

Analiza próbek środowiskowych leków i żywności

Oznaczanie zawartości cukrów bezpośrednio redukujących metodą Bertranda

/wg PN-67/A-86430/

Wiadomości wstępne

Laktoza należy do dwucukrów bezpośrednio redukujących i dlatego jej zawartość można oznaczać tzw. metodami redukcyjnymi, np. metodą Bertranda lub Lane-Eynona. Produkty mleczarskie takie, jak lody i mleko zagęszczone słodzone, oprócz laktozy, zawierają także sacharozę. Przy badaniu zawartości sacharozy w tych produktach metodą redukcyjną konieczne jest oznaczenie laktozy (metodą bezpośrednią), a następnie przeprowadzenie hydrolizy (inwersji) sacharozy do cukrów prostych (glukozy i fruktozy) i ponownego oznaczenia ogólnej zawartości cukrów redukujących (po inwersji).

Zasada oznaczania laktozy metodami redukcyjnymi

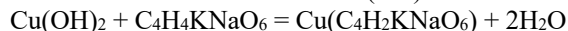
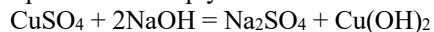
W metodach redukcyjnych wykorzystuje się zdolność laktozy do redukcji związków Cu(II), a następnie oznacza ilość miedzi zredukowanej do Cu₂O. Reakcję redukcji związków miedzi(II) do tlenku miedzi(I) przeprowadza się w środowisku alkalicznym i w podwyższonej temperaturze.

Metoda Bertranda

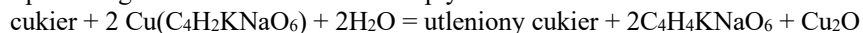
W praktyce laboratoryjnej najczęściej stosuje się metodę Bertranda, w której badany roztwór cukru zadaje się określoną ilością płynu Bertranda I i II i całość gotuje przez ok. 3 minuty. Wytrącony osad Cu₂O oddziela się, przemywa na sączku (typu Schotta 3G4) i rozpuszcza w płynie Bertranda III. Otrzymany roztwór miareczkuje się następnie mianowanym roztworem KMnO₄ do jasnoróżowego zabarwienia. Ilość oznaczonego w ten sposób Cu₂O przelicza się na zawartość cukru, korzystając z odpowiednich tablic.

W poszczególnych etapach oznaczenia zachodzą odpowiednie reakcje:

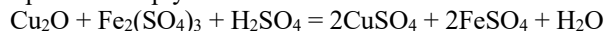
- po zmieszaniu płynu Bertranda I i II



- podczas gotowania roztworu cukru z płynem Bertranda I i II



- po dodaniu płynu Bertranda III do osadu Cu₂O



- podczas miareczkowania roztworem KmnO₄



Sprzęt i odczynniki

- waga analityczna
- zlewka o pojemności 50 cm³
- cylinder miarowy o pojemności 50 cm³
- pipety miarowe o pojemności 5,00 cm³ (x2) i 20,00 cm³ (x3)
- kolby miarowe o pojemności 100,0 i 250,0 cm³
- kolby stożkowe o pojemności 200 cm³ (x2) i 300 cm³
- lejek szklany z sączkiem z bibuły filtracyjnej (średni)
- zestaw do sączenia pod obniżonym ciśnieniem (2 kolby ssawkowe, sączek ze spiekem typu Schotta 3G4)
- biureta
- trójnóg z płytką metalową
- tryskawka
- roztwór A – zawiera 150 g K₄Fe(CN)₆·3H₂O (cz.d.a.) w 1 dm³
- roztwór B – zawiera 300 g ZnSO₄·7H₂O (cz.d.a.) w 1 dm³
- płyn Bertranda I – zawiera 40 g CuSO₄·5H₂O (cz.d.a.) w 1 dm³
- płyn Bertranda II – zawiera 150 g NaOH (cz.d.a.) i 200 g C₄H₄KNaO₆ (winian potasowo-sodowy, cz.d.a.) w 1 dm³
- płyn Bertranda III – zawiera 50 g Fe₂(SO₄)₃ (cz.d.a.) i 200 g stężonego H₂SO₄ (cz.d.a.) w 1 dm³
- mianowany roztwór KMnO₄ (cz.d.a.) o stężeniu 0,02 mol/dm³

Przygotowanie roztworu do oznaczeń

Do zlewki o pojemności 50 cm³ odważyć 12,5 g lodów (lub odmierzyć pipetą 20,00 lub 25,00 cm³ mleka) i przenieść ilościowo do kolby miarowej o pojemności 250,0 cm³, przepłukując zlewkę kilka razy wodą destylowaną. Następnie dodać 5,00 cm³ **roztworu A** i **roztworu B**, wymieszać, uzupełnić wodą destylowaną do kreski, ponownie wymieszać i pozostawić na 10 min., po czym, przesączyć przez bibułę filtracyjną do kolby stożkowej o pojemności 300 cm³. Otrzymany przesącz pozostawić do oznaczania zawartości cukrów bezpośrednio redukujących.

Wykonanie oznaczenia

Do kolby stożkowej o pojemności 200 cm³ odmierzyć pipetą 20,00 cm³ przesącza, dodać po 20,00 cm³ **płynu Bertranda I** i **płynu Bertranda II**, ustawić na płytce metalowej nad palnikiem i możliwie szybko doprowadzić do zagotowania, po czym dokładnie przez 3 min. utrzymywać w stanie lekkiego wrzenia. Następnie kolbę z zawartością wstawić szybko do zimnej wody (w położeniu skośnym), a jej ścianki spłukać ciepłą wodą destylowaną z tryskawki tak, aby cały osad Cu₂O znajdował się pod warstwą wodną. Płyn nad osadem powinien mieć barwę niebieską, co świadczy o nadmiarze niezredukowanych jonów Cu(II).

Po ostudzeniu, płyn nad osadu Cu₂O ostrożnie zdekantować na sączek Schotta i przesączyć do kolby ssawkowej. Osad w kolbie stożkowej przemyć 2-3 razy wodą destylowaną o temp. ok. 70°C i każdorazowo, po chwilowym odstaniu i opadnięciu osadu Cu₂O, przesączyć wodę nad osadu przez sączek Schotta. W toku tych czynności osad

Cu₂O nie powinien stykać się z powietrzem i dlatego przy dekantowaniu płynu z kolby należy zawsze pozostawiać jego część w kolbie. Na sączku Schotta zawsze pozostawić ok. 1-cm warstwę wodną nad osadem.

Do przemytego osadu Cu₂O w kolbie należy dodać 20,00 cm³ **plynu Bertranda III**, przenieść cały roztwór na sączek Schotta i przesączyć do czystej kolby ssawkowej, po czym kolbę popłukać kilka razy wodą destylowaną i przesączyć. Kolbę ssawkową odłączyć z zestawu i zmiareczkować uzyskany roztwór mianowanym roztworem KMnO₄ (0,02 mol/dm³) do lekko różowego zabarwienia utrzymującego się przez 30 s.

Wiedząc, że 1 cm³ roztworu KMnO₄ o stężeniu 0,02 mol/dm³ odpowiada (w tych warunkach oznaczenia) 6,357 mg Cu, obliczyć ilość (mg) zredukowanej miedzi i odczytać ilość odpowiadających jej cukrów bezpośrednio redukujących z tabeli.

Ilość miedzi zredukowanej i odpowiadające jej ilości cukru w metodzie Bertranda

Ilość Cu, mg	Ilość cukru, mg	Ilość Cu, mg	Ilość cukru, mg	Ilość Cu, mg	Ilość cukru, mg
30	14,73	77	39,62	124	66,88
31	15,24	78	40,18	125	67,49
32	15,75	79	40,74	126	68,09
33	16,25	80	41,31	127	68,70
34	16,76	81	41,87	128	69,31
35	17,27	82	42,43	129	69,92
36	17,77	83	42,43	130	70,54
37	18,28	84	43,56	131	71,15
38	18,78	85	44,12	132	71,76
39	19,30	86	44,68	133	72,38
40	19,80	87	45,25	134	72,99
41	20,32	88	45,81	135	73,60
42	20,84	89	46,37	136	74,22
43	21,37	90	46,93	137	74,83
44	21,89	91	47,50	138	75,45
45	22,42	92	48,06	139	76,06
46	22,94	93	48,64	140	76,69
47	23,47	94	49,21	141	77,31
48	24,00	95	49,79	142	77,94
49	24,53	96	50,37	143	78,56
50	25,06	97	50,95	144	79,19
51	25,59	98	51,53	145	79,81
52	26,12	99	52,10	146	80,44
53	26,66	100	52,68	147	81,06
54	27,19	101	53,36	148	81,69
55	27,72	102	53,84	149	82,32

56	28,25	103	54,42	150	82,95
57	28,78	104	54,99	151	83,59
58	29,31	105	55,57	152	84,22
59	29,84	106	56,15	153	84,86
60	30,38	107	56,73	154	85,49
61	30,92	108	57,31	155	86,13
62	31,46	109	57,86	156	86,76
63	32,01	110	58,47	157	87,40
64	32,55	111	59,06	158	88,03
65	33,09	112	59,65	159	88,67
66	33,63	113	60,24	160	89,30
67	34,17	114	60,82	161	89,94
68	34,72	115	61,42	162	90,58
69	35,26	116	62,03	163	91,23
70	35,80	117	62,64	164	91,88
71	36,34	118	63,24	165	92,52
72	36,89	119	63,85	166	93,17
73	37,43	120	64,45	167	93,82
74	37,97	121	65,06	168	94,47
75	38,51	122	65,67	169	95,12
76	39,06	123	66,27	170	96,77