	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50020.1 – Stanovení obsahu cukrů (Hagedorn-Jensen)	Vydání	1
		Revize	1

STANOVENÍ OBSAHU CUKRŮ (HAGEDORN-JENSEN)

1 Účel a rozsah

Postup je určen ke stanovení obsahu cukrů ve vzorcích ovoce a zeleniny.

2 Princip

Cukry se extrahují ze vzorku směsným roztokem uhličitanů a po následném vyčeření extraktu Carrezovými činidly se stanoví titračně dle Hagedorna a Jensena. Tato metoda je založena na redukci známého množství hexakvanoželezitanu v alkalickém prostředí přítomnými redukujícími cukry. Nespotřebovaný hexakvanoželezitan se stanoví jodometricky.

Redukující cukry se stanoví přímo. Celkový obsah redukujících a neredukujících cukrů se stanoví po hydrolýze a vyjádří se jako obsah glukózy.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

1 Destilovaná nebo deionizovaná voda.

2 Uhličitan sodný, $c(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 0,05 \text{ mol/l}$.

Příprava: 10,6 g uhličitanu sodného bezvodého (nebo 28,6 g uhličitanu sodného dekahydrátu) se rozpustí v asi 200 ml vody (1), převede se do 2000ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku.

3 Hydrogenuhlíčan sodný bezvodý, $c(\text{NaHCO}_3) = 0,15 \text{ mol/l}$.

Příprava: 25,2 g hydrogenuhlíchanu sodného bezvodého se rozpustí v asi 200 ml vody (1), převede se do 2000ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku.

4 Směsný extrakční roztok.


Příprava: Smíchá se 750 ml roztoku uhličitanu sodného (2) a 250 ml roztoku hydrogenuhlíchanu sodného (3).

5 Carrezovo činidlo I.


Příprava: 21,9 g octanu zinečnatého dihydrátu se rozpustí asi v 50 ml vody (1), přidají se 3 ml ledové kyseliny octové (13). Roztok se kvantitativně převede do 100ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku.

6 Carrezovo činidlo II.

Příprava: 10,6 g hexakvanoželeznatanu draselného trihydrátu se naváží a převede do 100ml odměrné baňky, rozpustí se a doplní vodou (1) po značku.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd	Vydání	1
		50020.1 – Stanovení obsahu cukrů (Hagedorn-Jensen)	Revize

- 7 Diethylether.
- 8 Kyselina sírová, 96 % (m/m), $\rho(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84 \text{ g/ml}$.
- 9 Kyselina sírová, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) \approx 20 \text{ \% (V/V)}$.
Příprava: 210 ml kyseliny sírové (8) se smíchá s 790 ml vody (1). Roztok se připravuje v kádince, která se umístí do studené vodní lázně. Kyselina sírová se pomalu, za stálého míchání, přidává do vody (1).
- 10 Neutrální červeň - indikátor; $\approx 0,1\%$ roztok v 60% ethanolu.
Příprava: 0,1 g neutrální červeně se naváží a převede do 100ml odměrné baňky, přidá se 60 ml ethanolu. Po rozpuštění se doplní po značku vodou (1).
- 11 Hydroxid sodný, $c(\text{NaOH}) = 100 \text{ g/l}$.
Příprava: 100 g hydroxidu sodného se rozpustí v asi 500 ml vody (1). Během rozpouštění se kádinka s roztokem ochlazuje ve studené vodní lázni. Poté se roztok kvantitativně převede do 1000ml odměrné baňky a po vytemperování na laboratorní teplotu se doplní po značku vodou (1).
- 12 Hexakynoželezitan draselný, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,05 \text{ mol/l}$.
Příprava: 16,5 g hexakynoželezitanu draselného a 22 g bezvodého uhličitanu sodného se rozpustí v asi 300 ml vody (1), převede se do 1000ml odměrné baňky a doplní vodou po značku. Před použitím se roztok přefiltruje.
- 13 Kyselina octová, 99 % (m/m), $\rho(\text{CH}_3\text{COOH}) = 1,05 \text{ g/ml}$.
- 14 Kyselý směsný roztok.
Příprava: 70 g chloridu draselného a 20 g síranu zinečnatého se rozpustí v asi 400 ml vody (1). Roztok se převede do 1000ml odměrné baňky a přidá se 200 ml kyseliny octové (13). Po vytemperování se doplní po značku vodou (1).
- 15 Jodid draselný, $c(\text{KI}) = 50 \text{ \% (m/m)}$.
Příprava: 50 g jodidu draselného se rozpustí v 50 ml vody (1).
- 16 Thiosíran sodný, pentahydrát, odměrný roztok, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}) = 0,05 \text{ mol/l}$.
Příprava: 25 g thiosíranu sodného pentahydrátu se rozpustí v asi 200 ml vody (1), kvantitativně se převede do 2000ml odměrné baňky a doplní po značku vodou (1). Roztok se nechá stát 1 týden a poté se stanoví faktor (bod 5.2.1).
- 17 Škrob rozpustný.
Příprava: 1 g škrobu se rozpustí v 20 ml vody (1) a přidá se do 80 ml vroucí vody (1). Roztok se vaří 3 min a poté se zchladí na laboratorní teplotu. Roztok škrobu se skladuje v lednici.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd	Vydání	1
		50020.1 – Stanovení obsahu cukrů (Hagedorn-Jensen)	Revize

18 Dvojchroman draselný, roztok, $c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) = 8,33 \text{ mmol/l}$.

Příprava: Dvojchroman draselný se suší 2 h v sušárně při 105 °C. Zchladí se v exsikátoru a poté se naváží 2,4518 g. Kvantitativně se převede do 1000ml odměrné baňky, kde se rozpustí a doplní po značku vodou (1).

19 Jodid draselný, roztok, $c(\text{KI}) = 100 \text{ g/l}$.

Příprava: 100 g jodidu draselného se rozpustí v asi 500 ml vody (1). Kvantitativně se převede do 1000ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku.

20 Kyselina chlorovodíková, 35 % (m/m), $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.

21 Kyselina chlorovodíková, vodný roztok, ředění 1 : 5 (V/V).

Příprava: 100 ml kyseliny chlorovodíkové (20) se smíchá s 500 ml vody (1). Roztok se připraví tak, že kyselina chlorovodíková se za stálého míchání přidává do vody.

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 2 Laboratorní ponorný mixer.
- 3 Vodní lázeň s regulací teploty.
- 5 Odměrná baňka např. Stohmannova, 250 ml.
- 6 Skleněná nebo automatická byreta, 25 ml.
- 7 Erlenmeyerova baňka, 100 ml.
- 8 Filtrační papír nízké hustoty, kruhové výseče 18,5 cm.


5 Postup

5.1 Extrakce směsným roztokem uhličitanů

Naváží se 5 g analyzovaného vzorku s přesností 0,001 g a kvantitativně se převede pomocí 50 ml směsného extrakčního roztoku (4) do nádoby mixeru. Prvních 30 s se provádí homogenizace při nižších otáčkách, následující 2 min pak na plný výkon. Obsah z nádoby mixeru se kvantitativně převede pomocí směsného extrakčního roztoku (4) do 250ml odměrné baňky. Odměrná baňka se nechá stát 20 min při laboratorní teplotě za občasných promíchání. Poté se k obsahu baňky přidá 5 ml Carrezova činidla I (5), promíchá se krouživým pohybem a přidá se 5 ml Carrezova činidla II (6) a opět se promíchá. Pokud se vytvoří pěna, odstraní se přidávkem (1 – 2) kapek diethyletheru (7). Obsah odměrné baňky se doplní po značku směsným extrakčním roztokem (4), promíchá se a filtruje se přes suchý skládaný papírový filtr do kádinky.

Poznámky

- 1 Navážku lze upravit podle typu vzorku a předpokládaného obsahu cukrů. Např. u cibule a česneku se volí navážka 2,5 g.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd	Vydání	1
		50020.1 – Stanovení obsahu cukrů (Hagedorn-Jensen)	Revize

5.2 Stanovení obsahu redukujících cukrů

Odpipetuje se 5 ml (nebo 10 ml pro vzorky s nižším obsahem redukujících cukrů) filtrátu do 100ml Erlenmeyerovy baňky, přidá se 10 ml hexakvanoželezitanu draselného (12), promíchá se a baňka se vloží na 20 min do vroucí vodní lázně. Pak se baňka rychle ochladí na laboratorní teplotu ponořením do studené vody. Přidá se 25 ml kyselého směšného roztoku (14) a 1 ml roztoku jodidu draselného (15). Po (1 – 2) min se titruje odměrným roztokem thiosíranu sodného (16) až do světle žlutého zbarvení. Pak se přidá 1 ml škrobového indikátoru (17) a obsah baňky se titruje dál až do vymizení tmavě modrého zbarvení. Titrace je ukončena, když vzniklé bílé mléčné zbarvení vydrží 1 min. Zaznamená se spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného v ml (a).

Se stanovením se současně provede slepý pokus. Do 100ml Erlenmeyerovy baňky se místo vzorku pipetuje 5 ml směšného extrakčního roztoku (4). Dále se postupuje stejně jako se vzorkem (viz výše), tj. přidávkem 10 ml hexakvanoželezitanu draselného (12). Zaznamená se spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného (16) v ml (S). Slepý pokus se provede dvakrát a vypočítá se aritmetický průměr.

5.2.1 Stanovení faktoru odměrného roztoku thiosíranu sodného

Do 250ml titrační baňky se pipetuje 20 ml dvojjchromanu draselného (18) tj. množství, které odpovídá spotřebě 20 ml thiosíranu sodného (16). Přidá se 20 ml jodidu draselného (19) a 7 ml kyseliny chlorovodíkové (21). Baňka se postaví na magnetickou míchačku a obsah se titruje thiosíranem sodným (16) do žlutého zbarvení. Poté se přidají (3 – 4) kapky roztoku škrobu (17) jako indikátoru. Roztok se zbarví tmavě modře. Pokračuje se v titraci do vyjasnění roztoku (nazelenalé zbarvení způsobené vzniklou chromitou solí). Faktor odměrného roztoku thiosíranu sodného (16) se vypočítá podle vztahu


$$f = \frac{V_{teoret}}{V}$$

kde V_{teoret} je teoretický objem odměrného roztoku thiosíranu sodného (16) potřebný k titraci dvojjchromanu draselného (18) v ml,

V skutečný objem odměrného roztoku thiosíranu sodného (16) spotřebovaného při titraci v ml.

5.3 Stanovení obsahu veškerých cukrů po hydrolýze

Odpipetuje se 5 ml (nebo 10 ml pro vzorky s nižším obsahem cukrů) filtrátu do 100ml Erlenmeyerovy baňky a přidají se 2 ml roztoku kyseliny sírové (9). Baňka se vloží do vodní lázně vyhřáté na 70 °C. Ponechá se v lázni po dobu 5 min od okamžiku, kdy teplota obsahu v baňce dosáhne 70 °C (měří se teploměrem). Celkový čas zahřívání baňky od vložení do lázně může být maximálně 10 min. Po uplynutí této doby se obsah v baňce rychle ochladí na laboratorní teplotu ponořením do studené vody. Po ochlazení se přidá několik kapek indikátoru

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50020.1 – Stanovení obsahu cukrů (Hagedorn-Jensen)	Vydání	1
		Revize	1

neutrální červeň (10) a neutralizuje se roztokem hydroxidu sodného (11) do žlutooranžového zbarvení. Poté se pokračuje dále podle bodu 5.2., tj. přidavkem 10 ml hexakynoželezitanu draselného (12).

6 Výpočet a vyjádření výsledku

Obsah přímo redukujících cukrů X , respektive veškerých redukujících cukrů po hydrolýze Y se vyjádří, jako obsah glukózy ve vzorku v hmotnostních procentech a vypočítá se podle vztahu

$$X(Y) = 100 \times \frac{(S - a) \times f \times n \times V}{m \times V_1}$$

- kde S je spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného při titraci slepého pokusu v ml,
 a spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného při titraci vzorku v ml,
 f faktor odměrného roztoku thiosíranu sodného,
 n 0,001745 - množství glukózy v g, které je ekvivalentní 1ml 0,05 mol/l thiosíranu sodného,
 V celkový objem extraktu v ml,
 V_1 pipetovaný objem extraktu ke stanovení redukujících cukrů v ml,
 m hmotnost navážky vzorku v g.

7 Literatura

- 1 Novotný, F.: JPP Metodiky chemických rozborů pro hodnocení kvality odrůd I, ÚKZÚZ, Brno, 2006