CH – 12. 1.

Stanovenie polyfosfátov v mäsových výrobkoch spektrofotometricky

1. Určenie metódy

Fosfor je biogénny prvok, ktorý sa vyskytuje vo svalových tkanivách. Je súčasťou životne dôležitých biochemických zlúčenín a vyskytuje sa v rôzne viazaných formách.Do mäsových výrobkoch sa však pridávajú aj ďalšie zlúčeniny fosforu vo všeobecnosti nazývané polyfosfáty.Ide o pomerne širokú skupinu látok,ktorých základ tvorí P_2O_5.Kvalita mnohých mäsových výrobkov závisí na pomere tuku,vody a rozpustných bielkovín v spracúvanej surovine.Ak je vysoký obsah tuku a nízky obsah bielkovín,dochádza tepelným spracovaním ku skráteniu výrobku, t.j k uvoľneniu vody a oddeleniu tuku. Prídavok polyfosfátov zvyšuje rozpustnosť svalových bielkovín a značne zlepšuje pevnosť väzby tuku a vody v diele i vo výrobku.Účinok polyfosfátových výrobkov závisí na ich zložení a pH hodnote.

Obsah cudzorodých látok v potravinách zahrňuje vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 981/1996-100 z mája 1996-Potravinový kódex Slovenskej republiky.

Maximálne povolené množstvo pridaných fosfátov do mäsových výrobkov je 5000 mg/kg, prepočet na P_2O_5.Zo zdravotného hľadiska sú najväčšie obavy zo schopnosti fosfátových prípravkov reagovať s dvojmocnými katiónmi vápnika,vytvárať s nimi pevné väzby.

2. Princíp metódy

Po mineralizáci vzorky sa prítomný fosfor vo forme kyseliny fosforečnej s molybdénanom amónnym prevedie na fosfolymolybdénan , ktorý sa zredukuje síranom hydrazínu na molybdénovú modrú.Intenzita zafarbenia sa meria spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 590 nm.

3. Pomôcky

3.1 Prístroje a zariadenia

analytické váhy Sartorius s presnosťou 0,001 mg
homogenizátor vzoriek
spaľovacie zariadenie so spaľovacími trubicami 2020 DIGESTOR FOSS TECATOR
destilačná jednotka 1026 KJELTEC SYSTEM TECATOR, fa TECATOR SWEDEN
titračné banky
pipety 5, 10, 50 ml
odmerný valec
automatický titrátor 716 DMS TITRINO
odmerné banky - 100, 500,1000 ml

lieviky
spektrofotometer LKB Biochrom 4060 z firmy Pharmacia

3.2 Chemikálie

Všetky chemikálie sú minimálnej čistoty p.a. pokiaľ nie je uvedené inak. Na prípravu roztokov používame deionizovanú vodu.

kyselina sírova konc.
peroxid vodíka 30 %
1000 KJELTABS S/3.5 - katalyzátor [3.5 g K_2SO_4 + 3.5g Se]
kyselina boritá
0,1 % bromkrezolová zelená v alkohole
0,1 % metylénová červeň v alkohole
hydroxid sodný 40 % roztok
kyselina chlorovodíková c [0,1M]
deionizovaná voda
roztok NaOH - 30g NaOH sa rozpustí v 70 ml deionizovanej vody
roztok molybdénanu amónneho p.a - 2,5 % vodný roztok, k 250 ml deionizovanej vody sa po častiach pridá 150 ml koncentrovanej kyseliny sírovej, v tomto roztoku sa rozpustí 12,5 g molybdénanu amónneho p.a a po vychladení sa doplní vodou do 500 ml.
roztok síranu hydrazínu p.a - 0,15 %, 0,15 g sa rozpustí v 100 ml deion.vody
štandardný roztok KH_2PO_4 - 0,439g vysušeného KH_2PO_4 sa rozpustí s deion.vodou v 1000 ml odm.banke a po rozpustení sa doplní po značku, 1 ml obsahuje 100 μg P.

4. Bezpečnosť pri práci

Pri práci dodržiavame bezpečnostné predpisy v chemickom laboratóriu. Žieraviny (kyselina sírová,hydroxid sodný) po dôkladnom zriedení sa môžu vyliať do výlevky. Pri práci s kyselinou sírovou, peroxidom vodíka, hydroxidom sodným, katalyzátorom musíme používať rukavice.

5. Pracovný postup

5.1 Príprava merania

Kalibrácia

Pripraví sa pracovný štandardný roztok KH_2PO_4, naváži sa 0,439 g vysušeného KH_2PO_4 rozpustí sa s deionizovanou vodou v 1000 ml odmernej banke a po rozpustení sa doplní po značku. Z takto pripraveného roztoku sa odpipetuje 50 ml do 500 ml odmernej banky, 1ml obsahuje 10μg P.

Do sady 100 ml odmerných baniek sa napipetuje postupne 0, 1, 3, 5, 8, 10 ml pracovného štandardného roztoku KH_2PO_4, pridá sa 10 ml 2,5% roztoku molybdénanu amónneho, potom 4 ml 0,15% roztoku síranu hydrazínu, banky sa doplnia po značku deion.vodou a obsah sa premieša.

Potom sa banky vložia na 10 minút do vriaceho vodného kúpeľa. Pri zahrievaní vznikne modré sfarbenie,ktoré sa po ochladení roztoku zmeria spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 590 nm. Z nameraných hodnôt sa vypočíta lineárna regresia $Y = A + B . X$

5.2 Príprava vzorky

Zo zhomogenizovanej vzorky sa naváži na analytických váhach 1 g do mineralizačných trubíc. Vzorka sa spláchne minimálnym množstvom vody.Pridá sa 12 ml konc. kyseliny sírovej, 5 ml 30 % peroxidu vodíka a nakoniec tableta Se katalyzátora.Mineralizačné trubice sa vložia do spaľovacieho zariadenia 2020 DIGESTOR FOSS TECATOR. Mineralizuje sa pri teplote 430 °C asi hodinu až do vyčírenia a ešte cca 20 minút naviac. Po vychladnutí sa mineralizát kvantitatívne prenesie do 100 ml odmernej banky a doplní deion.vodou po značku a v prípade potreby sa prefiltruje cez papierový filter.

5.3 Meranie

Z takto pripaveného mineralizátu sa odpipetuje 1 ml, zneutralizuje sa s 30 % hydroxidom sodným približne do neutrálnej reakcie. Pridá sa 10 ml 2,5 % roztoku molybdénanu amónneho, obsah sa premieša. Potom sa pridajú 4 ml 0,15 % síranu hydrazínu, banky sa doplnia po značku deion.vodou a obsah sa premieša. Potom sa banky vložia na 10 minút do vriaceho vodného kúpeľa. Teplotu a dobu zahrievania treba presne dodržať, pretože značne ovplyvňujú intenzitu sfarbenia roztoku.
Pri zahrievaní vznikne modré sfarbenie, ktoré sa po ochladení roztoku zmeria spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 590 nm. Namerané hodnoty absorbancie (po odčítaní hodnoty slepého pokusu) sa vyhodnotia z kalibračnej krivky.

6. Vyhodnotenie nameraných údajov

Z nameranej hodnoty absorbancie sa z kalibračnej krivky zistí množstvo fosforu obsiahnuté v alikvotnom podieli mineralizátu a prepočíta sa na obsah P_2O_5 v mg/kg vzorky.

6.1 Spracovanie nameraných hodnôt

Výsledok v mg/kg sa udáva na celé číslo,zaokrúhlené na celé stovky.

$$wp = c \,.\, V \,.\, R \,.\, 2{,}2903 \,/\, n$$

wp: celkový obsah fosforečnanov vyjadrený ako P_2O_5 v mg/kg
c: µg/ml (P) odčítaný z kalibračnej priamky
V: objem v ml. do ktorého sa návažok egalizuje
n: návažka vzorky v gramoch
2,2903:prepočtový koeficient z P na P_2O_5
R: riedenie vzorky t.j ml vzorky / objem v ml

Obsah polyfosforečnanov sa stanoví nasledovne:

$$wpp = wp - B.\ 0{,}0106$$

wp: celkový obsah fosforečnanov vyjadrený ako P_2O_5 v mg/kg
wpp: obsah polyfosforečnanov v mg / kg
B: obsah bielkovín stanovený metódou č.330/2001

0,0106: prepočítavací faktor prečistú svalovinu (USDA - Consumer and Marketing - Chemistry Laboratory Guidebook)
0.0098: prepočítavací faktor pre dusenú šunku (USDA)
0,191: prepočítavací faktor pre trvanlivú salámu (USDA
0,110: prepočítavací faktor pre konzumnú salámu a párky (USDA