



Chemia żywności
Katedra Analizy Środowiska

Instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych

Ćwiczenie nr 4

Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

Chemia żywności

Gdańsk, 2016

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

1. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

Kwasowość surowców i produktów spożywczych determinowana jest głównie obecnością:

- naturalnych kwasów organicznych (jabłkowego, cytrynowego, mlekowego),
- kwasów celowo dodawanych do żywności w procesie produkcji (np. w marynatach),
- kwasów tworzących się w wyniku fermentacji sacharydów (kwas mlekowy),
- kwasów tłuszczowych powstałych w wyniku częściowej hydrolizy lipidów (masłowego, palmitynowego, oleinowego),
- niektórych białek i produktów ich rozpadu powstałych w wyniku obróbki technologicznej lub działania enzymów proteolitycznych (polipeptydów, peptydów, aminokwasów).

Oznaczanie kwasowości surowców i produktów żywnościowych ma duże znaczenie, gdyż stopień kwasowości surowców decyduje często o sposobie prowadzenia procesu technologicznego czy zakwalifikowania surowca do określonego rodzaju produkcji. Kwasowość produktów żywnościowych jest normowana; wartość niezgodna z normą dyskwalifikuje produkt do obrotu handlowego.

1.1. Rodzaje kwasowości i metody ich oznaczania

Wyróżnimy następujące rodzaje kwasowości:

- ✓ **czynną** (aktywną)
- ✓ **potencjalną** (miareczkową, ogólną)
- ✓ **lotną** (kwasy lotne z parą wodną)
- ✓ **związaną** (kwasy związane w solach i estrach)
- ✓ **całkowitą** (suma kwasowości miareczkowej i związanej),

przy czym najczęściej oznacza się kwasowość czynną, potencjalną i lotną. Te rodzaje kwasowości zostaną omówione bardziej szczegółowo.

1.1.1. Kwasowość czynna (aktywna)

Kwasowość czynna (aktywna) odnosi się do tej części jonów wodorowych, które występują w roztworze w postaci jonów hydroniowych H_3O^+ . Zależy ona przede wszystkim od mocy kwasów obecnych w roztworze i jest istotnym czynnikiem wpływającym na jakość i smak artykułów spożywczych. Kwasowość czynną wyraża się jako ujemny logarytm dziesiętny ze stężenia jonów hydroniowych czyli poprzez wartość pH:

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

$$\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+]$$

i oznacza metodami potencjometrycznymi lub wskaźnikowymi.

Metody potencjometryczne – oznaczenie kwasowości czynnej (pH próbki) polega na pomiarze siły elektromotorycznej ogniwa utworzonego z elektrody wskaźnikowej zanurzonej w roztworze badanym i elektrody porównawczej znajdującej się w roztworze standardowym czyli na pomiarze różnicy potencjału obu tych elektrod. Obecnie do pomiarów stosuje się najczęściej elektrody kombinowane, w których elektrody umieszczone są w tej samej obudowie. Funkcję elektrody wskaźnikowej pełni w nich najczęściej elektroda szklana, elektrodą odniesienia jest elektroda chlorosrebrowa.

Metody wskaźnikowe – pomiaru pH próbki dokonuje się za pomocą wskaźników kwasowo-zasadowych (m.in. papierków uniwersalnych), które zmieniają zabarwienie przy różnych wartościach pH. Wadą tych metod jest niska ich dokładność.

1.1.2. Kwasowość potencjalna (miareczkowa, bierna, ogólna)

Kwasowość potencjalna (miareczkowa, bierna) odpowiada całkowitemu stężeniu kwasowych atomów wodoru, występujących w próbce zarówno w formie jonów hydroniowych H_3O^+ , jak i w postaci niezdysonowanej (przy czym w wyniku reakcji z zasadami ulegają one zobojętnieniu). Jest ona uwarunkowana występowaniem kwasów organicznych, bezwodników kwasowych, kwaśnych soli oraz innych związków.

Kwasowość potencjalna nie zależy od mocy kwasów obecnych w roztworze, co oznacza iż dla roztworu kwasu mocnego i kwasu słabego o tym samym molowym stężeniu jonów wodorowych jest jednakowa. Wyznacza się ją za pomocą miareczkowania alkacymetrycznego z użyciem wskaźników alkacymetrycznych lub w wyniku miareczkowania potencjometrycznego (dla roztworów silnie zabarwionych). Oznaczanie kwasowości przeprowadza się przeważnie w roztworach wodnych, przy czym produkty płynne, lepkie rozcieńcza się wodą do określonej objętości i tylko część pobiera się do oznaczania.

Miareczkowanie z użyciem wskaźników – polega na miareczkowaniu próbki roztworem wodorotlenku i sprawdzaniu zmian pH w trakcie analizy przy użyciu papierków wskaźnikowych (np. lakmusa). Wadą tej metody jest jej niska dokładność wynikająca z niedokładnego pomiaru pH przy użyciu wskaźników i stratami roztworu analizowanego podczas kontroli pH. Metoda ta jest stosowana dla roztworów bezbarwnych lub lekko zabarwionych.

Miareczkowanie potencjometryczne – sprowadza się do wprowadzania małych porcji zasady do

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

próbki umieszczonej na mieszadle magnetycznym i równoczesnej kontroli zmian stężenia jonów hydroniowych za pomocą pH-metru (pomiar siły elektromotorycznej). Obecnie do miareczkowania potencjometrycznego stosuje się titraty, w których analiza została zautomatyzowana poprzez zastosowanie modułu automatycznie dozującego zasadę i rejestrującego zmiany pH (wbudowany potencjometr) w trakcie miareczkowania.

Kwasowość potencjalną (miareczkową) oznacza się najczęściej przez miareczkowanie analizowanej próbki roztworem wodorotlenku sodu o ściśle określonym mianie w obecności fenoloftaleiny jako wskaźnika. Kwasowość badanego produktu oblicza się na podstawie ilości mianowanego roztworu NaOH zużytego do miareczkowania próbki produktu, wyrażając wynik w postaci różnych umownych stopni lub przeliczając ilość roztworu NaOH na taki kwas organiczny, który występuje w badanej próbce w największej ilości.

Kwasowość potencjalna może być wyrażana w następujących jednostkach:

- *molowości* – jako liczba moli kwasu w 1000 ml roztworu
 - *procentach masowych* - jako liczba gramów kwasu w 100 g roztworu
 - *procentach mieszanych* - jako liczba gramów kwasu w 100 ml roztworu,
- bądź też w jednostkach umownych:
- *stopniach Delbrücka*; które odpowiadają liczbie ml roztworu ługu o stężeniu 1 mol/l zużytego na zobojętnienie 20 ml roztworu kwasu;
 - *stopniach Soxhleta-Henkla*, które odpowiadają liczbie ml roztworu ługu o stężeniu 0,25 mol/l zużytego na zobojętnienie kwasów obecnych w 100 ml roztworu;
 - *stopniach kwasowości* wyrażonych jako liczba ml roztworu ługu o stężeniu 1 mol/l zużyta na zobojętnienie kwasów zawartych w 100 g produktu.

Przykładowe wartości kwasowości potencjalnej mleka, będące miarą jego świeżości i wyrażone w stopniach Soxhleta-Henkla przedstawione są w Tabeli 1.

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

Tabela 1. Zależność jakości mleka od jego kwasowości w stopniach Soxhleta-Henkla [°SH] (Klepacka Mirosława (red.), *Analiza żywności*, Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 2005).

°SH	Jakość mleka i jego przydatności do przetworzenia
Poniżej 6,5	Pochodzące od krów ze schorzeniem wymion, rozwodnione lub z dodatkiem środków neutralizujących (np. sody)
6,5-7,5	Świeże
8-9	Lekko nakwaszone, nie nadające się do przerobu – niska stabilność termiczna białek podczas pasteryzacji
10-12	Nakwaszone silnie – ścięcie podczas gotowania
24-28	Ścięcie mleka w temperaturze pokojowej

Ponieważ związki kwaśne, które wchodzą w skład produktów spożywczych, należą do grupy słabych kwasów organicznych i dysocjują w małym stopniu, istnieje duża rozbieżność między kwasowością potencjalną i kwasowością czynną.

1.1.3. Kwasowość lotna

W niektórych produktach oznacza się także kwasowość lotną, spowodowaną obecnością kwasów lotnych w produkcie. O kwasowości lotnej decyduje głównie kwas octowy, a w przypadku kiszzonek również kwas propionowy i masłowy (wszystkie są lotne z parą wodną). Poziom kwasowości lotnej mogą zawyżać kwasy dodawane celowo do produktu w postaci konserwantów, np. kwas siarkowy (VI) czy kwas węglowy (IV).

Pomiar kwasowości lotnej odbywa się w dwóch etapach:

- w pierwszym oddestylowuje się kwasy lotne w specjalnych aparatach posiadających generatory pary wodnej;
- w drugim przeprowadza miareczkowanie alkacymetryczne na gorąco, aby wyeliminować wpływ CO₂ na wynik końcowy.

Kwasowość lotną wyraża się liczbą ml roztworu zasady o stężeniu 1 mol/l (najczęściej NaOH) zużytego do miareczkowania lotnych kwasów zawartych w 100 g lub 100 ml produktu albo przelicza się na zawartość kwasu octowego. Normy jakościowe określają maksymalną zawartość lotnych kwasów w produktach, gdyż mierzona wartość kwasowości lotnej jest wskaźnikiem prawidłowości prowadzonego procesu technologicznego i sposobu składowania surowców i produktów.

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

2. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

2.1. Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest oznaczenie kwasowości czynnej wybranych artykułów spożywczych oraz ustalenie jakości mleka na podstawie pomiaru kwasowości potencjalnej (miareczkowej).

2.2. Wykonanie ćwiczenia [1]

Analizowane produkty spożywcze:

- mleko
- mąka
- soki owocowe

2.2.1. Oznaczenie kwasowości potencjalnej (miareczkowej) mleka [1]

Zasada metody

Zasada metody polega na miareczkowaniu alkacymetrycznym próbki mleka mianowanym roztworem wodorotlenku sodu w obecności fenoloftaleiny jako wskaźnika.

Zestaw odczynników i sprzętu laboratoryjnego

Roztwór wodny NaOH 0,25 mol/l,

Roztwór fenoloftaleiny w EtOH 2%,

Biureta 25 ml 1 szt.,

Zlewka 100 ml 1 szt.,

Lejek do biurety 1 szt.,

Statyw 1 szt.,

Łapa metalowa 1 szt.,

Uchwyt do łapy 1 szt.,

Kolby stożkowe 100 ml 3 szt.,

Pipeta Pasteura 1 szt.,

Pipeta miarowa 2 ml 1 szt.,

Naciągaczka do pipet 1 szt.,

Lejek mały 1 szt.,

Cylinder miarowy 1 szt.

Waga techniczna 1 szt.

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

Wykonanie ćwiczenia

Do 3 kolb stożkowych poj. 100 ml pobrać po 50 ml mleka, dodać po 1 ml 2% roztworu fenoloftaleiny i miareczkować mianowanym 0,25 mol/l roztworem NaOH do uzyskania różowego zabarwienia, utrzymującego się przez co najmniej 30 sekund.

Obliczenie wyników

Wyznaczyć wartość średnią oraz odchylenie standardowe wartości średniej liczby mL roztworu NaOH zużytych na miareczkowanie analizowanej próbki. Na ich podstawie obliczyć kwasowość potencjalną mleka i wyrazić ją w stopniach Soxhleta-Henkla.

Interpretacja wyników

Porównać uzyskany wynik z danymi zawartymi w Tab. 1 i ocenić jakość badanego mleka.

2.2.2. Oznaczanie kwasowości miareczkowej mąki [1]

Zasada metody: Metoda polega na miareczkowaniu substancji kwaśnych zawartych w określonej ilości przygotowanej zawiesiny mąki wobec wskaźnika – fenoloftaleiny.

Zestaw odczynników i sprzętu laboratoryjnego

Roztwór wodny NaOH 0,1 mol/l,

Roztwór fenoloftaleiny w EtOH 2%,

Biureta 25 ml 1 szt.,

Zlewka 100 ml 1 szt.,

Lejek do biurety 1 szt.,

Statyw 1 szt.,

Łapa metalowa 1 szt.,

Uchwyt do łapy 1 szt.,

Kolby stożkowe 250 ml 3 szt.,

Bagietka szklana 1 szt.,

Łopatka dentystyczna;

Zlewka 50 ml 1 szt.,

Pipeta Pasteura 1 szt.,

Pipeta miarowa 2 ml 1 szt.,

Naciągaczka do pipet 1 szt.,

Lejek mały 1 szt.,

Cylinder miarowy 1 szt.

Waga techniczna 1 szt.

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

Wykonanie: Odważyć 5 g próbki mąki z dokładnością do 0,01 g i przenieść ją do kolby stożkowej pojemności 250 ml. W cylindrze miarowym odmierzyć 100 ml świeżo przygotowanej wody destylowanej o temperaturze pokojowej. Do próbki mąki w kolbie dodać około 10 ml wody z cylindra, całość dokładnie wymieszać szklaną bagietką celem rozbicia grudek mąki. Dodać resztę wody z cylindra przy ciągłym mieszaniu zawartości kolby, odstawić na 5 minut. Do zawiesiny dodać 3 krople fenoloftaleiny i miareczkować z biurety 0,1 M roztworem NaOH do uzyskania lekko różowego zabarwienia utrzymującego się przez ok. 1 minutę. Wykonać 3 powtórzenia.

Czas wykonania oznaczenia, liczony od momentu dodania pierwszej porcji wody do zakończenia miareczkowania, nie powinien przekroczyć 12 min.

Obliczenie wyników

Obliczyć kwasowość mąki, wyrażając ją w stopniach kwasowości (ml 1-molowego roztworu NaOH / 100 g produktu).

Interpretacja wyników

Mąka wykazuje odczyn kwaśny, głównie z powodu obecności kwaśnych fosforanów magnezu, potasu i wapnia. Jest to tzw. kwasowość fosforanowa. W czasie przechowywania mąki następuje wzrost kwasowości związany z działalnością rodzimych enzymów powodujących rozkład związków fosforanowych, tłuszczów i białek. Powoduje to wzrost zawartości substancji kwaśnych, takich jak: kwas fosforowy, kwasy tłuszczowe, aminokwasy. Z punktu widzenia jakości produktu najbardziej niekorzystny jest wzrost kwasowości spowodowany rozkładem tłuszczów.

Mąki niskowyciągowe charakteryzują się niższą kwasowością niż mąka razowa zawierająca więcej otrąb wykazujących wyższą kwasowość. Zgodnie z wymaganiami normy kwasowość mąk pszennych nie powinna być wyższa od:

3 stopni dla mąki tortowej, poznańskiej i krupczatki;

5 stopni dla mąki pszennej 659 i 650; i

8 stopni dla mąki typu graham 1850 i razowa 2000.

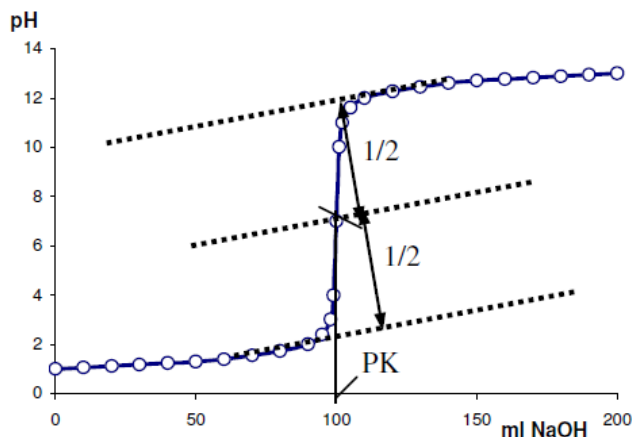
Dla mąki żytniej kwasowość wyrażona w stopniach zawiera się w przedziale od 5 do 8, w zależności od jej typu.

2.2.3. Oznaczanie kwasowości miareczkowej soku owocowego metodą potencjometryczną [1]

Zasada metody: Metoda polega na miareczkowaniu roztworu kwasu (próbki) roztworem zasady

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

przy jednoczesnym pomiarze siły elektromotorycznej ogniwa do momentu osiągnięcia pH 10. Punkt równoważności molowej (PRM) wyznacza się graficznie (Rysunek 1) na podstawie wykresu zależności zmian pH do objętości dodanej zasady.



Rys. 1. Wyznaczanie PRM miareczkowania metodą graficzną

Odczynniki chemiczne:

- 0,1 M roztwór NaOH
- roztwory buforowe o pH 4 i 7
- woda destylowana

Sprzęt i akcesoria:

- zlewka wysoka poj. 100-150 ml 3 szt.
- cylinder miarowy 10 ml 3 szt.
- cylinder miarowy 100 ml 1 szt.
- zlewka 150 ml 1 szt.
- pipeta 2 ml 1 szt.
- pipeta 10 ml x 1 szt.
- bagietka szklana 1 szt.
- pipety Pasteura 1 szt.
- biureta 1 szt.
- lejek mały 1 szt
- zlewka 100 ml 1 szt.
- pH-metr 1 szt.
- mieszadło magnetyczne 1 szt.

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

Wykonanie

Kalibrowanie pH-metru: Przeprowadzić kalibrację pH-metru korzystając z roztworów buforowych i postępując zgodnie z instrukcją dołączoną do pH-metru. Pamiętać o każdorazowym opłukaniu elektrody wodą dejonizowaną oraz osuszeniu jej bibułą przy zmianie analizowanego roztworu!!!

Właściwe oznaczenie: Odmierzyć 10 ml soku do zlewki pojemności 150 ml. Dodać ok. 40 ml wody destylowanej zubożonej do pH 8,1. Umieścić elektrodę w próbce, uruchomić mieszadło magnetyczne i zanotować wyjściową wartość pH. Roztwór miareczkować roztworem 0,1 M NaOH, odmierzając po 1 ml titranta do uzyskania pH 6, a następnie po 0,2 ml do pH 10.

Obliczenie wyników

Wykreślić krzywą miareczkowania w układzie xy, odkładając na osi x objętość dodawanego z biurety mianowanego roztworu NaOH, a na osi y odpowiednie wartości pH. Odczytać z wykresu objętość 0,1 M roztworu NaOH odpowiadającą punktowi równoważności molowej metodą graficzną przedstawioną na Rys. 1.

Obliczyć kwasowość wyrażając wynik w [g/100 ml] soku w przeliczeniu na kwas dominujący w danym soku (kwas jabłkowy lub cytrynowy).

Interpretacja wyników

Kwasowość ogólna soków pitnych kształtuje się na poziomie 0,4–0,8 g/100 ml soku, natomiast dla soków surowych wynosi przykładowo: 0,5-0,8% (sok jabłkowy), 1,-2,2% (soki wiśniowe), 3,2-4,5% (soki z czarnej porzeczki), 1,4-2,2% (soki malinowe), 0,7-1,2% (soki truskawkowe), 0,7-2,2% (soki pomarańczowe) [1].

2.2.4. Oznaczanie kwasowości czynnej (aktywnej) wybranych produktów spożywczych [1]

Zasada metody

Kwasowość czynną wyrażoną jako wartość pH próbki wyznacza się metodą potencjometryczną na podstawie pomiaru różnicy potencjałów między elektrodą wskaźnikową i porównawczą, z których pierwsza jest zanurzona w roztworze badanym, a druga w roztworze wzorcowym.

Analizowane produkty spożywcze:

- Soki owocowe
- Mleko
- Mąka

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

Zestaw odczynników i sprzętu laboratoryjnego

- pH-metr wyposażony w elektrodę szklaną kombinowaną 1 szt.,
- bufor do kalibracji pH 4 1 szt.,
- bufor do kalibracji pH 7 1 szt.,
- bufor do czyszczenia elektrody 1 szt.,
- bufor do przechowywania elektrody 1 szt.,
- bufor do czyszczenia elektrod 1 szt.,
- zlewka 50 ml 7 szt.,
- tryskawka z wodą dejonizowaną 1 szt.,
- zlewka 250 mL 1 szt.,
- paski bibuły.

Wykonanie ćwiczenia

- a) *Przygotowanie próbek*: próbki produktów płynnych dokładnie wymieszać; produkty o konsystencji niejednorodnej starannie rozdrobnić i wymieszać; produkty o bardzo gęstej konsystencji rozcieńczyć wodą w stosunku 1:1.
- b) *Kalibrowanie pehametru*: postępować zgodnie z instrukcją dołączoną do pHametu. Pamiętać o każdorazowym opłukaniu elektrody wodą dejonizowaną oraz osuszeniu jej bibułą przy zmianie analizowanego roztworu!!!
- c) *Oznaczenie właściwe*: Napełnić 50 ml zlewki badanymi produktami spożywczymi. Odczytać wartość pH. Analizę każdej próbki powtórzyć 5-krotnie. Po zakończeniu pomiaru opłukać elektrodę wodą dejonizowaną, osuszyć bibułą, umieścić elektrodę w buforze do czyszczenia elektrod, ponownie opłukać wodą dejonizowaną, osuszyć bibułą i po zakończeniu pomiarów umieścić w buforze do przechowywania elektrody.

Obliczenie wyników

Wyznaczyć wartość średnią oraz odchylenie standardowe wartości średniej wyznaczonego pH każdej próbki.

Interpretacja wyników

Porównać wynik kwasowości czynnej analizowanej próbki z następującymi danymi:

Soki owocowe – pH 2,5-3,5

Mleko, mięso, mąka – pH 5,5-6,5

3. OPRACOWANIE WYNIKÓW

Sprawozdanie powinno zawierać opis części eksperymentalnej, zestawienie uzyskanych wyników

4. Oznaczanie kwasowości wybranych produktów spożywczych

wraz z ich opracowaniem statystycznym, a także dyskusję otrzymanych rezultatów.

4. LITERATURA

1. Klepacka M. (red.), *Analiza żywności dla studentów Wydziału Technologii Żywności*. Część I. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 2005.
2. Pijanowski E., Mrożewski S., Horubała A., Jarczyk A. *Technologia produktów owocowych i warzywnych*. PWRiL Warszawa, 1973.
3. Sikorski Z. *Chemia Żywności*, Wyd. 6, WNT, Warszawa, 2012.
4. Krełowska-Kulas M., *Badanie jakości produktów spożywczych*, PWE, Warszawa, 1993.
5. Budślawski J., Drabent Z., *Metody analizy żywności*. WNT, Warszawa, 1972.