

WYROBY PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-86
	Koncentraty spożywcze	8130-02
	Oznaczanie zawartości błonnik pokarmowego	Grupa katalogowa 1299

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego w koncentratkach spożywczych.

1.2. Zakres stosowania normy. Normę stosuje się do oznaczania zawartości błonnika pokarmowego w koncentratkach spożywczych w produkcji i w obrocie handlowym.

1.3. Określenia

1.3.1. błonnik pokarmowy — niestrawiona enzymami część pożywienia obejmująca celulozy, hemicelulozy, gumy, pektyny, śluzu oraz ligniny. Błonnik pokarmowy stanowi sumę błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego i błonnika pokarmowego rozpuszczalnego.

1.3.2. błonnik pokarmowy nierozpuszczalny — część błonnika pokarmowego składająca się z substancji nierozpuszczalnych w wodzie.

1.3.3. błonnik pokarmowy rozpuszczalny — część błonnika pokarmowego składająca się z substancji rozpuszczalnych w wodzie.

2. METODY BADAŃ

2.1. Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego metodą Aspa — metoda odwoławcza

2.1.1. Zasada metody polega na trawieniu badanej próby enzymami: termostabilną α -amylazą, pepsyną, pankreatyną i wagowym oznaczaniu niestrawionej pozostałości — błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego oraz wytrąceniu z roztworu supernatantu błonnika pokarmowego rozpuszczalnego i wagowym jego oznaczaniu.

2.1.2. Odczynniki, roztwory i materiały

- Termostabilna α -amylaza (np. termamyl 60 α firmy Novo lub rohalaza HT firmy Rohm. W.Germany).
- Pepsyna import (3 lub 4 razy krystalizowana) lub produkcji krajowej w postaci koncentratu 1:4000.
- Pankreatyna.
- Aceton cz.d.a.
- Eter naftowy cz. świeżo przedestylowany (frakcja 40 ÷ 60°C).

f) Kwas solny o $\rho(\text{HCl}) = 1,19 \text{ g/ml}$.

g) Kwas solny, roztwór mianowany o $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$.

h) Wodorotlenek sodowy, roztwór mianowany o $c(\text{NaOH}) = 4 \text{ mol/l}$.

i) Bufor fosforanowy o $\text{pH} = 6,0$: sproszkowany $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ suszyć w parownicze, początkowo w temperaturze pokojowej w ciągu dwóch tygodni, a następnie w suszarce w temperaturze 38°C w ciągu dwóch dni. Odważyć 11,87 g wysuszonego w ten sposób $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, rozpuścić w niewielkiej ilości wody destylowanej, przenieść do kolby pomiarowej pojemności 1000 ml i dopełnić wodą destylowaną do kreski. Otrzymany roztwór ma stężenie $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 0,66 \text{ mol/l}$. Odważyć 9,07 g KH_2PO_4 , rozpuścić w niewielkiej ilości wody destylowanej, przenieść do kolby pomiarowej pojemności 1000 ml i dopełnić wodą destylowaną do kreski. Otrzymany roztwór ma stężenie $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 0,66 \text{ mol/l}$.

Celem otrzymania buforu fosforanowego o $\text{pH} = 6,0$ należy mieszać 8,8 ml roztworu Na_2HPO_4 i 1,2 ml roztworu KH_2PO_4 .

j) Alkohol etylowy, roztwór 96%(V/V) lub alkohol etylowy skażony wodorotlenkiem sodowym, roztwór 95%(V/V), zobojętniony do $\text{pH} 7$ za pomocą stężonego kwasu solnego. Wytrącony osad chlorku sodowego odsączyć przez sączek bibułowy jakościowy.

k) Alkohol etylowy, roztwór 78%(V/V) przygotowany z alkoholu etylowego wg poz. j), w proporcji: 78 ml alkoholu etylowego 96% należy mieszać z 18 ml wody lub 78 ml alkoholu etylowego 95% skażonego i zobojętnionego, należy mieszać z 17 ml wody.

l) Sączki bibułowe ilościowe średnie.

m) Sączki bibułowe jakościowe.

2.1.3. Aparatura i przyrządy

- Młyniek elektryczny.
- Sito o boku oczka kwadratowego 0,3 mm.
- Łaźnia wodna z termoregulacją.
- Suszarka laboratoryjna z termoregulacją.
- Pehametr.
- Lejek Büchnera.

Zgłoszona przez Centralne Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych
Ustanowiona przez Dyrektora Centralnego Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych dnia 14 lutego 1986 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 stycznia 1987 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 4/1986 poz. 10)

- g) Eksykator napełniony żelalem krzemionkowym lub chlorkiem wapniowym.
- h) Kolba próżniowa.
- i) Kolby stożkowe pojemności 250 ml.
- j) Kolby pomiarowe pojemności 1000 ml.
- k) Naczynka wagowe szklane z doszlifowanymi przykrywkami.

2.1.4. Przygotowanie próbki do badań

2.1.4.1. Rozdrabnianie próbki. Średnią próbkę laboratoryjną rozdrobnić w młynku elektrycznym tak, aby po zmieleniu próbka przechodziła w całości przez sito o boku oczka kwadratowego 0,3 mm.

2.1.4.2. Odtłuszczanie próbki. W przypadku gdy produkt zawiera więcej niż 6% tłuszczu, próbkę należy odtłuszczyć w następujący sposób: odpowiednio rozdrobioną i zważoną średnią próbkę laboratoryjną przenieść do kolby stożkowej pojemności 250 ml, dodając na każdy gram próbki 40 ml eteru naftowego i wytrząsać w ciągu 15 min. Następnie zlać eter znad osadu i osad suszyć w temperaturze pokojowej w ciągu 3 ÷ 4 h.

2.1.5. Wykonanie oznaczania

2.1.5.1. Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego. Do kolby stożkowej pojemności 250 ml odważyć z dokładnością do 0,001 g około 1 g próbki przygotowanej wg 2.1.4, dodać 25 ml buforu fosforanowego (2.1.2 i) oraz 100 µl termamylu lub 100 mg rohalazy. Kolbę przykryć kapturem z folii aluminiowej i ogrzewać na wrzącej łaźni wodnej w ciągu 15 min. Następnie kolbę ochłodzić strumieniem zimnej wody, dodać 20 ml wody destylowanej i doprowadzić roztwór do pH 1,5 za pomocą kwasu solnego (2.1.2 g). Dodać 1 g pepsyny krajowej lub 100 mg pepsyny z importu i inkubować na łaźni wodnej w temperaturze 40°C w ciągu 1 h. Kolbę z zawartością ochłodzić, dodać 20 ml wody destylowanej i doprowadzić roztwór do pH 6,8 za pomocą wodorotlenku sodowego (2.1.2 h). Następnie dodać 100 mg pankreatyny i inkubować na łaźni wodnej w temperaturze 40°C w ciągu 1 h. Kolbę z zawartością ochłodzić i doprowadzić roztwór do pH 4,5 za pomocą kwasu solnego (2.1.2 g). Zawartość kolby przesączyć (stosując podciśnienie) przez umieszczony na lejku Büchnera bibułowy sączone ilościowy, wysuszony uprzednio w naczynku wagowym do stałej masy w temperaturze 105°C i zważony z tym naczynkiem z dokładnością do 0,001 g. Osad na sączku przemywać kolejno dwukrotnie: 10 ml wody destylowanej, 10 ml alkoholu etylowego (2.1.2 j) i 10 ml acetonu, przy czym wodne przesącze zbierać w oddzielnym naczyniu, odrzucając przesącze alkoholowe i acetonowe. Następnie sączone z osadem umieścić w naczynku wagowym i suszyć w suszarce w temperaturze 105°C w ciągu 10 h. Wysuszone wraz z sączkiem naczynko wagowe wyjąć z suszarki, przenieść do eksykatora, ochłodzić do temperatury otoczenia i zważyć z dokładnością do 0,001 g.

W celu kontroli odczynników należy równolegle z oznaczaniem, w identyczny sposób wykonać próbę zerową, z pominięciem odważki próbki badanej.

2.1.5.2. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego (X_1) obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_1 = \left[\left(\frac{m_2 - m_1}{m} \right) - (m_4 - m_3) \right] \cdot 100 \quad (1)$$

w którym:

- m — masa próbki, g,
- m_1 — masa naczynka wagowego z sączkiem, g,
- m_2 — masa naczynka wagowego z sączkiem i osadem błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego, g,
- m_3 — masa naczynka wagowego z sączkiem, przy oznaczaniu próby zerowej, g,
- m_4 — masa naczynka wagowego z sączkiem i osadem z odczynników, przy oznaczaniu próby zerowej, g.

2.1.5.3. Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego rozpuszczalnego. Wodne przesącza otrzymane po oddzieleniu błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego na lejku Büchnera oraz przemyciu osadu wodą wg 2.1.5.1 połączyć, uzupełnić wodą destylowaną do 100 ml, dodać 400 ml alkoholu etylowego (2.1.2 k) o temperaturze 60°C i pozostawić na 1 h celem wytrącenia osadu błonnika pokarmowego rozpuszczalnego. Następnie zawartość przesączyć (nie stosując podciśnienia) przez umieszczony na lejku Büchnera bibułowy sączone ilościowy, wysuszony uprzednio w naczynku wagowym do stałej masy w temperaturze 105°C i zważony z tym naczynkiem z dokładnością do 0,001 g. Osad na sączku przemywać kolejno dwukrotnie: 10 ml alkoholu etylowego (2.1.2 k), 10 ml alkoholu etylowego (2.1.2 j) i 10 ml acetonu. Następnie sączone z osadem umieścić w naczynku wagowym i suszyć w suszarce w temperaturze 105°C w ciągu 10 h. Wysuszone wraz z sączkiem naczynko wagowe wyjąć z suszarki, przenieść do eksykatora, ochłodzić do temperatury otoczenia i zważyć z dokładnością do 0,001 g.

W celu kontroli odczynników należy równolegle z oznaczaniem, w identyczny sposób wykonać próbę zerową z przesącza wodnego uzyskanego przy oznaczaniu próby zerowej wg 2.1.5.1.

2.1.5.4. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość błonnika pokarmowego rozpuszczalnego (X_2) obliczyć w procentach wg wzoru

$$X_2 = \left[\left(\frac{m_6 - m_5}{m} \right) - (m_8 - m_7) \right] \cdot 100 \quad (2)$$

w którym:

- m — masa próbki, g,
- m_5 — masa naczynka wagowego z sączkiem, g,
- m_6 — masa naczynka wagowego z sączkiem i osadem błonnika pokarmowego rozpuszczalnego, g,
- m_7 — masa naczynka wagowego z sączkiem, przy oznaczaniu próby zerowej, g,
- m_8 — masa naczynka wagowego z sączkiem i osadem z przesącza, przy oznaczaniu próby zerowej, g.

2.1.6. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość błonnika pokarmowego (X) obliczyć w procentach wg wzoru

$$X = X_1 + X_2 \quad (3)$$

w którym:

X_1 — zawartość błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego, %,

X_2 — zawartość błonnika pokarmowego rozpuszczalnego, %.

2.1.7. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch równoległych oznaczeń nie różniących się więcej niż o 0,6. Wynik podać z dokładnością do 0,1.

2.2. Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego metodą Gronowskiej-Senger — metoda techniczna

2.2.1. Zasada metody polega na trawieniu badanej próby enzymami: pepsyną i pankreatyną i wagowym oznaczeniu niestrawionej pozostałości — błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego oraz wytrąceniu z roztworu supernatantu błonnika pokarmowego rozpuszczalnego i wagowym jego oznaczeniu.

2.2.2. Odczynniki, roztwory i materiały

a) Pepsyna import (3 lub 4 razy krystalizowane) lub produkcji krajowej w postaci koncentratu 1:4000.

b) Pankreatyna.

c) Tymol krystaliczny.

d) Chloroform.

e) Aceton cz.d.a.

f) Kwas solny o $\rho(\text{HCl}) = 1,19 \text{ g/ml}$.

g) Kwas solny, roztwór mianowany o $c(\text{HCl}) = 5 \text{ mol/l}$.

h) Wodorotlenek sodowy, roztwór mianowany o $c(\text{NaOH}) = 3 \text{ mol/l}$.

i) Bufor fosforanowy o $\text{pH} = 6,0$, przygotowany wg 2.1.2 i).

j) Alkohol etylowy, roztwór 80%(V/V) przygotowany z alkoholu etylowego wg 2.1.2 j), w proporcji: 80 ml alkoholu 96% należy mieszać z 16 ml wody lub 80 ml alkoholu etylowego 95% skażonego i zubożonego należy mieszać z 15 ml wody.

k) Eter naftowy cz., świeżo przedestylowany (frakcja $40 \div 60^\circ\text{C}$).

l) Sączki bibułowe ilościowe średnie.

ł) Sączki bibułowe jakościowe.

2.2.3. Aparatura i przyrządy

a) Młynek elektryczny.

b) Sito o boku oczka kwadratowego 0,3 mm.

c) Autoklaw laboratoryjny.

d) Ciepłarka laboratoryjna z termoregulacją.

e) Suszarka laboratoryjna z termoregulacją.

f) Pehametr.

g) Eksykator napełniony żelą krzemionkowym lub chlorkiem wapniowym.

h) Lejek Büchnera.

i) Kolba próżniowa.

j) Kolby stożkowe pojemności 250 ml.

k) Naczynka wagowe szklane z doszlifowanymi przykrywkami.

2.2.4. Przygotowanie próbki do badań — wg 2.1.4.

2.2.5. Wykonanie oznaczania

2.2.5.1. Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego. Do kolby stożkowej pojemności 250 ml odważyć z dokładnością do 0,001 g około 1 g próbki przygotowanej wg 2.1.4, dodać 50 ml wody destylowanej, kolbę przykryć kapturem z folii aluminiowej i autoklawować w temperaturze 120°C w ciągu 1 h. Następnie kolbę ochłodzić strumieniem zimnej wody, doprowadzić roztwór do $\text{pH} 1,5$ za pomocą kwasu solnego (2.2.2 g), dodać 1 g pepsyny krajowej lub 100 mg pepsyny z importu, kilka kryształków tymolu i 0,2 ml chloroformu i inkubować w cieplarni w temperaturze 37°C w ciągu 20 h. Następnie doprowadzić roztwór do $\text{pH} 6,0$ za pomocą wodorotlenku sodowego (2.2.2 h), dodać 25 ml buforu fosforanowego (2.2.2 i) i 100 mg pankreatyny. Mieszaninę inkubować w cieplarni w temperaturze 37°C w ciągu 1 h. Zawartość kolby przesączyć (stosując podciśnienie) przez umieszczony na lejku Büchnera bibułowy sączek ilościowy średni, wysuszony uprzednio w naczynku wagowym do stałej masy w temperaturze 105°C i zważony z tym naczynkiem z dokładnością do 0,001 g. Osad na sączku przemywać kolejno trzykrotnie: 10 ml wody destylowanej i 10 ml acetonu, przy czym wodne przesącze zbierać w oddzielnym naczyniu, odrzucając przesącze acetonowe. Następnie sączek z osadem umieścić w naczynku wagowym i suszyć w suszarce w temperaturze 105°C w ciągu 10 h. Wysuszone wraz z sączkiem naczynko wagowe wyjąć z suszarki, przenieść do eksykatora, ochłodzić do temperatury otoczenia i zważyć z dokładnością do 0,001 g.

W celu kontroli odczynników należy równolegle z oznaczaniem w identyczny sposób wykonać próbę zerową, z pominięciem odważki próbki badanej.

2.2.5.2. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego (X_3) obliczyć w procentach wg 2.1.5.2.

2.2.5.3. Oznaczanie zawartości błonnika pokarmowego rozpuszczalnego. Wodne przesącze otrzymane po oddzieleniu błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego na lejku Büchnera oraz przemyciu osadu wodą wg 2.2.5.1 połączyć, zmierzyć ich objętość, dodać czterokrotną objętość alkoholu etylowego (2.2.2 j) i pozostawić na 1 h w celu wytrącenia osadu błonnika pokarmowego rozpuszczalnego. Następnie przesączyć (nie stosując podciśnienia) przez umieszczony na lejku Büchnera bibułowy sączek ilościowy średni, wysuszony uprzednio w naczynku wagowym do stałej masy w temperaturze 105°C i zważony z tym naczynkiem z dokładnością do 0,001 g. Osad na sączku przemywać kolejno trzykrotnie: 10 ml alkoholu etylowego (2.2.2 j) i 10 ml acetonu. Następnie sączek z osadem umieścić w naczynku wagowym i suszyć w suszarce w temperaturze 105°C w ciągu 10 h. Wysuszone wraz z sączkiem naczynko wagowe wyjąć z suszarki, przenieść do eksykatora, ochłodzić do temperatury otoczenia i zważyć z dokładnością do 0,001 g.

W celu kontroli odczynników należy równolegle z oznaczaniem w identyczny sposób wykonać próbę zerową z przesączu wodnego uzyskanego przy oznaczaniu próby zerowej wg 2.2.5.1.

2.2.5.4. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość błonnika pokarmowego rozpuszczalnego (X_4) obliczyć w procentach wg 2.1.5.4.

2.2.6. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość błonnika pokarmowego (X_5) obliczyć w procentach wg 2.1.6.

2.2.7. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej trzech równoległych oznaczeń nie różniących się więcej niż o 1. Wynik podać z dokładnością do 0,1.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Centralne Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych, Poznań.
2. Autorzy projektu normy — mgr Teresa Bartkowiak, inż. Ewa Poprawiak — Centralne Laboratorium Przemysłu Koncentratów Spożywczych, Poznań.