

ZIARNO ZBÓŻ	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-82
	Ziarno zbóż	9131-03
	Jęczmień browarny	Zamiast BN-69/9131-03
	Oznaczanie energii kiełkowania i żywotności	Grupa katalogowa 1519

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy są metody oznaczania energii kiełkowania i żywotności jęczmienia browarnego.

1.2. Zakres stosowania metod

a) metodę Schönfelda stosuje się do oznaczania energii kiełkowania E_I i E_{II} dla ziarna fizjologicznie dojrzałego,

b) metodę przy użyciu wody utlenionej stosuje się do oznaczania energii kiełkowania E_I i E_{II} dla ziarna fizjologicznie niedojrzałego, tj. dla jęczmienia z nowych zbiorów danego roku do dnia 30 września,

c) metodę tetrazoliową stosuje się do oznaczania żywotności ziarna jęczmienia.

1.3. Określenia. Ziarno skiełkowane — ziarno o wyraźnie widocznym, żywym kiełku, niezależnie od jego długości i stopnia wykształcenia wszystkich podstawowych elementów siewki.

2. METODA SCHÖNFELDA

2.1. Zasada oznaczania polega na przeprowadzeniu kiełkowania badanego ziarna w kiełkowniku Schönfelda, oddzieleniu skiełkowanych ziarn po upływie 72 i 120 h oraz obliczeniu wyników w procentach dla energii kiełkowania E_I i E_{II} .

2.2. Przyrządy

a) Kiełkownik Schönfelda składający się z lejków szklanych średnicy 8 ÷ 9 cm, zaopatrzonych w rurki gumowe ze ściskaczami, umieszczonych na statywie.

b) Pręciki szklane z zagiętym końcem.

c) Płytki Petriego średnicy powyżej 9 cm.

d) Krążki bibuły do sączenia.

e) Termometr.

f) Rozdzielacz mechaniczny.

g) Przyrząd do liczenia ziarna.

2.3. Przygotowanie próbek. Dwie próbki o masie po około 20 g pobrać i wydzielić wg PN-70/R-74010 ręcznie lub za pomocą rozdzielacza mechanicznego. Następnie usunąć ziarna pokruszone (mniejsze od 1/2 ziarna) i wszystkie zanieczyszczenia nie będące ziarnem jęczmienia, pozostawiając w próbce wszystkie całe ziarna

łącznie z porośniętymi i pozbawionymi zarodków. Z każdej próbki należy pobrać metodą na ślepo 500 sztuk ziarn, stosując przyrząd do liczenia lub licząc bez przyrządu.

2.4. Wykonanie oznaczania. Odliczone ziarna umieścić w lejkach zaopatrzonych w pręciki szklane z zagiętym końcem, zamknąć zaciskaczami spływy lejków, zalać wodą wodociągową, tak aby powierzchnia wody znajdowała się około 2 cm nad ziarnem, przy czym ziarna należy zatopić, aby żadne z nich nie pływało. Lejki przykryć dwoma zwilżonymi krążkami bibuły do sączenia i płytką Petriego. Kiełkownik umieścić w miejscu ocienionym w temperaturze otoczenia 17 ÷ 20 °C. Temperatura wody użytej do moczenia powinna wynosić 18 ÷ 21 °C. Po 4 h zdjąć ściskacze z rurek gumowych, powodując odpływ wody. Po całkowitym odpływie wody ziarno przemieszczać w celu całkowitego usunięcia wody i udostępnienia dopływu powietrza do próbki. Następnie przykryć lejki wilgotnymi krążkami bibuły i płytkami Petriego, pozostawiając otwarte spływy lejków. Po upływie 16 ÷ 18 h zamknąć ściskaczami spływy lejków, ponownie zalać wodą wodociągową i pozostawić ziarno pod wodą przez 4 h. Po upływie 4 h zdjąć ściskacze, przemieszczać ziarno, przykryć lejki płytkami Petriego ze zwilżoną bibułą i pozostawić ziarno bez wody do końca trzeciej doby. Należy uważać w czasie całego oznaczania, aby bibuła na lejkach była stale wilgotna.

Dla oznaczania energii kiełkowania E_I należy po upływie 72 h od rozpoczęcia oznaczania wybrać ziarna skiełkowane. Ziarna nieskiełkowane policzyć.

Dla oznaczania energii kiełkowania E_{II} należy nieskiełkowane ziarna wydzielone przy oznaczaniu energii E_I umieścić w lejku z pręcikiem szklanym i zalać wodą. Po upływie 1 h odprowadzić wodę z lejka przez zdjęcie ściskacza, nakryć lejek zwilżoną bibułą do sączenia i płytką Petriego. Policzyć ziarna nieskiełkowane po 120 h od chwili rozpoczęcia oznaczania energii kiełkowania E_I .

Zgłoszona przez Centralę Przemysłu Zbożowo-Młynarskiego PZZ
Ustanowiona przez Kierownika Centralnego Laboratorium Technologii
Przetwórstwa i Przechowywania Zbóż dnia 31 grudnia 1982 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1983 r.
(Dz. Norma. i Miar nr 4/1983 poz. 6)

2.5. Obliczanie wyniku oznaczania. Energię kiełkowania (E_I) obliczyć w procentach wg wzoru

$$E_I = \frac{500 - n_3}{5} \quad (1)$$

w którym n_3 — liczba ziarn nieskiełkowanych po 72 h.

Energię kiełkowania E_{II} obliczyć w procentach wg wzoru

$$E_{II} = \frac{500 - n_5}{5} \quad (2)$$

w którym n_5 — liczba ziarn nieskiełkowanych po 120 h.

2.6. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwu oznaczeń po zaokrągleniu do liczb całkowitych.

Dopuszczalne odchylenia przy podwójnej próbie lub pomiędzy dwoma laboratoriami — wg tablicy.

Ziarna skiełkowane, średnio, %	Dopuszczalne odchylenia, %
97 ÷ 100	2,0
95 ÷ 96	2,5
90 ÷ 94	3,0

3. METODA PRZY UŻYCIU WODY UTLENIONEJ

3.1. Zasada oznaczania polega na przeprowadzeniu kiełkowania ziarna przy użyciu wody utlenionej, oddzieleniu ziarn skiełkowanych i obliczeniu wyników w procentach.

3.2. Odczynniki. Woda utleniona, 0,7 ÷ 0,8-procentowy roztwór nadtlenu wodoru (H_2O_2) zawierający średnio 0,75 g H_2O_2 w 100 cm³ roztworu, sporządzony z perhydrolu w następujący sposób:

a) Oznaczanie stężenia perhydrolu (K): 1 cm³ perhydrolu przenieść do kolby pomiarowej pojemności 100 cm³, rozcieńczyć wodę destylowaną, uzupełnić do kreski i wymieszać. Do kolby stożkowej lub butelki z doszlifowanym korkiem pojemności 500 cm³ odmierz pipetą 10 cm³ sporządzonego roztworu, dodać 2 g jodku potasowego cz.d.a., 25 cm³ kwasu siarkowego (1:4), zamknąć korkiem i pozostawić w ciemnym miejscu na 15 min. Następnie dodać 200 ml wody destylowanej i miareczkować 0,1N roztworem tiosiarczanu sodowego wobec 0,5 cm³ 1-procentowego roztworu skrobi do zaniku niebieskiego zabarwienia. Stężenie H_2O_2 w perhydrolu (K) obliczyć w gramach na 100 cm³ wg wzoru

$$K = 1,7 \cdot S \cdot F \quad (3)$$

w którym:

S — objętość 0,1N roztworu tiosiarczanu sodowego użytego do miareczkowania, cm³,

F — mnożnik do przeliczenia zużytej ilości tiosiarczanu sodowego na roztwór ściśle 0,1N,

1,7 — współczynnik przeliczeniowy (1000 cm³ 0,1N roztworu tiosiarczanu sodowego odpowiada 1,7 H₂O₂).

Perhydrol należy przechowywać w zaciemnionym miejscu w temperaturze 2 ÷ 4 °C. Trwałość stężenia perhydrolu — około 2 tygodnie.

b) Sporządzenie 200 cm³ wody utlenionej — 0,7 ÷ 0,8-procentowego roztworu nadtlenu wodoru zawierającego średnio 0,75 g H_2O_2 w 100 cm³ — do sporządzenia 200 cm³ wody utlenionej potrzebną ilość perhydrolu (K) obliczyć wg wzoru

$$X = \frac{150}{K} \quad (4)$$

w którym K — stężenie perhydrolu oznaczone wg poz. a).

Obliczoną ilość cm³ perhydrolu o stężeniu K rozcieńczyć w zlewce za pomocą 200 cm³ wody wodociągowej. Roztwór powinien być sporządzony bezpośrednio przed użyciem.

3.3. Przygotowanie próbek — wg 2.3.

3.4. Wykonanie oznaczania. Odliczone 500 ziarn przenieść do zlewki pojemności 400 cm³ i zalać 200 cm³ wody utlenionej świeżo sporządzonej wg 3.2b). Ziarna pływające zatopić, a następnie zlewkę nakryć papierem lub tekturą i umieścić w miejscu zacienionym. Po upływie 48 h zlać wodę utlenioną ponownie zalać 200 cm³ wody utlenionej świeżo sporządzonej wg 3.2b) i postępować tak jak poprzednio. Po 96 h od chwili oznaczania zlać wodę i policzyć ziarna nieskiełkowane.

Do ziarn skiełkowanych zalicza się ziarna nienormalnie skiełkowane tj. takie, których kiełki wzrosły, lecz w których korzonki lub inne części zarodka rozwinęły się niecałkowicie. W przypadku gdy liczba ziarn skiełkowanych wynosi mniej niż 95 %, dla większej dokładności pozostałe ziarna nieskiełkowane należy poddać dalszemu kiełkowaniu przez 1 dzień po odsłonięciu zarodka.

Odsłonięcie zarodka wykonać następująco: ostro zakończoną igłę preparacyjną wsunąć pod okrywę od strony zarodka i przesunąć wokół niego w ten sposób, aby zdjąć i usunąć fragment okrywy nad zarodkiem. Odsłonięty zarodek jest jeszcze zakryty brązowym naskórkiem. Pocierając palcem usunąć naskórek i odsłonić czysty, biały zarodek. Ziarna z tak odsłoniętym zarodkiem ułożyć na mokrym piasku lub nawilżonej bibule do sączenia i pozostawić na 24 h, po czym policzyć ziarna nieskiełkowane. Temperatura otoczenia podczas oznaczania powinna wynosić 17 ÷ 21 °C. Temperatura wody utlenionej do moczenia powinna wynosić 18 ÷ 21 °C.

3.5. Obliczenie wyników — wg 2.5, z tym że E_I określa liczbę ziarn skiełkowanych po 96 h, a E_{II} po 120 h.

3.6. Wynik końcowy oznaczania — wg 2.6.

4. METODA TETRAZOLIOWA

4.1. Metoda tetrazoliowa przy użyciu aparatu Vitascope Model G

4.1.1. Zasada oznaczania polega na obliczeniu procentu ziarn żywych, których zarodek barwi się na

czerwono w roztworze chlorku 2-3-5-trifenylo-tetrazoliowego.

4.1.2. Przyrządy. Aparat Vitascope Model G składający się z:

- aparatu właściwego, w którym wykonuje się oznaczanie,
- urządzenia do przecinania ziarna,
- kuwet do zbierania przeciętych ziarn,
- filtru,
- strumieniowej pompy wodnej,
- 4,5 m węża gumowego.

4.1.3. Odczynniki. Chlorek 2-3-5-trifenylo-tetrazoliowy, roztwór 0,2-procentowy.

4.1.4. Przygotowanie próbek. Dwie próbki ziarna o masie po około 5 g pobrać i wydzielić wg PN-70/R-74010 ręcznie lub za pomocą rozdzielacza mechanicznego. Następnie oddzielić zanieczyszczenia wg 2.3. Z każdej próbki pobrać metodą na ślepo 50 sztuk ziarn.

4.1.5. Wykonanie oznaczania. Odliczone ziarna przeciąć wzdłuż bruzdki za pomocą urządzenia do przecinania. Jedną część połówki ziaren otrzymaną z przecinania włożyć do kuwety, resztę zaś wyrzucić. Kuwetę umieścić w zbiorniku reakcyjnym i uruchomić strumieniową pompę wodną dla uzyskania podciśnienia. Wprowadzić roztwór tetrazoliowy do zbiornika reakcyjnego. Płyn powinien teraz energicznie wrzeć i w tym czasie należy zamknąć kran wodociągowy. Mechanizm zegarowy nastawić na żądany czas reakcji — 5 min dla ziarna o wilgotności 15 % lub powyżej. Czas zakończenia reakcji wskazuje sygnał zegara, po czym płyn zostaje automatycznie odprowadzony ze zbiornika.

Po opróżnieniu zbiornika wyjąć kuwety i otrząsnąć z resztek płynu nad zbiornikiem reakcyjnym. Przed odczytaniem wyników zaleca się odstawienie kuwet na kilka minut, jednak nie dłużej niż $15 \div 20$ min. Policzyc ziarna z zarodkami nie zabarwionymi. Za nie zabarwione należy uznać:

- całkowicie nie zabarwione,
- o barwie pomarańczowo-żółtej,
- zarodki z jasnymi, nie zabarwionymi plamami na powierzchni przekroju lub nie zabarwioną całą tarczką. Wyjątek stanowią ziarna z nie zabarwionymi końcami tarczki lub wierzchołkiem korzonka, które zalicza się do zabarwionych.

W przypadku ziarna o wilgotności poniżej 14 % próbki należy zanurzyć w wodzie na $10 \div 20$ min przed oznaczaniem, a czas reakcji przedłużyć o 5 min.

4.1.6. Obliczanie wyniku oznaczania. Żywotność ziarna (Z) obliczyć w procentach wg wzoru

$$Z = 100 - 2n \quad (5)$$

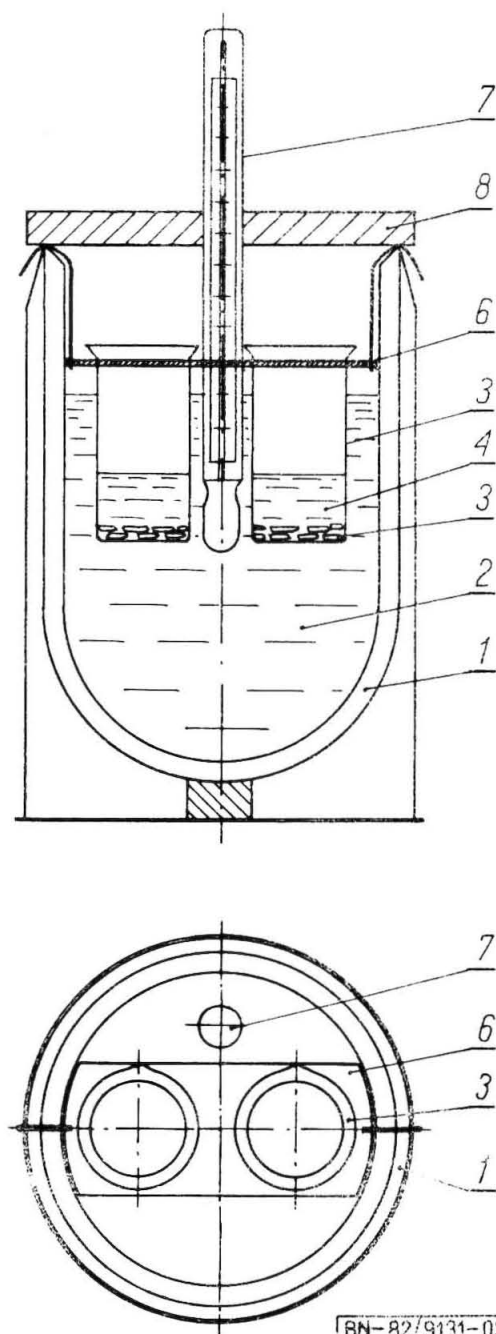
w którym n — liczba ziarn z zarodkami nie zabarwionymi.

4.1.7. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników co najmniej dwóch oznaczeń po zaokrągleniu do liczb całkowitych.

4.2. Metoda tetrazoliowa przy użyciu tetrostatu lub łaźni wodnej

4.2.1. Aparatura. Aparaty o równorzędnym zastosowaniu:

- a) Tetrostat — termos pojemności $\frac{3}{4}$ l z umieszczonymi wewnątrz zlewkami i termometrem (wg rysunku).



Tetrostat — zestaw do utrzymywania stałej temperatury roztworu tetrazoliowego podczas redukcji

1 — termos pojemności $\frac{3}{4}$ l; 2 — woda; 3 — zlewka pojemności 25 ml o średnicy ± 30 mm; 4 — roztwór tetrazoliowy; 5 — połówki ziarn; 6 — uchwyt do zawieszania zlewek; 7 — termometr; 8 — pokrywka

- b) Łaźnia wodna z termoregulacją umożliwiającą utrzymanie temperatury $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.2.2. Sprzęt. W przypadku używania tetrostatu jako jego uzupełnienie stosuje się sprzęt wymieniony w poz. a) i b):

- a) Grzałka elektryczna lub inny sprzęt do ogrzewania wody.
- b) Zlewka lub garnek pojemności 400 cm^3 , ewentualnie imbryk. W przypadku używania łaźni wodnej stosuje się dodatkowo sprzęt wymieniony w poz. c) i d).
- c) Zlewki pojemności $50 \div 100\text{ cm}^3$.
- d) Pokrywki na zlewki (nie przepuszczające światła).
- e) Okulizak (nóż ogrodniczy) lub żyłotka w oprawce ewentualnie skalpel.

- f) Zegar sygnalizacyjny — minutnik.
- g) Butelka z ciemnego szkła.
- h) Płytką drewnianą.
- i) Bibuła do sączenia lub papier łatwo wchłaniający wodę.
- j) Menzurka z podziałką milimetrową pojemności 100 cm³.

4.2.3. Odczynniki

4.2.3.1. Chlorek 2-3-5-trifenylo-tetrazoliowy cz.d.a., zbuforowany 0,2-procentowy roztwór: rozpuścić 200 mg chlorku 2-3-5-trifenylo-tetrazoliowego w 100 cm³ buforu fosforanowego. Przebrać do butelki z ciemnego szkła i chronić przed światłem.

4.2.3.2. Bufor fosforanowy otrzymany przez połączenie dwóch roztworów wyjściowych przygotowanych wg 4.2.3.3 w proporcji 80 cm³ roztworu nr 1 i 20 cm³ roztworu nr 2. Przy tej proporcji roztworów wyjściowych odczyn buforu powinien wynieść pH 7,4.

4.2.3.3. Roztwory wyjściowe

— roztwór 1 — fosforan sodowy dwuzasadowy cz.d.a. Na₂HPO₄ · 2H₂O w ilości 1,19 g lub Na₂HPO₄ · 12H₂O w ilości 2,39 g rozpuścić w 100 cm³ wody destylowanej.

— roztwór 2 — fosforan potasowy jednozasadowy cz.d.a. KH₂PO₄ w ilości 0,91 g rozpuścić w 100 cm³ wody destylowanej.

Płyny wyjściowe można przechowywać przez dłuższy czas w zamkniętych naczyniach szklanych.

Płyn buforowy i zbuforowany roztwór tetrazoliowy należy sporządzać w ilości przewidywanej do zużycia w okresie nie przekraczającym pół roku (w butlach z ciemnego szkła).

4.2.4. Przygotowanie próbek. Odliczyć bez wyboru 2 × 50 sztuk ziarn z próbki przygotowanej wg 4.1.4. Przekroić ziarna wzdłuż bruzdki zwracając uwagę, aby powierzchnia cięcia była gładka i zarodek był przecięty przez środek. Do oznaczania bierze się tylko jedną połowę każdego ziarna. Ziarno o wilgotności poniżej 15 % należy przed przecięciem wstępnie moczyć od 20 min (ziarno średnio suche) do 60 min (ziarno bardzo suche). W przypadku ziarna o wilgotności bliskiej 15 %, jeśli nie było poddane wstępnemu moczeniu, należy czas reakcji przedłużyć o 10 min.

4.2.5. Wykonanie oznaczania w tetrostacie. Do wnętrza pojemnika tetrostatu (termosu) wlać 270 ÷ 300 cm³ wody wodociągowej i dolać do niej 150 ÷ 180 cm³ wrzątku, tak aby uzyskać około 500 cm³ wody o temperaturze 45 °C. Najkorzystniej jest wlewać wrzątek

bezpośrednio ze zlewki (z podziałką), w której zagotowano wodę przy użyciu grzałki elektrycznej. W sporządzonej w ten sposób łaźni wodnej umieścić uchwyt ze zlewkami zawierającymi po około 6 cm³ roztworu tetrazoliowego. Zlewki z roztworem powinny być zanurzone na taką głębokość, aby poziom płynu w zlewce znajdował się 0,5 ÷ 1,0 cm poniżej poziomu wody w termosie. Nałożyć pokrywkę z wmontowanym termometrem. Po 5 min odczytać wskazanie termometru. Temperatura w chwili rozpoczęcia reakcji powinna wynosić 45 ± 1 °C. Do zlewki z ogrzonym roztworem wsypać po 50 połówek ziarn zwracając uwagę, aby wszystkie były pokryte płynem. Pojemnik tetrostatu przykryć pokrywką i nastawić zegar sygnalizacyjny na 15 min. Po zakończeniu reakcji wyjąć zlewki z tetrostatu, roztwór tetrazoliowy zlać przez dekantację do innej zlewki w celu wykorzystania do następnego oznaczania. Płyn można użyć kilkakrotnie (chroniąc przed dłuższym działaniem światła). Ziarna pozostałe w zlewce przepłukać wodą i przenieść na kartkę papieru lub bibuły. Pozostawić na kilka minut (nie więcej niż 20 min) w celu uzyskania intensywniejszej barwy zarodków.

4.2.6. Wykonanie oznaczania w łaźni wodnej. Wodę w łaźni ogrzać do temperatury 45 °C, umieścić w niej zlewki zawierające około 10 cm³ roztworu tetrazoliowego, zawieszając je na takiej wysokości, aby poziom roztworu znajdował się poniżej poziomu wody o 1/2 do 1 cm. Zlewki nie powinny być ustawiane na podstawkach lecz zawieszane, aby umożliwić równomierne i szybkie ogrzanie się roztworu. Na zlewki nałożyć pokrywki i tak pozostawić na około 5 min w celu ogrzania się roztworu. Dalej postępować jak w 4.2.5.

4.2.7. Obliczanie wyniku oznaczania. Policzyc ziarna z nie zabarwionymi zarodkami, odrębnie dla każdego z obu powtórzeń. Za nie zabarwione należy uznać zarodki scharakteryzowane w 4.1.5. Żywotność obliczać wg 4.1.6.

4.2.8. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną uzyskaną z dwóch powtórzeń podaną w procentach. Dopuszczalne odchylenie pomiędzy dwoma powtórzeniami nie powinno przekraczać niżej podanych wielkości:

zabarwione zarodki, %	dopuszczalne odchylenie, %
90 ÷ 100	4,0
80 ÷ 90	6,0

W przypadku większej rozbieżności należy wykonać trzecie oznaczenie. Za wynik przyjąć średnią wartość wszystkich powtórzeń.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Centrala Przemysłu Zbożo-Młynarskiego PZZ, Warszawa.

2. Istotne zmiany w stosunku do BN-69/9131-03

a) uzupełniono normę o metodykę szybkiego oznaczania (żywności) przy użyciu chlorku tetrazoliowego z pominięciem zastosowania aparatu Vitascope; metodykę oparto na wynikach pracy wykonanej w Centralnym Laboratorium Technologii Przetwórstwa i Przechowywania Zboż w Warszawie i wynikach jej oceny w laboratoriach przemysłowych,

b) wprowadzono zmianę w p. 2.3 w zakresie przygotowania próbki w sposób zalecany przez Europejską Konwencję Browarową,

c) podano definicję określenia ziarn skielkowanych w odniesieniu do jęczmienia browarowego.

3. Normy związane

PN-70/R-74010 Ziarno zbóż i nasiona strączkowe jadalne. Pobieranie próbek

PN-69/R-74016 Ziarno zbóż. Oznaczanie szkodników, zanieczyszczeń i zaśmiecenia

BN-66/9131-13 Ziarno zbóż. Jęczmień browarny

4. Zalecenia międzynarodowe

European Brevery Convention — Analytica FBC, 1963. Przepisy międzynarodowe zatwierdzone na kongresach International Seed Testing Association w latach 1974 i 1977.

5. Autor projektu normy — dr J. Jakubowska, Centralne Laboratorium Technologii Przetwórstwa i Przechowywania Zboż w Warszawie.

6. Wydanie 2 — stan aktualny: maj 1986 — wprowadzono zmianę I — Biuletyn PKNMiJ nr 4/1984 i erratę — Biuletyn PKNMiJ nr 2-3/1985.