrijevega tetrafenilborata v 100 ml etanola + 2 ml vode + 0,2 ml glicerola;
- 8) NaH_2PO_4 , 25 %-no raztopino;
- 9) amoniak, 0,25 %-no raztopino;
- 10) etanol, 65 - 75 %-ni;
- 11) metanol;
- 12) Al_2O_3 , za kolonsko kromatografijo, aninotropni (kisli);
- 13) stekleno volno;
- 14) vato.

Priprava vzorca

- a) *Tekočine pri sadnih in zelenjavnih izdelkih*, ki vsebujejo manj kot 30 % suhe snovi, analiziramo brez poprejšnje priprave.
- b) *Sirupe* razredčimo z vodo tako, da vsebuje homogenizirani vzorec manj kot 30 % suhe snovi, in precedimo skozi stekleno volno. Zgoščeni sadni sok in sok v prahu razredčimo z vodo v razmerju 1 : 5.
- c) *Kašaste izdelke* razredčimo z enako količino vode in dobro premešamo. Filtriranje ni potrebno.
- d) *Suho, kandirano in suho sadje v prahu ter trdni del konzerviranega sadja in vrtnin*: 10 g prelijemo s 50 ml vrele vode in z 10 %-no raztopino Na_2CO_3 , naravnamo pH na 7. Počakamo, da se barvilo raztopi, nato filtriramo skozi stekleno volno.

Postopek določanja Ekstrakcija barvila

Postopek A

Uporabljamo ga za vzorce pod a)

10 ml pripravljene raztopine vzorca pomešamo z 2 ml kloroforma in pustimo, da se največji del kloroforma loči, z 10 %-nim Na₂CO₃, pa naravnamo pH na 7 do 8, razen za vzorce z antocianini, za katere pH naravnamo samo do 6 do 7. Kloroformsko plast vržemo proč in ostanku dodamo 10 ml kloroforma in 5 kapljic 1 %-ne raztopine benzalkolijevega klorida (4). Zmes močno pretresemo in pustimo, da se plasti ločijo (ali jo centrifugiramo). Če smo dodali zadosti reagenta (4), je kloroform obarvan, vodna raztopina pa je pri vrhu skoraj brezbarvna. Če je kloroform brezbarven ali pa vodna raztopina še obarvana, dodamo še 5 kapljic 1 %-ne raztopine benzalkonijevega klorida (4) in rahlo premešamo.

Če se pri tem motnost poveča, pomeni, da ni bilo zadosti reagenta (4). Močno pretresemo, pustimo, da se plasti ločijo in ponovno dodamo nekaj kapljic reagenta (4). Če motnost vodne plasti ni povečana, pomeni, da smo dodali zadosti reagenta (4). Pustimo približno 10 minut, da se plasti ločijo ali centrifugiramo. Brezbarvno vodno plast odstranimo, kloroformsko plast pa izperemo s 5 ml vode, ki jo potem vržemo proč.

Postopek B

Uporabljamo ga za vzorce pod b), c) in d).

V centrifugirko odmerimo s pipeto 10 ml pripravljenega vzorca, dodamo 2 ml do 5 ml formalina in 20 ml kloroforma. Centrifugirko zamašimo, močno pretresemo in približno 2 minuti centrifugiramo z najmanj 3000 vrtljajev v minuti. Kloroformsko plast in eventualno brezbarvno raztopino odstranimo vsako posebej, pH ostanka naravnamo na 8 ali 9 (z 10 %-im Na₂CO₃), če so prisotni antocianini (sprememba rdeče barve v modro), pa na 6 do 7.

Raztopini dodamo 0,1 ml do 2 ml 10 %-ne raztopine benzalkonijevega klorida (3) in 2 ml do 10 ml kloroforma (čim več oborine, tem več kloroforma dodamo), zamašimo, močno pretresemo in ponovno centrifugiramo, dokler ne dobimo treh plasti:

- zgornjo - brezbarvno vodno plast;
- srednjo - včasih obarvano plast;
- spodnjo - obarvano kloroformsko plast.

Če nismo dodali zadosti reagenta (3) ali če so prisotna nekatera v vodi topna naravna barvila, je zgornja - vodna plast še obarvana, zato dodamo še 3 kapljice reagenta (3), vodno plast pa rahlo premešamo in spremljamo spremembo motnosti. Če je vodna plast še bolj motna, vzorec močno pretresemo in centrifugiramo. Še naprej dodajamo reagent (3), dokler ne dosežemo, da se motnost vodne plasti ne povečuje več. Motnost vodne plasti se ne povečuje več, če smo dodali zadostno količino reagenta (3). Kloroformsko plast odstranimo s pipeto. Ostanek v centrifugirki ponovno ekstrahiramo z 2 ml do 10 ml kloroforma in centrifugiramo. Zbrana kloroformska ekstrakta izperemo z 10 ml vode, ki jo vržemo proč. Obarvano kloroformsko plast uporabljamo za nadaljnje določanje barvil.

Kromatografski postopek

Kromatografski papir neposredno pred uporabo impregniramo z raztopino natrijevega tetrafenilborata (7) tako, da raztopino s pipeto nanese na nj ali ga natopimo z njo ter pustimo, da etanol izhlapi. Na isto mesto (brez sušenja) z mikropipeto nanese toliko kloroformskega ekstrakta vzorca, kolikor je potrebno, da dobimo dovolj intenzivno obarvano liso. Na sredino obarvane lise z mikropipeto nanese 10 µl kloroforma.

Obarvana lisa:

a) se lahko pri tem popolnoma in enakomerno razliva s topilom, kar pomeni, da ekstrakt ni čist;

b) se lahko pri tem delno razliva s topilom in se neha razlivati, kar pomeni, da je prekoračena kapaciteta impregnacije;

c) se pri tem ne širi, kar pomeni, da je ekstrakt zadosti čist.

Če se obarvana lisa obnaša kot pod a) in b), moramo ekstrakt čistiti z Al_2O_3 . V primeru pod c) pa takoj nanesemo na kromatogram, ki smo mu startno črto, 0,5 do 1 cm pasu, impregnirali z natrijevim tetrafenilboratom. Impregniramo z 1 ml pipeto.

Priprava kolone za čiščenje ekstrakta

Kromatografsko kolono, \varnothing 1,2 cm, na dnu zamašimo s stekleno volno ali vato. Vlijemo vanjo suspenzijo kloroforma, ki mu dodamo eno kapljico ledene očetne kisline in toliko Al_2O_3 , kolikor je potrebno, da ostane v koloni po izteku kloroforma približno 3 cm visok stolpec Al_2O_3 .

Čiščenje ekstrakta

Obarvani kromatografski ekstrakt pustimo skozi kolono. Ko steče ekstrakt skozi kolono, pustimo 10 ml metanola in na koncu 10 ml vode.

Izločimo kloroformski in metanolni eluat in v njima določimo v masti topna in bazična barvila. Sintetična barvila eluiramo s toliko 0,25 %-nega amoniaka, kolikor je potrebno, da barvila eluiramo iz kolone (približno 10 ml), zbiramo pa samo obarvani eluat, da bi bila barvila čimbolj koncentrirana. Obarvani amoniakov eluat (če je zadosti koncentriran) lahko direktno vzamemo v kromatografski postopek. Če pa je preveč razredčen, hitro dodamo 0,5 ml raztopine NaH_2PO_4 , nato 0,2 ml do 1 ml kloroforma in 3 do 5 kapljic 1 %-ne raztopine benzalkonijevega klorida, da bi barvilo ekstrahirali v kloroform. Kloroformski ekstrakt nanesemo na kromatogram.

Priprava za kromatografijo

1. Impregnacija kromatografskega papirja pred nanašanjem obarvanega ekstrakta ali eluata: kromatografski papir impregniramo z raztopino natrijevega tetrafenilborata, ki ga nanesemo z 1 ml pipeto, da je startna črta impregnirana v 0,5 do 1 cm širokem pasu.
2. Nanašanje: vzorce in raztopine standardnih barvil z mikropipeto nanašamo na startno črto v razmikih 0,5 do 1 cm.
3. Na kromatogram, ki ga nameravamo razvijati s citratno fazo (faza 3), potem, ko smo nanesli vzorec in raztopine standardnih barvil, nanesemo z mikropipeto na sredino vsake lise vzorca 10 μl kloroforma. Ko se kloroform posuši, izperemo, s pipeto, startno črto z rahlim curkom kloroforma.

Kromatografija

Za določanje sintetičnih barvil pripravimo tri kromatograme in uporabimo naslednje mobilne faze: I. nitrometan : acetonitril : mravljinčna kislina : voda (10 : 80 : 1 : 30);

II. trietilamin : acetonitril : voda (5 : 1 : 2);

III. Na_3 citrat : etanolamin : voda (2 : 5 : 95).

Vzorec vsebuje določeno sintetično barvilo, če je to na vsakem izmed treh kromatogramov na enaki višini kot standardno barvilo.

Izražanje rezultatov

Rezultat izrazimo tako, da navedemo barvni indeks (colour index – C.I.) barvila, ki smo ga indentificirali na kromatogramu.

Opomba: Postopek A uporabljamo, če se kloroform pri prvi ekstrakciji spontano izloči v 5 minutah. V drugih primerih uporabljamo postopek B.

Pri postopku A zadostuje v glavnem prvih 5 kapljic reagenta (3) ali (4), v večini drugih primerov pa prvih 10 kapljic.

Če nastane potem, ko smo dodali reagent, veliko v kloroformu netopne oborine, moramo uporabiti postopek B in čistiti ekstrakt z Al_2O_3 , kar v drugih primerih ni potrebno.

2.2.20 Določanje naravnih barvil

Princip

Metoda temelji, na različnih afinitetah naravnih in sintetičnih barvil do kvartarnih amonijevih ionov in Al_2O_3 .

Aparatura in pribor

Uporabljamo naslednji pribor:

- 1) centrifugo s centrifugirkami in kromatografske kolone \varnothing 1,2 x 10 cm.

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) petroleter (40-70 °C)
- 2) kloroform;
- 3) kloroform-etanol, 96 %-ni, (2 + 1);
- 4) kloroform-mravljíčno kislino, 98 do 100 %-no, (20+1);
- 5) n-butanol;
- 6) etanol, 70 %-ni;
- 7) etanol, 50 %-ni;
- 8) 2 %-ni amoniak v 90 %-nem etanolu;
- 9) 2 %-ni amoniak v 50 %-nem etanolu;
- 10) etanol - HCl, koncentrirano (1 + 1);
- 11) metanol;
- 12) formaldehid, 35 - 40%-ni;
- 13) očetno kislino;
- 14) benzalkonijev klorid, 10 %-ni in 1 %-ni;
- 15) Na_2CO_3 , 10 %-ni;
- 16) NaH_2PO_4 , 25 %-ni;
- 17) Amoniak, 0,25 %-ni;
- 18) H_2SO_4 (1 + 3);
- 19) HCl, koncentrirano;
- 20) H_2O_2 , 30 %-ni;
- 21) Al_2O_3 za kolonsko kromatografijo, anionotropni ali po Brockmanu.

Priprava vzorca

Vzorec pripravimo enako kot vzorec za določanje sintetičnih barvil.

Postopek

V centrifugirko odmerimo s pipeto 10 ml pripravljenega vzorca, pH pa z razredčeno žveplovo kislino naravnamo na 5 do 7. Dodamo 2 ml do 5 ml formalina in 20 ml kloroforma, centrifugirko zamašimo z gumenim zamaškom, dobro pretresemo in najmanj 2 minuti centrifugiramo s hitrostjo 3000 vrtljajev v minuti. Če se kloroformska plast ne loči v 5 minutah, povečamo število vrtljajev. Nato brezbarvno kloroformsko plast in neraztopljeni ostanek, če je brezbarven, vržemo proč. pH v obarvanem ostanku in obarvani vodni raztopini z Na_2CO_3 (10 %-nim) naravnamo na 7 do 8, razen pri vzorcih z antocianini, pri katerih pH

naravnamo na 6 do 7. Nato dodamo 0,1 ml do 2 ml 10 %-nega benzalkonijevega klorida in 2 ml do 10 ml kloroforma, odvisno od količine obarvanega neraztopljenega ostanka. Centrifugirko zamašimo, dobro pretresemo in centrifugiramo, kot je predpisano. Dodamo še nekaj kapljic benzalkonijevega klorida in rahlo pretresemo. Če je zgornja vodna plast motna, dodamo več benzalkonijevega klorida, pretresemo in centrifugiramo, dokler ne dobimo treh plasti, ki se takoj ločijo. Nato pripravimo kolono za čiščenje ekstrakta.

Priprava kolone za čiščenje ekstrakta

Kromatografsko kolono \varnothing 1,2 cm zamašimo na dnu s stekleno volno ali vato. V kolono za analizo zgornje, vodne plasti vlijemo suspenzijo Al_2O_3 za kolonsko kromatografijo v vodi, ki ji dodamo 1 kapljico ledene očetne kisline; v kolono za analizo spodnje, kloroformske plasti pa vlijemo suspenzijo kloroforma, ki mu dodamo 1 kapljico ledene očetne kisline in Al_2O_3 za kolonsko kromatografijo, tako da ostane v koloni v obeh primerih po izteku tekočine približno 3 cm visok stolpec Al_2O_3 .

Zgornji vodni plasti takoj naravnamo pH na 3 do 4 z dodatkom očetne ali koncentrirane HCl in pretresemo, da odstranimo ves CO_2 , raztopino nato prelijemo v kromatografsko kolono, v kateri je nakisan Al_2O_3 . Ko raztopina steče skozi kolono, jo speremo z 10 ml vode.

Betanin in antocianini ostanejo na koloni z Al_2O_3 , riboflavin pa steče v eluat. Betanin eluiramo z vodno raztopino NH_3 (0,25 %-nim). Vijoličasti eluat ni obstojen in hitro porjavi. Zato ga takoj nakisamo in koncentriramo v hladnem v vakuumu.

Antocianini ostanejo na koloni z Al_2O_3 kot tanka plast zelene barve na samem začetku Al_2O_3 . Razbarvamo jih s H_2O_2 ali pa eluiramo s 96 %-nim etanolom HCl (1 + 1).

V spodnjo, kloroformsko plast dodamo enako količino vode, pretresemo in pustimo, da se plasti ločijo. Spodnjo, kloroformsko plast spustimo skozi kromatografsko kolono, v kateri je 3 cm visok stolpec Al_2O_3 . Kolono speremo z 10 ml kloroforma, nato z 10 ml metanola in na koncu s 5 ml vode. Barvila v koloni eluiramo z 0,25 %-no raztopino NH_3 v predložek, v katerem je 0,5 ml NaH_2PO_4 . Eluatu dodamo 2 ml kloroforma in nekaj kapljic (3–5) 1 %-nega benzalkonijevega klorida, dobro pretresemo in pustimo, da se plasti ločijo. Iz tega ekstrakta lahko s papirno kromatografijo določimo tudi sintetična barvila, če so. Če naneseemo ta ekstrakt na tanko plast silikagela in kromatogram razvijemo s kloroform-mravljinčno kislino (20 + 1), se krocetin, norbiksin, eluirani del klorofilina in eritrozina ločijo drug od drugega ter od drugih sintetičnih barvil in jih tako določamo.

Na zgornji del stolpca Al_2O_3 v kromatografski koloni dodamo 1 ml H_2O_2 . Antocianini, ki so včasih prisotni, se takoj razbarvajo. Karmin (košenilja) in klorofilin pa se ne razbarvata. Oksidacijo ustavimo tako, da spustimo skozi kolono 5 ml vode in nato 5 ml 50 %-nega etanola. Dobljeni eluat vržemo proč.

Antocianine, ki se niso razkrojili s H_2O_2 , karmin in del klorofilina, če je prisoten, eluiramo s 96 %-nim etanolom - HCl (1 + 1). Eluat koncentriramo v vakuumu in določamo kromatografsko.

Netopni del (srednjo plast) dobro operemo z vodo, dispergiramo s HCl in maceriramo z n-butanolom, pri čemer se barvila raztopijo. Butanol odstranimo s pipeto ali s centrifugo. Dodamo petkrat večjo prostornino petroletra in pretresemo. Spodnjo plast uporabljamo za določevanje antocianinov in karmina. Karamel se ne raztopi v n-butanolu.

Kromatografija

Papirno kromatografijo opravimo z istimi mobilnimi fazami kot pri sintetičnih barvilih.

Izražanje rezultatov

Rezultat izrazimo tako, da navedemo barvni indeks (colour index - C.I.) barvila, ki smo ga identificirali na kromatogramu.

2.2.21 Določanje mravljinčne kisline

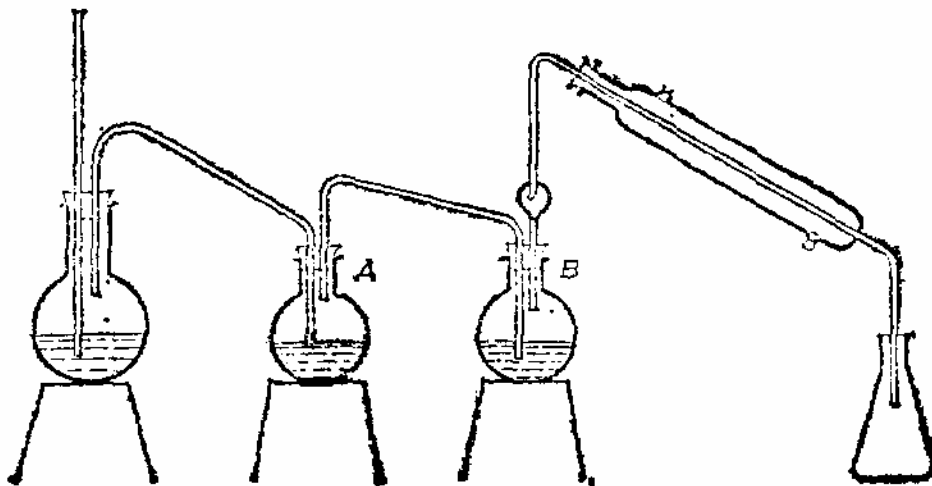
Princip in uporaba

Metoda temelji na lastnosti mravljične kisline, da reducira živosrebrov (II) klorid v netopen živosrebrov (I) klorid. Količino izločenega živosrebrovega (I) klorida določamo gravimetrijsko in na podlagi tega izračunamo ekvivalentno količino mravljične kisline. Metodo uporabljamo pri določanju mravljične kisline v sadnih izdelkih in polizdelkih.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) aparaturo za destilacijo z vodno paro (slika 5);
- 2) analitsko tehtnico;
- 3) filtrirni lonček tipa G - 4;
- 4) sušilnik s temperaturo $100 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$;
- 5) eksikator.



Slika 5. Aparatura za destilacijo z vodno paro

Reagenti

Uporabljamo naslednje reagente:

- 1) barijev karbonat ali kalcijev karbonat;
- 2) raztopino živosrebrovega (II) klorida in natrijevega klorida: 100 g živosrebrovega (II) klorida (HgCl_2) in 30 g natrijevega klorida (NaCl) raztopino v 1 l vode;
- 3) natrijev acetat, 50 %-no raztopino;
- 4) vinsko kislino, kristalno;
- 5) klorovodikovo kislino, 10 %-no raztopino;
- 6) etanol, 96 %-ni;
- 7) etileter.

Priprava vzorca

Vzorec za analizo dobro homogeniziramo.

a) Dokazovanje mravljične kisline

Odvisno od konsistence izdelka, 25 ml do 50 ml ali 25g do 50g vzorca, homogeniziranega za analizo, odtehtamo z natančnostjo 0,1 g (količina mravljične kisline v vzorcu ne sme biti večja od 0,15g).

Stehtamo količino vzorca kvantitativno prenesemo v balon za destilacijo (A) s prostornino 500 ml, nato dodamo 0,5 g do 1,0 g vinske kisline in toliko destilirane vode, kolikor je potrebno, da znaša prostornina raztopine v balonu približno 100 ml.

V balon (B) s prostornino 500 ml odtehtamo 2 g barijevega karbonata ali kalcijevega karbonata in dodamo 100 ml vode. Aparaturo sestavimo in destiliramo z vodno paro, pri čemer istočasno segrevamo oba balona in razvijalec vodne pare ter pazimo, da se ne spremeni nivo tekočine v balonih (to dosežemo s pomočjo gorilnika).

Da predestiliramo vso količino mravljične kisline, potrebujemo približno 1000 ml do 1500 ml destilata. Po končani destilaciji filtriramo vročo karbonatno raztopino skozi filtrirni papir s premerom 9 cm. Formiat, ki je pri tem nastal, preide v raztopino.

Usedlino s filtrirnega papirja izperemo s toliko vrele vode, kolikor je potrebno, da dobimo približno 250 ml filtrata v erlenmajerici. Vsebino v erlenmajerici takoj potem uparjamo, dokler ne dobimo približno 100 ml prostornine, pričakujemo pa, da bo količina mravljične kisline pri tem približno 100 mg. Če je količina mravljične kisline več kot 100 mg, raztopino uparjamo, da dobimo 150 do 200 ml prostornine.

Po uparjanju dodamo 10 ml 50 %-ne raztopine natrijevega acetata, 2 ml 10 %-ne raztopine klorovodikove kisline in 25 ml raztopine živosrebrovega (II) klorida z natrijevim kloridom. Raztopino nato premešamo in 2 uri segrevamo na topli vodni kopeli, pri čemer uporabljamo povratni hladilnik. Če nastane usedlina, pomeni, da je prisotna mravljična kislina (opalescence ali motnosti ne upoštevamo).

b) Določanje mravljične kisline

Destilacijo, filtriranje, uparjanje in segrevanje opravimo po postopku, ki je predpisan za kvalitativno dokazovanje pri tej metodi.

Med segrevanjem ob uporabi povratnega hladilnika se živosrebrov (II) klorid reducira v živosrebrov (I) klorid, ki ga nato filtriramo z vakuumsko črpalko v filtrirnem lončku G-4, ki smo ga poprej posušili do konstantne mase in stehali z natančnostjo 0,0002 g. Usedlino izperemo najprej z mrzlo vodo, nato z etanolom in etiletrom in sušimo 1 uro pri $100\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Filtrirni lonček s posušeno usedlino sušimo v eksikatorju in stehamo z natančnostjo 0,0002 g.

1 g živosrebrovega (I) klorida (Hg_2Cl_2) ustreza 0,0975 g mravljične kisline.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Izračunavanje

Količino mravljične kisline v odstotkih izračunamo po formuli:

$$\text{odstotek mravljične kisline} = \frac{(b - a) \cdot 0,0975}{c} \cdot 100$$

kjer je.

a - masa filtrirnega lončka v g;

b - masa filtrirnega lončka s posušeno usedlino v g;

c - odtehtek vzorca v g ali ml;

Prostornino vzorca v ml moramo preračunati na maso, izraženo v g, tako, da pomnožimo število ml z gostoto tovrstnega izdelka.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Ponovljivost

Razlika med rezultatoma dveh posameznih določanj, ki ju je vzporedno ali takoj eno za drugim, z isto metodo, v enakih pogojih in v istem laboratoriju ter na istem vzorcu opravil isti analitik, ne sme biti večja od 0,01 % relativne vrednosti dobljene povprečne vrednosti.

2.2.22 Določanje v etanolu netopnih snovi

Princip in uporaba

Metoda temelji na merjenju ostanka po ekstrakciji topnih snovi z 80 %-nim etanolom. Metodo uporabljamo za določanje v etanolu netopnih snovi pri konzerviranem grahu.

Aparatura in pribor

Poleg običajne laboratorijske opreme uporabljamo še:

- 1) mešalnik;
- 2) sušilnik, v katerem je temperatura 100 °C do 120 °C;
- 3) Büchnerjev filtrirni lijak;
- 4) filtrirni papir (s premerom 18,5 cm) z dopustnim odstopanjem $\pm 0,1$ mg, poprej stehtan in posušen;
- 5) eksikator s sušilnim sredstvom.

Reagenti

Kot reagent uporabljamo:

- 1) etanol, 80 %-no raztopino (V/V).

Priprava vzorca

Odtehtamo 100 g vzorca graha, ga izperemo z 200 ml vode in pustimo, da se odceja dve minuti na situ. Odcejeni grah zdrobimo in dobro premešamo, tako da dobimo homogeno maso.

Določanje

20 g vzorca, pripravljenega za analizo, odtehtamo v čisto in suho 1 l erlenmajerico in dodamo 300 ml 80 %-nega etanola. Vsebino premešamo, erlenmajerico pa spojimo s povratnim hladilnikom in segrevamo na gorilniku, dokler ne zavre. Naj vre 30 minut. Vrelo raztopino filtriramo skozi Büchnerjev lij skozi filtrirni papir, ki smo ga poprej dve uri sušili pri 100 °C in stehtali. Filtrirni papir mora segati 1 cm čez rob lija. Izpiramo z 80 %-nim etanolom, dokler ne dobimo bistrega in brezbarvnega filtrata.

Filtrirni papir z izpranim ostankom prenesemo v posušeno, ohlajeno in stehtano sušilno posodo in nato 2 uri sušimo v sušilniku pri temperaturi 100 °C. Nato posodo z ostankom ohladimo v eksikatorju in stehtamo.

Z istim vzorcem za analizo opravimo najmanj dve določanji.

Kot rezultat vzamemo srednjo vrednost dveh določanj, če so izpolnjene zahteve glede ponovljivosti.

Izračunavanje

$$\text{Odstotek v etanolu netopnih snovi} = (m_1 - m_2) \cdot 5$$

kjer je:

m_1 - masa sušilne posode s filtrirnim papirjem in netopnim ostankom v g;

m_2 - masa sušilne posode in posušenega filtrirnega papirja v g.