	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50030.1 – Stanovení obsahu škrobu	Vydání	1
		Revize	1

STANOVENÍ OBSAHU ŠKROBU

1 Účel a rozsah

Postup je určen pro stanovení obsahu škrobu ve vzorcích rostlinného původu. V případě stanovení obsahu škrobu v bramborách a výrobcích z brambor se postupuje podle příslušné modifikace.


2 Princip

Vzorek se hydrolyzuje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, přítomné bílkoviny se odstraní Carrezovými činidly a poté se škrob stanoví polarimetricky změřením optické otáčivosti. Současně se provede korekce na opticky aktivní látky rozpustné v roztoku 40% ethanolu.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- 2 Kyselina chlorovodíková, 35 % (m/m), $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 3 Kyselina chlorovodíková, $c(\text{HCl}) = 0,116 \text{ mol/l}$.
Příprava: V 1000ml odměrné baňce se přidá 10,3 ml kyseliny chlorovodíkové (2) do asi 500 ml vody (1). Po vytemperování se doplní vodou (1) po značku. Přesná koncentrace kyseliny chlorovodíkové se kontroluje titračně (viz poznámka č. 1).
- 4 Kyselina chlorovodíková, $c(\text{HCl}) = 0,312 \text{ mol/l}$.
Příprava: V 1000ml odměrné baňce se přidá 27,5 ml kyseliny chlorovodíkové (2) do asi 500 ml vody (1). Po vytemperování se doplní vodou (1) po značku. Přesná koncentrace kyseliny chlorovodíkové se kontroluje titračně (viz poznámka č. 1).
- 5 Kyselina chlorovodíková, $c(\text{HCl}) = 7,0 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do asi 300 ml vody (1) se za stálého míchání a chlazení přidává postupně 618 ml kyseliny chlorovodíkové (2). Po vytemperování se roztok převede do 1000ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku.
- 6 Kyselina octová ledová, 99,8 % (m/m), $\rho(\text{CH}_3\text{COOH}) = 1,05 \text{ g/ml}$.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd	Vydání	1
		50030.1 – Stanovení obsahu škrobu	Revize

7 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 (6). Roztok se kvantitativně převede do 100ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku.

8 Carrezovo činidlo II.

Příprava: 10,60 g hexakynoželeznanatanu draselného trihydrátu se rozpustí ve vodě a po převedení do 100ml odměrné baňky se doplní vodou (1) po značku.

9 Ethanol, $\approx 96 \%$, denaturovaný.

10 Ethanol, $c(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) \approx 40 \%$ (V/V).

Příprava: Smíchá se 420 ml ethanolu (9) a 580 ml vody (1). Roztok se zneutralizuje na indikátor fenolftalein.

11 Hydrogenuhličitan draselný, roztok, $c(\text{KHCO}_3) = 0,116 \text{ mol/l}$

Příprava: Hydrogenuhličitan draselný se suší 2 h v sušárně při 98°C . Po zchlazení v exsikátoru se naváží 1,161 g, rozpustí se ve vodě (1), kvantitativně se převede do 100ml odměrné baňky a doplní po značku vodou (1).

12 Hydrogenuhličitan draselný, roztok, $c(\text{KHCO}_3) = 0,312 \text{ mol/l}$.


Příprava: Hydrogenuhličitan draselný se suší 2 h v sušárně při 98°C . Po zchlazení v exsikátoru se naváží 3,124 g, rozpustí se ve vodě (1), kvantitativně se převede do 100ml odměrné baňky a doplní po značku vodou (1).

13 Methyloranž, indikátor, 0,1% roztok.

Příprava: 0,1 g methyloranže se rozpustí ve vodě a po převedení do 100ml odměrné baňky se doplní vodou (1) po značku.

Poznámky

- 1 *Přesná koncentrace roztoků kyseliny chlorovodíkové (3) a (4) se kontroluje následujícím postupem: Do 250ml titrační baňky se pipetuje 10 ml roztoku hydrogenuhličitanu draselného (11), tj. množství, které odpovídá teoretické spotřebě 10 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové (3). Přidají se (2 – 3) kapky methyloranže (13) jako indikátoru. Titruje se roztokem kyseliny chlorovodíkové (3) do právě postřehnutelného růžovo-červeného zbarvení. Poté se baňka zakryje hodinovým sklem a pomalu se zahřívá k varu, přičemž dojde k odbarvení roztoku do žluto-oranžova. Roztok se přestane zahřívát a ochladí se. Roztok by měl po vychladnutí zůstat žluto oranžový (pokud se zbarví zpět do růžovo-červeného zbarvení, byl roztok pretitrován a stanovení se opakuje). Hodinové sklo se opláchně do titrační baňky a roztok se dotitruje roztokem kyseliny chlorovodíkové (3) do růžově-červeného zbarvení. Pokud se stanovený faktor nerovná 1, upravuje se roztok kyseliny chlorovodíkové dle potřeby buď destilovanou vodou nebo kyselinou chlorovodíkovou (2).*

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd	Vydání	1
		50030.1 – Stanovení obsahu škrobu	Revize

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

$V_{teoret.}$ je teoretický objem roztoku kyseliny chlorovodíkové (3) potřebný k titraci roztoku hydrogenuhličitanu draselného (11) v ml (tzn. 10 ml),

V je skutečný objem kyseliny chlorovodíkové (3) spotřebovaný při titraci v ml.

Přesná koncentrace roztoku kyseliny chlorovodíkové (4) se stanoví popsáním postupem za použití odpovídajícího roztoku hydrogenuhličitanu draselného (12).

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Analytické váhy s přesností nejméně 0,001 g.
- 2 Polarimetr s polarizační trubicí o délce 200 mm, např. Polarimetr MCP-300.
- 3 Vodní lázeň s regulací teploty.
- 4 Kohlrauschova nebo cukrovarnická odměrná baňka, 100 ml.
- 5 Varná baňka se zábrusem, 250 ml.
- 6 Chladič vodní zpětný, se zábrusem.
- 7 Filtrační papír nízké hustoty, kruhové výseče 18,5 cm.


5 Postup

5.1 Stanovení celkové optické otáčivosti

Do 100ml Kohlrauschovy nebo cukrovarnické baňky se naváží 2,5 g zkušební vzorku s přesností 0,001 g, přidá se 25 ml kyseliny chlorovodíkové (4) a obsah se promíchá. Dalšími 25 ml téže kyseliny (4) se opláchnou případné ulpělé zbytky vzorku na stěnách baňky, obsah baňky se promíchá a vloží se do vroucí vodní lázně na 15 min. Uvedená doba se počítá od okamžiku, kdy vodní lázeň po vložení baňky se vzorkem opět dosáhne varu. Během prvních 3 min se baňkou ve vroucí vodní lázni krouží a dále se s ní v pravidelných intervalech protřepává. Po vyjmutí z lázně se přidá asi 20 ml vody (1) a baňka se rychle ochladí na laboratorní teplotu.

K obsahu odměrné baňky se přidá 5 ml Carrezova činidla I (7), obsah baňky se 1 min promíchává. Dále se přidá 5 ml Carrezova činidla II (8) a opět se promíchává 1 min. Nechá se stát 15 min při laboratorní teplotě. Poté se obsah odměrné baňky doplní po značku vodou (1) a promíchá. Obsah se filtruje přes suchý papírový filtr. Pokud filtrát není čirý, znovu se přelije přes tentýž filtr. V případě, že se filtrát nevyčereí, použijeme dvojnásobné množství Carrezových činidel.

Čirý filtrát se převede do polarizační trubice a na polarimetru se změří optická otáčivost.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd	Vydání	1
		50030.1 – Stanovení obsahu škrobu	Revize

Poznámky

- 2 *U vzorků brambor a výrobků z brambor se na stanovení celkové optické otáčivosti použije kyselina chlorovodíková (3) o koncentraci 0,116 mol/l. Navažuje se 10 g vzorku s přesností 0,001 g. Další postup práce je stejný.*
- 3 *Pro správnost metody je důležitá doba trvání a teplota hydrolýzy. Je nutné použít vodní lázeň přiměřené velikosti, aby bylo možno zajistit rychlý nárůst teploty a stabilní teplotní podmínky.*


5.2 Stanovení optické otáčivosti látek rozpustných ve 40% ethanolu (korekce na obsah opticky aktivních látek)

Do 100ml Kohlrauschovy nebo cukrovarnické baňky se naváží 5 g vzorku s přesností 0,001 g, přidá se 80 ml roztoku ethanolu (10). Baňka se nechá stát 1 h při laboratorní teplotě. Během této hodiny se šestkrát silně protřepe, aby se zajistilo důkladné promíchání analytického vzorku s ethanolem. Poté se obsah baňky doplní ethanol (10) po značku, promíchá se a filtruje přes suchý filtr. Pokud filtrát není čirý, znovu se přelije přes tentýž filtr.

Do 250ml varné baňky se zábrusem se odpipetuje 50 ml takto připraveného filtrátu a přidá se 2,1 ml kyseliny chlorovodíkové (5). Obsah baňky se promíchá, baňka se spojí se zpětným chladičem a ponoří se do vroucí vodní lázně na 15 min. Poté se baňka vyjme, sejme se zpětný chladič, který se vypláchne vodou (1) do baňky. Baňka s roztokem se vytemperuje na laboratorní teplotu, obsah se převede do 100ml odměrné baňky (4) a dále se postupuje stejně jako v bodě 5.1.

Poznámky

- 4 *U brambor nebo produktů z brambor se při stanovení korekce na obsah opticky aktivních látek postupuje následovně. Do 250ml odměrné baňky se odváží 12,5 g vzorku s přesností 0,001 g, obsah baňky se doplní po značku vodou (1) a promíchá. Baňka se za občasného promíchání nechá stát 1 h při laboratorní teplotě. Potom se obsah baňky filtruje přes suchý filtr do kádinky. Přesně 50 ml filtrátu se odpipetuje do 250ml varné baňky se zábrusem a postupuje se tak, jak je popsáno ve druhém odstavci bodu 5.2.*
- 5 *V průběhu měření velkých sérií některých jednosložkových vzorků (kukuřice zrnová, pšenice setá, tritikále, ječmen a brambory) bylo zjištěno, že korekce na obsah opticky aktivních látek (α_2) se u všech vzorků rovná nule.*

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50030.1 – Stanovení obsahu škrobu	Vydání	1
		Revize	1

6 Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah škrobu vyjádřený v hmotnostních procentech (%) se vypočítá podle vztahu

$$x = \frac{2000 \times (\alpha_1 - \alpha_2)}{\alpha_D^{20}} \times k$$

kde α_1 je úhel otáčení v kruhových stupních, zjištěný postupem podle 5.1,

α_2 úhel otáčení v kruhových stupních, zjištěný postupem podle 5.2,

α_D^{20} měrná optická otáčivost čistého škrobu ve stupních (viz tabulka č.1),

k 0,34620 – konstanta pro přepočtení stupňů (1° mezinárodní = 0,34620 °kruhových).

Poznámky

6 Při výpočtu obsahu škrobu u brambor a výrobků z brambor je nutné zohlednit odlišné navážky vzorku pro stanovení podle bodu 5.1 a 5.2. Obsah škrobu vyjádřený v hmotnostních procentech (%) se pak vypočítá podle vztahu

$$x = \frac{2000}{\alpha_D^{20}} \times \left(\frac{2,5\alpha_1}{m_1} - \frac{12,5\alpha_2}{m_2} \right) \times k$$

kde m_1 je hmotnost navážky vzorku v g, pro postup podle 5.1,

m_2 hmotnost navážky vzorku v g, pro postup podle 5.2.


α_1 úhel otáčení v kruhových stupních, zjištěný postupem podle 5.1,

α_2 úhel otáčení v kruhových stupních, zjištěný postupem podle 5.2,

α_D^{20} měrná optická otáčivost čistého škrobu ve stupních (viz tabulka č.1),

k 0,34620 – konstanta pro přepočtení stupňů (1° mezinárodní = 0,34620 °kruh.).

Výsledek stanovení obsahu škrobu se udává jako průměr ze dvou paralelních stanovení za předpokladu, že je splněn požadavek na hodnotu opakovatelnosti.

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50030.1 – Stanovení obsahu škrobu	Vydání	1
		Revize	1

Tabulka č.1. Číselné hodnoty měrné optické otáčivosti α_D^{20} pro jednotlivé druhy škrobu.

Druh škrobu	Číselná hodnota α_D^{20} (ve stupních)
Rýžový škrob	+ 185,9
Bramborový škrob	+ 195,4
Kukuřičný škrob	+ 184,6
Pšeničný škrob a škrob z tritikale	+ 182,7
Ječný škrob	+ 181,5
Ovesný škrob	+ 181,3
Jiné druhy škrobu a škrobových směsí	+ 184,0

7 Literatura

- 1 ČSN 46 7092-21 Metody zkoušení krmiv – Část 21: Stanovení obsahu škrobu.
- 2 ČSN EN ISO 10520 Přírodní škrob – Stanovení obsahu škrobu – Ewersova polarimetrická metoda.