

2. Oznaczanie zawartości węglowodanów

Węglowodany są głównym, a ponadto najtańszym i najłatwiej dostępnym źródłem energii. Są one niezbędne do prawidłowego przebiegu przemian biochemicznych w organizmie. W przypadku niedostatecznej ilości węglowodanów w pożywieniu dochodzi do nieprawidłowego spalania kwasów tłuszczowych i powstawania ciał ketonowych powodujących zakwaszenie organizmu.

Organizm człowieka magazynuje cukrowce w niewielkich ilościach głównie w wątrobie i mięśniach. W przypadku wyczerpania tych zapasów i braku dowozu, organizm syntetyzuje niezbędną ilość glukozy z białek, a częściowo również i z tłuszczów. Nadmiar węglowodanów metabolizuje się do tłuszczów i w tej postaci odkładany jest w tkankach.

Zawartość węglowodanów w poszczególnych produktach żywnościowych jest bardzo zróżnicowana. Najważniejszą grupę produktów zawierających znaczne ilości węglowodanów złożonych stanowią zboża oraz nasiona roślin strączkowych. Głównym węglowodanem występującym w tej grupie środków spożywczych jest skrobia.

W prawie Unii Europejskiej na potrzeby etykietowania żywności przyjęto definicje węglowodanów i cukrów. „Węglowodany – oznaczają wszelkie węglowodany, które podlegają procesom metabolizmu w organizmie człowieka, łącznie z alkoholami wielowodorotlenowymi”. „Cukry – oznaczają wszelkie cukry proste i dwucukry obecne w żywności, z wyjątkiem alkoholi wielowodorotlenowych”.

Poza węglowodanami występującymi naturalnie w pożywieniu wyróżnia się cukry dodane. Terminem „cukry dodane” określa się węglowodany, które pochodzą z dodanych do produktu w procesie produkcji, np. cukru białego/

/brązowego, syropów glukozowo-fruktozowych, miodu, melasy cukrowej, krystalicznej dekstrozy.

Ze spożyciem węglowodanów ściśle łączy się spożycie włókna pokarmowego zwanego błonnikiem. W skład błonnika pokarmowego wchodzi: celuloza, hemiceluloza, pektyny, ligniny, śluz, gumy. Błonnik nie ulega w przewodzie pokarmowym człowieka trawieniu i wchłanianiu; wywiera on jednak istotną rolę na czynności przewodu pokarmowego jak również na przemianę materii.

Normy żywienia na włókno pokarmowe nie są dokładnie sprecyzowane, jednak zaleca się spożywanie od 20 do 40 g/osobę/dobę.

W dziennej racji pokarmowej węglowodany powinny zapewnić 45 – 65% energii, przy czym nie więcej niż 10% energii pożywienia powinna pochodzić z sacharozy, pozostała zaś ilość ze skrobi.

1 g węglowodanów dostarcza organizmowi 4 kcal (17 kJ).

Oznaczanie zawartości węglowodanów w środkach spożywczych wykonuje się za pomocą metod:

- chemicznych;
- fizycznych.

W metodach chemicznych wykorzystuje się właściwości redukujące cukrów związane z obecnością w ich cząsteczce grupy aldehydowej lub ketonowej.

Aby oznaczyć zawartość cukrów w środkach spożywczych należy:

- przygotować średnią próbkę badanego materiału;
- rozcieńczyć próbkę tak, aby zawartość cukru w badanym roztworze mieściła się w zakresie przewidzianym dla danej metody;

- odbiałczyć badany roztwór, ponieważ znajdujące się w produktacyjnościowych aminokwasy (cysteina, kwas asparaginowy), białka, niektóre kwasy organiczne wykazują również właściwości redukujące. Związki te zawyżają wyniki oznaczania cukrów.

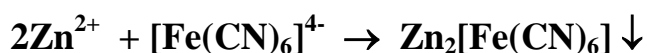
Jako środki odbiałczające stosowane są: roztwór taniny, zasadowy roztwór octanu ołowiu (II) oraz roztwory Carreza I i Carreza II.

Przygotowanie roztworów Carreza

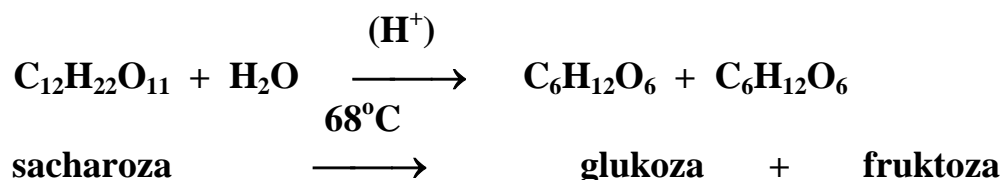
Roztwór Carreza I: 150 g żelazocyjanku potasu [$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ cz.d.a.] rozpuszcza się w wodzie destylowanej i uzupełnia do obj. 1 dm³.

Roztwór Carreza II: 300 g siarczanu cynku [$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ cz.d.a.] rozpuszcza się w wodzie destylowanej i uzupełnia do obj. 1 dm³.

Po dodaniu do badanej próbki odczynników Carreza I i II powstaje koloidalny żelazocyjanek cynku, który opadając na dno adsorbując substancje wielkocząsteczkowe (białka, pektyny, garbniki) oczyszczając w ten sposób roztwór cukru:



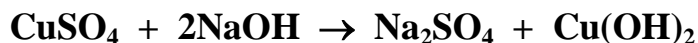
Jeżeli w badanym produkcie znajdują się cukry złożone nieredukujące np. skrobia, sacharoza, zachodzi konieczność przeprowadzenia hydrolizy (inwersji) roztworem kwasu solnego w ściśle określonych warunkach (czas ogrzewania, temperatura, objętość i stężenie roztworów itp.) w zależności od tego, czy cukier łatwo, czy też trudno hydrolizuje. Po hydrolizie roztwór natychmiast oziębia się i zobojętnia wodorotlenkiem kwas użyty do inwersji; stosowane do oznaczeń cukrów roztwory mają ściśle określoną alkaliczność, którą należy utrzymać w czasie wykonywania reakcji.



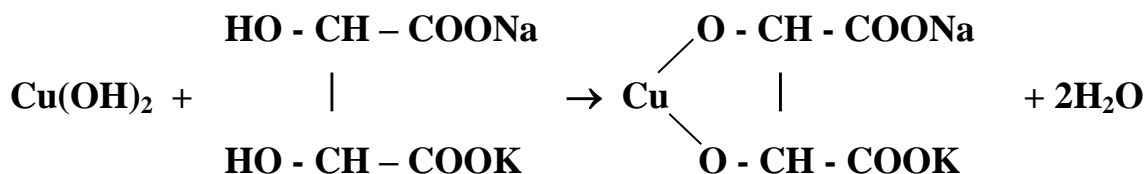
2.1. Metoda Bertranda

Przebieg reakcji chemicznych podczas oznaczania cukrów redukujących metodą Bertranda jest następujący:

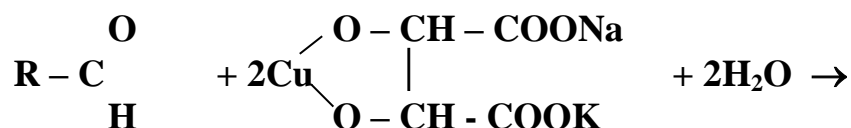
po dodaniu do roztworu cukrów odczynników Bertranda I i II zachodzą reakcje:

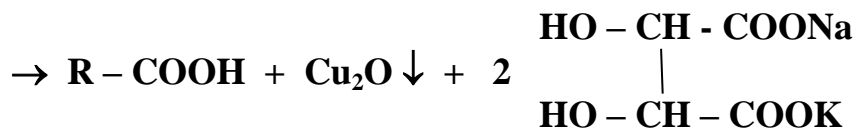


Powstały wodorotlenek miedzi(II) tworzy z winianem sodowo-potasowym rozpuszczalną sól – miedziowinian sodowo-potasowy:

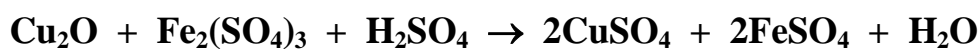


Po ogrzaniu cukry redukujące znajdujące się w badanej próbce redukują ilościowo powstały kompleks miedzi(II) do tlenku miedzi(I).

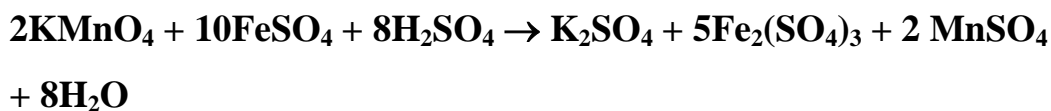




Wytrącony tlenek miedzi(I) rozpuszcza się w roztworze Bertranda III, w wyniku czego następuje utlenienie miedzi(I) do miedzi(II), przy czym żelazo(III) redukuje się do żelaza(II):



Ilość żelaza dwuwartościowego (równoważna ilość zredukowanej miedzi) utlenia się mianowanym roztworem nadmanganianu potasowego:



1 cm³ KMnO₄ o stęż. 0,02 mol/dm³ odpowiada 6,357 mg Cu.

Odczynniki:

1. Roztwór Bertranda I: 40 g siarczanu miedzi [CuSO₄ · 5H₂O] rozpuszcza się w ok. 500 cm³ wody destylowanej w kolbie miarowej poj. 1 dm³ i uzupełnia wodą do kreski;
2. roztwór Bertranda II: 200 g winianu sodowo-potasowego [NaKH₄C₄O₆ · 4H₂O] rozpuszcza się w ok. 600 cm³ wody destylowanej w kolbie miarowej poj. 1 dm³, dodaje 150 g wodorotlenku sodu rozpuszczonego w ok. 250 cm³ wody destylowanej i uzupełnia wodą destylowaną do kreski;
3. roztwór Bertranda III: 50 g siarczanu żelaza [Fe₂(SO₄)₃] rozpuszcza się w ok. 500 cm³ wody destylowanej z dodatkiem 200 cm³ roztworu kwasu siarkowego (d = 1,84) na gorąco, nie dopuszczając do wrzenia roztworu. Po

całkowitym rozpuszczeniu siarczanu żelazowego roztwór studzi się, przenosi do kolby miarowej poj. 1 dm³ i uzupełnia wodą destylowaną do kreski. Należy sprawdzić, czy roztwór Bertrand III nie redukuje nadmanganianu potasowego. Jeżeli dodawany kroplami roztwór KMnO₄ o stęż. 0,02 mol/dm³ odbarwia się, należy przygotowany roztwór Bertrand III utlenić, dodając kroplami roztwór KMnO₄ do jasnoróżowego zabarwienia, które po chwili samo znika.

4. Nadmanganian potasu KMnO₄ roztwór o stęż. 0,02 mol/dm³.

Oznaczanie zawartości cukrów redukujących w miodach pszczelich.

Wykonanie oznaczenia

Przygotowanie próbki:

Należy odważyć do zlewki 5 g wymieszanego miodu, rozpuścić w 30-40 ml wody destylowanej, i doprowadzić do wrzenia i przenieść do kolby miarowej o poj. 200 ml. Dodać po 5 ml Careza I i 5 ml Careza II, wymieszać, uzupełnić woda do kreski oraz przesączyć przez sączonek do kolby stożkowej (**PRZESĄCZ I**).

Do kolby miarowej o poj. 100 cm³ odmierzyć 10 cm³ przesączone I i uzupełnić wodą do kreski (**PRZESĄCZ II**)

Wykonanie oznaczenia: Do kolby stożkowej odmierza się pipetą 10 cm³ przesączone II i 10 cm³ wody destylowanej, dodaje się po 20 cm³ roztworów Bertrand I i Bertrand II, miesza, umieszcza na płytce grzewczej i doprowadza do wrzenia a następnie utrzymuje w łagodnym wrzeniu dokładnie przez 3 min. Płyn nad wytrącającym się podczas ogrzewania osadem [tlenkiem miedzi(I)] powinien zachować zabarwienie niebieskie. Po zakończeniu ogrzewania kolbę zdejmuje się z płytki, umieszcza w ukośnym położeniu na 15 min., a następnie dekantuje płyn z nad wytrąconego tlenku miedzi(I) przez sączonek ilościowy w ten sposób, aby jak najmniej osadu przedostało się na sączonek. Osad rozpuszcza się w tej samej kolbie w 20 cm³ roztworu Bertrand III. Sączonek umieszcza się w

kolbie z osadem rozpuszczonym w roztworze Bertranda III i dokładnie miesza w celu rozpuszczenia tlenku miedzi(I) znajdującego się na sączku.

Roztwór miareczkuje się natychmiast po rozpuszczeniu osadu roztworem nadmanganianu potasowego o stęż. $0,02 \text{ mol/dm}^3$ do zabarwienia słabo różowego utrzymującego się w ciągu 15 sek.

Z objętości nadmanganianu potasowego zużytego podczas miareczkowania oblicza się w miligramach ilości miedzi [Cu] zredukowanej podczas oznaczania według wzoru:

$$\text{Cu} = 6,36 \cdot a$$

gdzie:

a - liczba cm^3 roztworu KMnO_4 o stęż. $0,02 \text{ mol/dm}^3$ zużytego podczas miareczkowania;

6,36 - liczba mg Cu odpowiadająca 1 cm^3 roztworu KMnO_4 o stęż. $0,02 \text{ mol/dm}^3$.

Z oznaczonej ilości miedzi posługując się tab. II odczytuje się odpowiadającą jej liczbę miligramów cukru redukującego (inwertowanego lub innego). Zawartość cukrów redukujących oblicza się dla badanego produktu, uwzględniając rozcieńczenie próbki. Wyniki podaje się w % (miody, marmolady, odżywki) lub w g/dm^3 (wina).

Przykład obliczenia

Zawartość cukrów redukujących przed inwersją

Z tab. II oblicza się przez interpolację ilu mg cukru (np. laktozy) odpowiada oznaczona liczba mg miedzi. Oznaczono, że jest to np. 54 mg miedzi; według tab. II:

60 mg Cu odpowiada 30,4 mg cukru inwertowanego

50 mg Cu „ 25,1 mg cukru inwertowanego

10 mg Cu „ 5,3 mg cukru inwertowanego

4 mg Cu „ x mg cukru inwertowanego

$$x = \frac{4 \times 5,3}{10} = \frac{21,2}{10} = 2,12 \text{ mg cukru inwertowanego}$$

po zsumowaniu 50 mg Cu odpowiada 27,22 mg cukru inwertowanego

W celu obliczenia procentowej zawartości cukru inwertowanego w badanym produkcie uwzględnia się odważkę oraz rozcieńczenie próbki.

Wynik podajemy w gramach cukru inwertowanego zawartego w 100 g miodu

Tabela II

Obliczanie niektórych cukrów redukujących oznaczonych za pomocą metody Bertranda na podstawie wyliczonej ilości miedzi

Miedź (mg)	Glukoza bezwodna (mg)	Cukier inwertowany (mg)	Laktoza bezwodna (mg)	Maltoza bezwodna (mg)
20	9,8	9,7	14,0	18,0
	5,1	5,0	7,2	9,0
30	14,9	14,7	21,2	27,0
	5,1	5,1	7,3	9,2
40	20,0	19,8	28,5	36,2
	5,2	5,3	7,4	9,2
50	25,2	25,1	35,9	45,4
	5,3	5,3	7,6	9,3
60	30,5	30,4	43,5	54,7
	5,4	5,4	7,7	9,3
70	35,9	35,8	51,2	64,0
	5,5	5,5	7,7	9,3

80	41,4		41,3		58,9		73,3
		5,6		5,6		7,9	9,3
90	47,0		46,9		66,8		82,6
		5,6		5,7		7,9	9,4
100	52,6		52,6		74,7		92,0
		5,8		5,9		8,0	9,5
110	58,4		58,5		82,7		101,5
		5,8		6,0		8,0	
120	64,2		64,5		90,7		
		5,9		6,0		8,1	
130	70,1		70,5		98,8		
		6,1		6,2		8,2	
140	76,2		76,7		107,0		
		6,2		6,3			
150	82,4		83,0				
		6,3		6,3			
160	88,7		89,3				
		6,3		6,5			
170	95,0		95,8				
		6,4		6,5			
180	101,4		102,3				

Oznaczanie zawartości cukrów redukujących po inwersji

Przygotowanie próbki

Z przesączu I należy pobrać pipetą 10 ml roztworu do kolby miarowej o poj. 100 ml i dodać 10 ml wody. Następnie dodać 5 ml stężonego kwasu solnego. Roztwór w kolbie należy ogrzewać w łaźni wodnej do temp. 68-70⁰ C (termometr wewnątrz kolby) i utrzymywać te temperaturę 5 min. Po upływie tego czasu, roztwór szybko schładza się do temp. 20⁰C , dodaje 3 krople oranżu metylowego, zobojętnia 10% roztworem NaOH do zmiany zabarwienia na cebulkowe i uzupełnia woda do kreski.

Do kolby stożkowej odmierza się za pomocą pipety 10 ml roztworu po inwersji (cebulkowego) i 10 ml wody. Dalej oznaczenie jak przy cukrach.