

Kontrola kvasenia jodometrickým stanovením sacharózy

ANDREJ ŠEPITKA, Oddelenie glycidov a biochémie Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied v Bratislave

663 : 658.562

Sledovanie úbytku sacharózy v kvasiacich melasových záparách (napr. pri mliečnom kvasení), v ktorých množstvo necukrov prevyšuje množstvo sacharózy, je značne stažené.

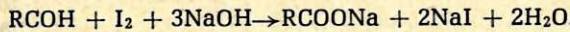
Obvyklé polarimetrické stanovenie sacharózy [1], bežne používané v cukrovarníctve, najmä pri analýzach produktov s nízkou čistotou, má tiež svoje nedostatky. Všetky chyby polarimetrického stanovenia sa markantne prejavia aj pri stanovení sacharózy v kvasiacich melasových záparách, obzvlášť pri dokvasovaní, keď je sacharózy vzhľadom k ostatným látкам veľmi málo. Ide tu predovšetkým o prítomnosť opticky aktívnych necukrov, vplyv alkálí (najmä pri neutralizácii kviasiacej záparáy vápenným mliekom) a o zrazeninovú chybu, ktoré robia polarimetrické stanovenia sacharózy nepresným.

Z chemických metód stanovenia sacharózy (po inverzii) sú známe rôzne obmeny metód oxydácie v alkalickom prostredí kabonylovej skupiny monosacharidov rôznymi oxydovadlami, ako sú Cu^{2+} , I_2 , $K_3[Fe(CN)_6]$ a ďalšie.

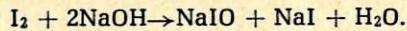
Najrozšírenejšie sú metódy založené na schopnosti monosacharidov, ktoré majú voľné aldehydické alebo ketonické skupiny, redukovať v alkalickom prostredí určité množstvá dvojmocnej medi (Fehlingov roztok) na nerozpustný Cu_2O , ktorý vypadne z roztoku vo forme tehlovo-červenej zrazeniny. Dnes sa najčastejšie používajú metódy odmerné: kysličník medný sa stanoví mangano-metricky podľa Bertranda alebo prebytok mediatej soli jodometricky podľa Schoorla [2].

Omnoho slabším oxydovadlom je jód, ktorý oxyduje v slabo alkalickom prostredí aldózy na príslušné monokarbónové kyseliny [3]. Za určitých podmienok je oxydácia aldóz kvantitatívna, zatiaľ čo ketózy a neredukujúce cukry sú skoro nedotknuté.

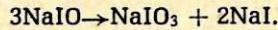
Alkalický roztok jodu oxyduje podľa rovnice:



Jód s líhom zo začiatku dáva jednany a jodidy:

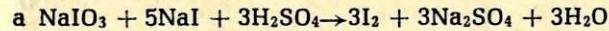
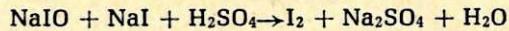


V závislosti od koncentrácie, času a teploty z väčej alebo menšej časti sa jednan mení na jodičnan a jodid:



$NaIO_3$ pri oxydácii sa rozkladá na $NaI + 3O$.

Po skončenej oxydácii aldózy, roztok sa okyseli, čím sa uvoľní prebytočný jód podľa rovnice:



V obidvoch prípadoch z každej molekuli jednanu sa získá jedna molekula jodu (I_2). Uvoľnený jód sa titruje sirnatanom. Rozdiel medzi celkové pridaným jodom a jodom nájdeným na konci stanovenia predstavuje množstvo jodu spotrebované (stechiometricky) na oxydáciu aldózy.

V silne alkalickom prostredí oxydácia beží až za aldonové kyseliny. Pre tieto prípady Romijn [3]

používa boraxového ústojného roztoku, aby si zabezpečil mierne alkalické prostredie.

Willstätter a Schudel [3] používali dvojnásobné množstvo roztoku 0,1 N I, ako by sa spotrebovalo na oxydáciu a alkalitu upravujú 0,1 N — roztokom NaOH. Auerbach a Bodländer [3] pufrujú analýzovaný roztok na pH 10,1 až 10,3. Kline a Acree [3] doporučujú pridať na oxydáciu také množstvo jódového roztoku, aby na uvoľnený jód kyselinou po skončení oxydácie sa nespotrebovalo viac ako 2 až 3 ml sínranatu.

Experimentálna časť

Z metód založených na redukcii Fehlingovho roztoku monosacharidami v alkalickom prostredí, preskúšali sme stanovenie podľa Schoorla [2], mikrometódu Saburov - Kalebina [4] a prispôsobené titrovanie Fehlingovým roztokom na metylénovu modrú (indikátor) na kviasiach melasových záparách mliečného kvasenia.

Tieto metódy sú zdľahové a stanovujú iba malé množstvá cukrov, preto sa nehodia na sledovanie úbytku cukru v kviasiach záparách v celom rozsahu.

Aby sme aspoň čiastočne odstránili chyby spojené s polarimetrickým stanovením sacharózy a nahradili pomerne zdľahové stanovenie Fehlingovým roztokom (používané hlavne pri stanovení zbytkového cukru), prispôsobili sme jodometrické stanovenie sacharózy na stanovenie sacharózy v kviasiach záparách pri mliečnom kvasení. Jodometrické stanovenie sacharózy v melase uvádzajú Silin [5].

Jód v alkalickom prostredí oxyduje glukózu na kyselinu glukónovú, pričom na sacharózu a fruktózu účinkuje veľmi nepatrne (dá sa zanedbať). Pre jodometrické stanovenie musíme najprv sacharózu invertovať a až potom stanoviť pri inverzii vzniknutú glukózu. Aby sme vylúčili vplyv čiastočnej oxydácie necukrov prítomných v kviasiacej zápare, ako aminokyseliny, redukčné látky, stanovenie prevádzkame dvojmo: stanovenie bez inverzie (slepý pokus) a stanovenie po inverzii. Pre sledovanie úbytku sacharózy v kviasiach záparách pri mliečnom kvasení osvedčil sa nám uvádzaný postup. Potrebné roztoky a ich koncentrácie vyplývajú z metodiky stanovenia.

Metodika stanovenia

1. Stanovenie po inverzii

Sladká, kvasiaca alebo vykvasená zápara sa zriedi v pomere 1 : 20. Zo zriedeného roztoku zápará odpipetuje sa 10 ml (tj. 0,5 ml pôvodnej záparáy s maximálnym množstvom sacharózy 0,07 g, čo zodpovedá koncentrácií asi 14 g/100 ml záparáy), pridá sa 10 ml 1 N-HCl, zahreje do varu a ponechá sa 10 min. invertovať. Po ochladení kyselina soľná sa zneutralizuje pridaním 10 ml 1 N-NaOH. Potom sa pridá 10 ml roztoku $Na_2CO_3 + NaHCO_3$ (0,2 molu Na_2CO_3 + 0,2 molu $NaHCO_3$ ad 1 l) na nastavenie priaznivého pH ca 10,3 a 25 ml 0,02 N roztoku jodu. Po 15 až 20 min. státi prebehne oxydácia glukózy

jódom. Po zoxydovaní pridá sa na okyselenie 2,5 ml 25% H_2SO_4 a titruje sa s 0,02 N-Na₂S₂O₃ na indikátor 2,5 ml 0,5% škrobového mazu, ktorý sa pridá ku koncu titrácie. Spotreba sírnatanu pri stanovení po inverzii nech je a ml.

Aby sme neplýtvali roztokom jódnu, ktorého by sme mali pri analýzach záparu ku koncu kvasenia, pri rovnakom dávkovaní 25 ml 0,02 N I, nadbytok, čo by mohlo spôsobiť aj nepresnosti (hlbšia oxydácia), množstvo použitého 0,02 N I upravujeme podľa predpokladaného skvasenia sacharózy.

Pri obsahu sacharózy v zápare približne

- 10—14 % použijeme 25 ml 0,02 N I
- 7—10 % použijeme 20 ml 0,02 N I
- 4—7 % použijeme 15 ml 0,02 N I
- 2—4 % použijeme 10 ml 0,02 N I
- 0—2 % použijeme 5 ml 0,02 N I

Z toho isteho riedenia záparu (1 : 20) môžeme vychádzať aj pri komplexometrickom stanovení vápnom viazaných kyselín.

2. Stanovenie bez inverzie (slepý pokus)

Odipetuje sa 10 ml zriedenej 1 : 20 záparu, pridá sa 10 ml roztoku Na₂CO₃ + NaHCO₃, množstvo 0,02 N roztoku jódnu ako pri stanovení po inverzii a nech sa 15 až 20 min. stáť, aby prebehla oxydácia ne-cukrov. Po zoxydovaní necukrov pridá sa 2,5 ml 25% H_2SO_4 a titruje sa na škrobový maz s 0,02 N-Na₂S₂O₃. Spotreba sírnatanu pri slepom pokuse nech je b ml.

3. Stanovenie titru sírnatanu na sacharózu

A. Príprava invertovanej sacharózy pre titer sírnatanu

20 g čistej sacharózy sa rozpustí v 150 ml destilovanej vody v banke 200 až 250 ml, pridá sa 15 ml konc. HCl (specifická váha 1,19) a priviedie sa do varu, v ktorom sa ponechá 5 min. sacharózu invertovať. Po ochladení na 20° C obsah banky sa kvantitatívne preleje do 1000 ml odmerky a doplní sa po značku destilovanou vodou. Získaný roztok obsahuje v 10 ml 0,2 g invertovanej sacharózy. Tento roztok môže sa bez zmeny uschovať až 1 rok.

B. Stanovenie titru

10 ml tohto roztoku (tj. 0,2 g invertovanej sacharózy) zneutralizuje sa 2 ml 1 N-NaOH, pridá sa 10 ml roztoku Na₂CO₃ + NaHCO₃, 50 ml 0,02 N roztoku jódnu a pokračuje sa ďalej ako pri slepom pokuse. Spotreba sírnatanu nech je A ml.

Spotreba jódnu na oxydáciu neinvertovanej sacharózy je tak nepatrňa, že ju môžeme pri našom stanovení titru zanedbať. Z tohto dôvodu nerobíme slepý pokus s 0,2 g sacharózy v roztoku bez inverzie, ale urobíme slepý pokus iba na destilovanú vodu, čím zistíme spotrebu sírnatanu na 50 ml 0,02 N roztoku jódnu. Postup je ten istý, iba miesto 10 ml roztoku invertovanej sacharózy zobiereme 10 ml destilovanej vody. Spotreba sírnatanu nech je B ml.

C. Titer sírnatanu na sacharózu

$$f = \frac{0,2 \text{ g sacharózy}}{B - A}$$

to znamená, že 1 ml nášho sírnatanu zodpovedá f gramom sacharózy.

4. Výpočet množstva sacharózy v zápare

$$z = 200 (b - a) f,$$

kde $z = g$ sacharózy/100 ml záparu,

a = ml sírnatanu pri stanovení po inverzii,

b = ml sírnatanu pri slepom pokuse,

f = titer sírnatanu na sacharózu.

Diskusia

Pri polarimetrickom sledovaní priebehu kvasenia sa často stáva, že ku koncu kvasenia (dokvasovania) sa nám objaví pri analýzach polarizácia, ktorá nezodpovedá prítomnej sacharóze. Inokedy náznaky kvasenia sú zreteľne prejavene spotrebou väppenného mlieka na neutralizáciu kyseliny mliečnej a pritom polarimetricky stanovené množstvo sacharózy sa nemení. Tieto anomálie vysvetľovali sa inverziou sacharózy pri kvasení a jej premenou na iné látky.

Stanovenie sacharózy, založené na redukcii Fehlingovho roztoku je zdlhavé a málo presné, ak ho používame v celom rozsahu koncentrácie sacharózy, aké sú v záparoch počas kvasenia. Osvedčilo sa nám jodometrické stanovenie sacharózy v kvasiacich záparach mliečneho kvasenia, ktoré je pomerne rýchle a spoľahlivé.

Z našich analýz kvasiacich zápar mliečneho kvasenia môžeme urobiť tento záver: dalo by sa očakávať, že pri kvasení inverzia predbieha kvasenie vo väčšej miere, ako sme zistili jodometrickým stanovením sacharózy. Pri jodometrickom sledovaní úbytku sacharózy pri kvasení, spotreba sírnatanu na stále to isté množstvo jódnu pri slepom pokuse bola viac-menej stála. V prípade inverzie sacharózy muselo by sa to prejavíť aj pri slepých pokusoch, kde by spotreba sírnatanu na rovnaké množstvo jódnu počas kvasenia stúpala. Napr. pri 5 dňovom kvasení spotreba sírnatanu pri slepom pokuse na 25 ml jódnu bola: 23,2, 23,3, 22,7, 23,2, 23,3.

Súhrn

Prispôsobili sme jodometrické stanovenie sacharózy na stanovenie sacharózy v kvasiacich záparach pri mliečnom kvasení, ktoré je pomerne rýchlejšie ako metódy stanovenia zvyškového cukru, založené na redukcii Fehlingovho roztoku a spoľahlivejšie ako priame polarimetrické stanovenie. Kontrola kvasenia jodometrickým stanovením sacharózy dá sa používať v celom rozsahu koncentrácie sacharózy, aké sú bežné v kvasiacich záparach.

Jodometrickým sledovaním úbytku sacharózy v kvasiacich záparach pri mliečnom kvasení sme zistili, že inverzia sacharózy v kvasiacich záparach nepredbieha kvasenie v takej miere, ako sa bežne pri rôznych ľažkostiah kvasenia pripúšťalo.

Literatúra

- [1] Jednotné analytické metódy, cukrovarské suroviny, výrobky a pomocné látky. Praha 1953
- [2] Jureček M.: Organická analýsa. Praha 1950
- [3] Browne C. A., Zerban F. W.: Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis. New York 1955, str. 894 a nasl.
- [4] Cerevitinov F. V.: Chemická složení a fyzikální vlastnosti ovoce a zeleniny. (Vybrané kapitoly z I. dielu autorovej knihy: Chemie a zbožíznařství ovoce a zeleniny, preklad z ruštiny). Praha 1952, str. 42
- [5] Silin P. M.: Chimičeskij kontrol' svěklosacharnogo proizvodstva. Moskva 1949

ПРИМЕНЕНИЕ ИОДОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ САХАРОЗЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ХОДА БРОЖЕНИЯ

Авторы приспособили иодометрический метод определения сахарозы для контроля ее содержания в бродильных суслах молочнокислого брожения. Новый метод требует меньше времени чем метод определения несбраженного сахара, основанный на восстановлении Фелинговой жидкости и надежнее прямого полярометрического определения. Контроль брожения иодометрическим определением сахарозы применим в полном пределе концентраций сахарозы, какие встречаются в бродильных суслах.

Иодометрическое определение изменений содержания сахарозы в бродильных суслах молочнокислого брожения показывает, что инверсия сахара не опережает брожение до той степени, как это на основании разных помех хода брожения до сих пор предполагалось.

IODOMETRIC DETERMINATION OF SACCHAROSE APPLIED TO FERMENTATION CONTROL

The author has adjusted the iodometric method for determination of saccharose in fermenting mashes during lactic fermentation process. The suggested method takes less time than determination of unfermented sugar based upon reduction of Fehling liquid and is far more reliable than direct polarometric method. The iodometric method can be applied in the full range of saccharose concentrations which are present under normal conditions. The iodometric method used for following the rates of saccharose decrease in fermenting mashes indicates, that inversion of saccharose does not precede fermentation as much as it has been, in connection with various irregularities of fermentation, till now assumed.

KONTROLLE DER GÄRUNG DURCH JODOMETRISCHE BESTIMMUNG DER SACCHAROSE

Die jodometrische Saccharosebestimmung wurde für den Zweck der Bestimmung der Saccharose in gärenden Maischen bei der Milchgärung angepasst. Diese Methode ist verhältnismässig schneller als die Methoden zur Restzuckerbestimmung, die auf der Reduktion der Fehlingschen Lösung basieren, und verlässlicher als die direkte polarometrische Bestimmung. Die Kontrolle der Gärung mittels der jodometrischen Saccharosebestimmung kann in dem ganzen Umfang der Saccharosekonzentration, die in den gärenden Maischen üblich ist, verwendet werden.

Durch jodometrische Verfolgung der Saccharose-Abnahme in gärenden Maischen bei der Milchgärung wurde festgestellt, dass die Inversion der Saccharose nicht in solchem Ausmass der Gärung vorausgeht, wie es bei verschiedenen Gärungsschwierigkeiten angenommen wurde.