



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

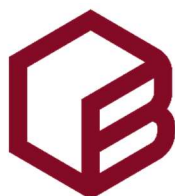


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00

INSTRUKCJE DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH Z BIOCHEMII

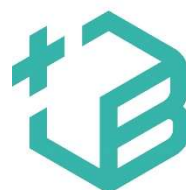
*dla kierunku lekarskiego
Politechniki Bydgoskiej
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich*



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Technologii
i Inżynierii Chemicznej



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Medyczny



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



WITAMINY



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Technologii
i Inżynierii Chemicznej



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Medyczny



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Zagadnienia

1. Rozpuszczalność w wodzie lub tłuszczu - wyjaśnienie
2. Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach
 - a. Przykłady (oznaczenie literowe i nazwy związków)
 - b. Funkcje w organizmie
 - c. Skutki niedoboru
 - d. Skutki nadmiaru
3. Witaminy rozpuszczalne w wodzie
 - a. Przykłady (oznaczenie literowe i nazwy związków)
 - b. Funkcje w organizmie
 - c. Skutki niedoboru
 - d. Skutki nadmiaru
4. Metabolizm witamin – zarówno dla rozpuszczalnych w tłuszczach i rozpuszczalnych w wodzie
 - a. Wchłanianie
 - b. Transport
 - c. Magazynowanie



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Ćwiczenie 1. Oznaczanie zawartości witaminy C METODĄ TILLMANSA

Zasada:

Oznaczenie polega na redukcji barwnego roztworu 2,6-dichlorofenoloindofenolu do bezbarwnego leukozwiązku pod działaniem kwasu L-askorbinowego.

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotowanie roztworu 2,6-dichlorofenoloindofenolu (Odczynnik TILLMANSA). (Zapytać prowadzącego o dostępność). 0,21 g wodorowęglanu sodu (kwaśnego węglanu sodu) rozpuścić w kolbie stożkowej w ok. 600 cm³ gorącej wody i po nieznacznym ochłodzeniu dodać 0,25 g 2,6-dichlorofenoloindofenolu. Po ostudzeniu roztwór wymieszać, przenieść do kolby miarowej o poj. 1 dm³ i uzupełnić do kreski wodą. Następnie przesączyć przez karbowany sącdek do butelki z ciemnego szkła. Roztwór przechowywać w temp. 4°C. Podczas przechowywania miano jego zmienia się; przed użyciem należy je ustalić i co pewien czas sprawdzać.

Oznaczanie miana 2,6-dichlorofenoloindofenolu przez miareczkowanie roztworu standardowego kwasu askorbinowego. Za miano 2,6-dichlorofenoloindofenolu przyjmuje się liczbę cm³ barwnika potrzebną do utlenienia 1 mg kwasu askorbinowego. Do oznaczania miana należy pobrać od 1 do 10 cm³ roztworu kwasu askorbinowego w zależności od świeżości 2,6-dichlorofenoloindofenolu. Wówczas mianem jest objętość zużytego barwnika podzielona przez objętość roztworu kwasu askorbinowego pobranego do oznaczenia miana.

Przygotowanie roztworu kwasu askorbinowego. Rozpuścić 50 mg kwasu askorbinowego w 2-procentowym roztworze kwasu szczawiowego i uzupełnić tym roztworem do 50 cm³ w kolbie miarowej. ROZTWÓR TEN JEST NIETRWAŁY I NALEŻY GO PRZYGOTOWYWAĆ ŚWIEŻO PRZED OZNACZENIEM.

Przygotowanie próbki do oznaczeń:



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Produkty płynne i przeciery: odważyć 10g (z dokładnością do 0,01g) wymieszanej średniej próbki produktu.

Oznaczanie wit. C w roztworach bezbarwnych i słabo zabarwionych

Oznaczenie wykonać 3-krotnie! Do kolby stożkowej o poj. 50 cm³ odmierzyć 2-10 cm³ próbki (w zależności od zawartości wit. C w produkcie) i miareczkować możliwie szybko z biurety roztworem 2,6-dichlorofenoloindofenolu do zabarwienia lekko różowego utrzymującego się ok. 10s.

Zawartość kwasu askorbinowego (K) w mg na 100 g badanego materiału oblicza się ze wzoru:

$$K = \frac{a \cdot d \cdot 100}{m \cdot c \cdot n}$$

gdzie:

- a – ilość zużytego barwnika (cm³),
- c – liczba(cm³) przesączu pobrana do miareczkowania (średnia z 3 powtórzeń),
- d – objętość kolby miarowej
- m – miano barwnika
- n – naważka materiału badanego (g)

Odczynniki

- Kwas askorbinowy,
roztwór standardowy o stężeniu 1 mg/cm³
- Roztwór 2-procentowy kwasu szczawiowego
- Roztwór nasycony szczawianu sodu
- Roztwór 2,6 dichlorofenoloindofenolu

Sprzęt laboratoryjny



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



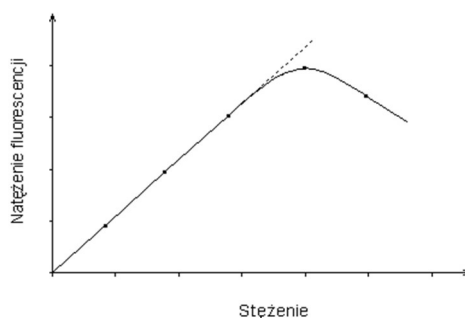
Ćwiczenie 2. Oznaczanie zawartości tiaminy w produktach kosmetycznych metodą spektrofluorymetryczną

Zasada:

Spektrofluorymetria jest jedną z najbardziej czułych technik analitycznych, pozwalającą wykryć stężenia rzędu 10^{-8} - 10^{-11} g/L. Wykorzystuje ona zjawisko fluorescencji, czyli emisji promieniowania elektromagnetycznego w widzialnym zakresie widma przez oznaczaną substancję po wcześniejszym wzbudzeniu jej promieniowaniem nadfioletowym.

Bezpośrednio można oznaczać tylko związki wykazujące zjawisko fluorescencji (np. fluoresceina, rodamina B). Pośrednio natomiast można oznaczyć związki, które w wyniku odpowiedniej reakcji chemicznej przekształcane są w związki fluoryzujące (np. witaminy, aminokwasy) oraz te, które same nie fluoryzują, ale reagując z odpowiednimi odczynnikami tworzą fluoryzujące produkty (np. reakcje kompleksowania jonów metali).

Wykorzystanie zjawiska fluorescencji do celów analizy ilościowej opiera się na fakcie, że w pewnym zakresie stężeń natężenie emitowanego promieniowania jest wprost proporcjonalne do stężenia związku oznaczanego (rys.1).



Rys.1. Zależność natężenia fluorescencji od stężenia badanego związku



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

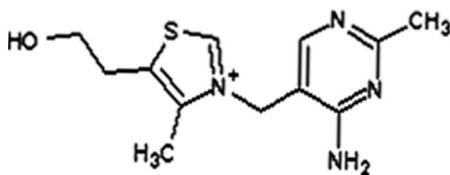
Dofinansowane przez
Unię Europejską



Spektrofluorymetria należy do metod instrumentalnych o charakterze porównawczym, należy więc zachować jednakowe warunki podczas przygotowania wzorców i roztworu badanego.

Tiamina (witamina B₁, chlorowodorek tiaminy; rys.2) należy do witamin z grupy B. Jest to heterocykliczny związek organiczny złożony z pierścienia tiazolowego i pierścienia pirymidynowego, które są połączone mostkiem metinowym. Poprzez grupę aminową pierścienia pirymidynowego może tworzyć pirofosforany, które stanowią biologicznie aktywną formę witaminy B₁. Tiamina odgrywa zasadniczą rolę w procesach oddychania tkankowego, głównie w przemianie węglowodanów, wzmacnia czynność acetylocholino, działa synergicznie z

tyroksyną i insuliną, pobudza wydzielanie hormonów gonadotropowych. Ponadto przyspiesza gojenie się ran i wykazuje działanie uśmierzające ból.



3-[(4-amino-2-metylopirymidyn-5-ylo)metylo]-5-(2-hydroksyetylo)-4-metylotiazoilol

Rys.2. Budowa witaminy B₁

Spektrofluorymetryczna metoda oznaczania witaminy B₁ polega na jej utlenieniu do tiochromu (rys.3), który wykazuje niebieską fluorescencję. Utlenianie prowadzi się w



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego

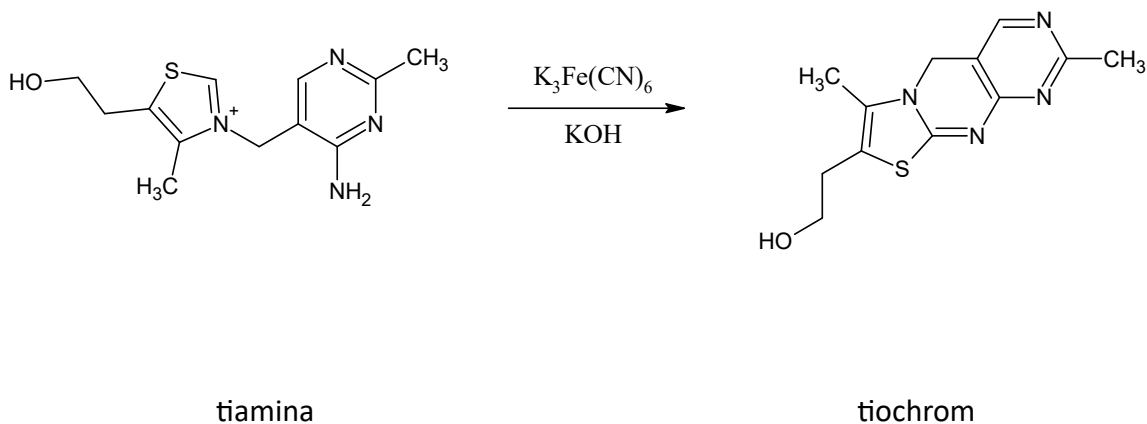


Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



środkowisku alkalicznym za pomocą heksacyjanożelazianu(III) potasu. Aby zwiększyć selektywność oznaczenia przeprowadza się ekstrakcję produktu utlenienia izobutanolem.



Rys.3. Schemat utlenienia witaminy B₁

Wykonanie ćwiczenia:

1. Przygotowanie odczynnika utleniającego (na świeżo)

- W kolbce stożkowej ze szlifem o pojemności 100 cm³ przygotować odczynnik utleniający. W tym celu należy zmieszać **75 cm³ roztworu wodorotlenku potasu** (5,4 mol/L) z **3 cm³ roztworu heksacyjanożelazianu(III) potasu** (4%). Mieszaniny utleniającej nie należy przechowywać dłużej niż przez 4 godziny.

2. Sporządzenie wzorcowych roztworów chlorowodoru tiaminy

- Do 6 ponumerowanych kolbek stożkowych ze szlifem o pojemności 50 cm³ odmierzyć kolejno: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 i 2,5 cm³ **roztworu chlorowodoru tiaminy** o stężeniu **1 μg/cm³** i uzupełnić do objętości końcowej 10 cm³ roztworem kwasu siarkowego(VI) (0,05 mol/L) zgodnie ze schematem zamieszczonym w tabeli:

L.p.	Objętość roztworu chlorowodoru tiaminy o stężeniu 1 μg/cm ³ [cm ³]	Objętość roztworu H ₂ SO ₄ o stężeniu 0,05 mol/L [cm ³]



1.	0,0 (ślepa próba)	10,0
2.	0,5	9,5
3.	1,0	9,0
4.	1,5	8,5
5.	2,0	8,0
6.	2,5	7,5

- Do sporządzonych roztworów wzorcowych chlorowodoru tiaminy dodać po 8 cm³ odczynnika utleniającego i odczekać 10 minut.
- Następnie do każdego roztworu dodać po 10 cm³ izobutanolu i wytrząsać przez 1 minutę.
- Pozostawić do rozdzielania warstw.
- Otrzymuje się wzorce chlorowodoru tiaminy o stężeniu 0,00; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 μg/cm³

3. Przygotowanie roztworu próbki badanej (zadanie)

- Do kolby stożkowej ze szlifem o pojemności 50 cm³ odmierzyć 5 cm³ próby badanej (zadanie), dodać 5 cm³ 0,05 mol/L roztworu kwasu siarkowego(VI). Kolbę umieścić w wytrząsarce, zabezpieczyć i wytrząsać 10 minut.
- Następnie dodać 8 cm³ odczynnika utleniającego (sporządzonego w pkt. 1 ćwiczenia) i odczekać 10 minut.
- Dodać 10 cm³ izobutanolu i wytrząsać przez 1 minutę.
- Pozostawić do rozdzielania warstw.

4. Przygotowanie roztworu próbki szamponu

- Do kolby stożkowej ze szlifem o pojemności 50 cm³ odważyć ok. 0,5 g szamponu i dodać 10 cm³ 0,05 mol/L roztworu kwasu siarkowego (VI). Kolbę umieścić w wytrząsarce, zabezpieczyć i wytrząsać 10 minut.



- Następnie dodać 8 cm³ odczynnika utleniającego (sporządzonego w pkt. 1 ćwiczenia) i odczekać 10 minut.
- Dodać 10 cm³ izobutanolu wytrząsać przez 1 minutę.
- Pozostawić do rozdzielania warstw.

5. Dobór optymalnej długości fali wzbudzenia i emisji

- Zgodnie z instrukcją obsługi spektrofotometrycznego zarejestrować widmo wzbudzenia i widmo emisji chlorowodorku tiaminy (pobrać 1 cm³ warstwy organicznej (górną warstwę) roztworu o stężeniu 0,20 µg/cm³) (w folderze **METODY** wybrać odpowiednio: <Tiamina widmo wzbudzenia> i <Tiamina widmo emisji>).
- Wyznaczyć optymalną długość fali wzbudzenia λ_{EX} oraz emisji λ_{EM}

6. Wykonanie pomiarów natężenia fluorescencji

- Pomiar natężenia fluorescencji należy wykonać zgodnie z instrukcją obsługi spektrofotometrycznego dla wzorcowych roztworów chlorowodorku tiaminy, roztworu próbki badanej i roztworu szamponu. (Wybierać polecenia dotyczące tiaminy: <Tiamina analiza ilościowa>)
- Pobrać 1 cm³ warstwy organicznej (górną warstwę) i zmierzyć jej natężenie fluorescencji przy optymalnych długościach fali wzbudzenia $\lambda_{EX} = 360 \text{ nm}$ i emisji $\lambda_{EM} = 420 \text{ nm}$
- Pomiar natężenia fluorescencji dla próbki (szampon) oraz dla próbki badanej (zadanie) należy powtórzyć 3 razy.
- Wyniki pomiarów zestawić w tabeli:

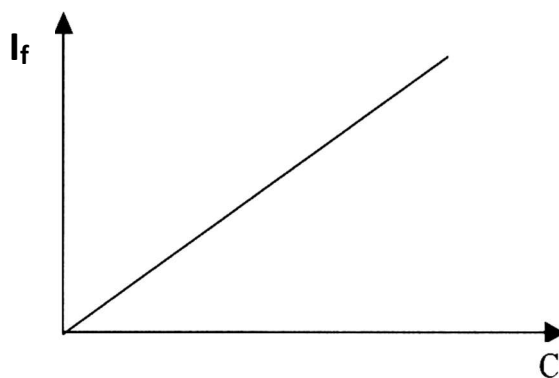
L.p.	Stężenie chlorowodorku tiaminy [µg/cm ³] C [µg/cm ³]	Natężenie fluorescencji I _f
1.	0,00 (próba ślepa)	
2.	0,05	
3.	0,10	



4.	0,15	
5.	0,20	
6.	0,25	
7.	zadanie	
	zadanie	
	zadanie	
8.	szampon	
	szampon	
	szampon	

7. Opracowanie wyników

- Od wartości natężenia fluorescencji każdego roztworu wzorcowego chlorowodoru tiaminy należy odjąć wartość natężenia fluorescencji ślepej próby.
- Sporządzić wykres kalibracyjny tj. zależności natężenia fluorescencji od stężenia chlorowodoru tiaminy $f(C)=I_f$. Na wykresie umieścić legendę (model aparatu, nazwę oznaczanej substancji, długość drogi optycznej, analityczną długość fali wzbudzenia λ_{EX} i emisji λ_{EM}).



1. Z wykresu kalibracyjnego odczytać stężenie tiaminy w próbce badanej (zadanie) oraz w próbce szamponu.

Dla próbki badanej (zadanie) obliczyć błędy:

- **Błąd bezwzględny (Δx)** – bezwzględna wartość różnicy między wartością rzeczywistą (x) a wartością otrzymanego wyniku - zadanie (x_i).



$$\Delta x = |x - x_i|$$

- **Błąd względny ($\Delta x_{wzgl.}$)** – wyraża stosunek wielkości błędu bezwzględnego (Δx) do mierzonej wartości rzeczywistej (x).

$$\Delta x_{wzgl.} = \frac{\Delta x}{x} \times 100\%$$

Błąd względny jest wartością niemianowaną. Wyrażony w procentach ułatwia porównywanie wielkości błędów pomiędzy sobą.

2. Obliczyć współczynnik kalibracji F dla każdego roztworu wzorcowego chlorowodoru tiaminy wg wzoru:

$$F = \frac{C}{I_{fw} - I_{fs}}$$

gdzie:

c - stężenie wzorca chlorowodoru tiaminy

I_{fw} - natężenie fluorescencji wzorca

I_{fs} - natężenie fluorescencji ślepej próby

- Obliczyć średnią wartość \bar{F} współczynnika kalibracji.
 - Obliczyć stężenie tiaminy w próbce badanej (zadanie) korzystając z wartości współczynnika kalibracji.
 - Dla próbki badanej (zadanie) obliczyć błąd względny i błąd bezwzględny
- Dla każdego powtórzenia pomiaru próbki szamponu obliczyć stężenie chlorowodoru tiaminy wg wzoru:

$$C = (I_{fb} - I_{fs}) \times \bar{F}$$

gdzie:

C - stężenie chlorowodoru tiaminy w próbce szamponu

I_{fb} - natężenie fluorescencji roztworu próbki szamponu

I_{fs} - natężenie fluorescencji ślepej próby

\bar{F} - wartość średnia współczynnika kalibracji

- Dla każdego powtórzenia pomiaru obliczyć zawartość chlorowodoru tiaminy m_i w badanej próbce preparatu kosmetycznego wg wzoru:



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



$$m_i = \frac{C_i \cdot V}{m_p}$$

gdzie:

m_i [$\mu\text{g/g}$] - zawartość chlorowodoru tiaminy w próbce szamponu

C_i [$\mu\text{g/cm}^3$] - stężenie chlorowodoru tiaminy w próbce szamponu

V [cm^3] - początkowa objętość próbki (10 cm^3)

m_p [g] - odważona masa próbki

- Obliczyć wartość średnią \bar{m} zawartości chlorowodoru tiaminy w próbce szamponu i odchylenie standardowe od wartości średniej (s) wg wzoru:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (m_i - \bar{m})^2}{n - 1}}$$

gdzie:

m_i - wynik pojedynczego pomiaru (zawartość chlorowodoru tiaminy)

\bar{m} - wartość średnia zawartości chlorowodoru tiaminy w próbce

n - ilość powtórzeń

Ćwiczenie 3.

Zasada:

Oleje roślinne charakteryzują się zróżnicowanym składem kwasów tłuszczowych, wśród których

w dużej ilości mogą występować kwasy nienasycone, mono- i polienowe. Ich obecność powoduje, że oleje roślinne są produktami stosunkowo nietrwałymi, łatwo podlegającymi procesom utleniania. Ulegają wszelkim przemianom prowadzącym do powstania znacznych niekorzystnych zmian jakości określanych jako „jełczenie tłuszczu”. Takie zmiany mogą mieć zróżnicowany charakter oraz przybierać różną formę.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

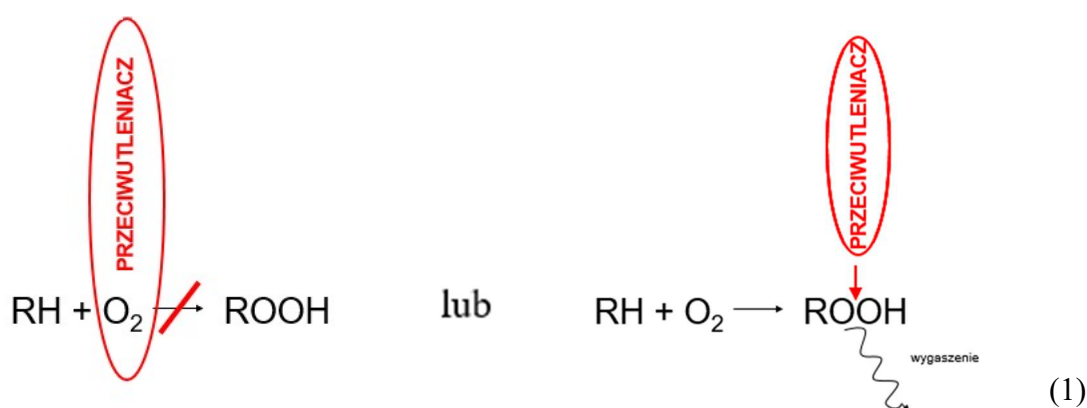
Dofinansowane przez
Unię Europejską



Czynnikami mającymi wpływ na tempo zmian oksydacyjnych w olejach są m.in.: budowa chemiczna kwasów tłuszczowych w cząsteczce triacylogliceroli, ilość i miejsce wiązań nienasyconych

oraz obecność substancji o charakterze proutleniającym lub przeciwutleniającym wchodzących w skład frakcji nieglicerolowej.

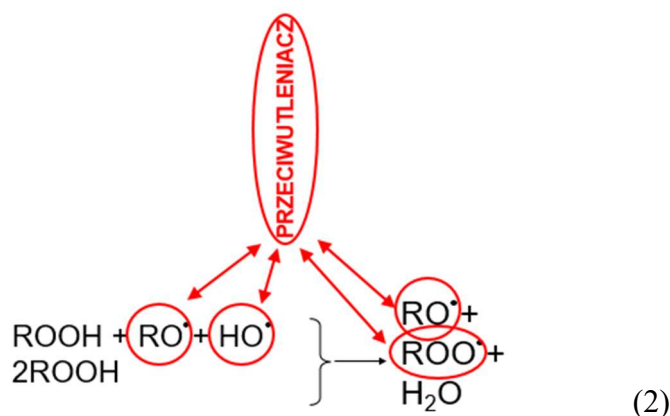
Mianem przeciwutleniacza można określić każdą substancję, która występując w stężeniu niższym niż substancja ulegająca oksydacji, może zahamować lub opóźnić jej utlenienie.



Przeciwutleniacze można podzielić ze względu na miejsce ich działania w łańcuchu samoutlenienia. W tym przypadku wyróżnia się przeciwutleniacze prewencyjne, które mogą współzawodniczyć

z substratem w wiązaniu tlenu, mogą także wygaszać jego aktywne formy i w ten sposób hamować proces utleniania na etapie jego rozpoczęcia (1).

Druga grupa to przeciwutleniacze interwencyjne, które powstrzymują etap rozwijania reakcji samoutleniania przez rozkład lub wiązanie rodników, tworzenie nierodnikowych stabilnych produktów, blokowanie katalizatorów utleniania lub stabilizowanie hydronatlenków.



Jednymi z najsilniejszych przeciwutleniaczy są witaminy, szczególnie tokoferole, a właściwości przeciutleniające wynikają z uwagi na obecność grupy hydroksylowej w cząsteczce (usytuowana w pozycji 6 pierścienia 6-chromanolu). Tokoferole w przyrodzie występują w świecie roślin zielonych. Najwięcej tokoferoli i ich pochodnych oznaczono w nasionach roślin oleistych i owocach palmy czerwonej. Stwierdzono, że α -tokoferol jest głównie składnikiem tkanek zielonych roślin. Natomiast tokotrienole występują w znacznie mniejszej ilości i przede wszystkim wykazano je w nasionach - łusce i kielkach. Zawartość tokoferoli i tokotrienoli z uwagi na różną aktywność biologiczną i zalecenia żywieniowe, podaje się w ekwiwalentach α -tokoferolu (mg TE).

Tab. Zawartość tokoferoli (witaminy E) w wybranych olejach

Rodzaj oleju	rzepakowy	sojowy	słonecznikowy	z pestek winogron	sezamowy	kukurydziany	lniany	z kielków pszennych	oliwa z oliwek	palmowy
Aktywność wit. E jako α -TE	25,8	16,3	53,9	50,8	6,1	27,0	6,1	491,0	13,6	19,6

Ogólny poziom tokoferoli w warzywach i owocach jest określany poniżej 1 mg α -TE/100 g części jadalnych.

Stabilność oksydacyjna jest właściwością, która pozwala na opisanie trwałości wybranych produktów. Do określania stabilności oksydacyjnej służy metoda Rancimat. Jest to test przyspieszonego starzenia produktów takich jak naturalnych olejów, tłuszczów, kosmetyków,



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



biodiesla, a także polimerów zawierających chlor np. PVC. Parametrem opisującym to zjawisko jest "czas indukcji", "okres indukcji", "indeks stabilności produktu", określający czas, jaki upływa do momentu pojawienia się wtórnych produktów reakcji. Im dłuższy czas indukcji, tym próbka jest bardziej stabilna. Rancimat stosuje się do oceny czasu indukcji lub wskaźnika stabilności oksydacyjnej (OSI) żywności zawierającej tłuszcz, kosmetyków oraz naturalnych tłuszczów i olejów. Jest to też metoda pozwalająca pośrednio określić potencjał przeciwutleniający dodatków, które wykorzystuje się do przeciwdziałania reakcją utleniania. Dodając substancje o właściwościach przeciwutleniających do matryc bogatych w cząsteczki ulegające utlenieniu jak lipidy, kwasy nukleinowe czy białka, można wydłużyć czas stabilności tych składników.

Pomiar stabilności oksydacyjnej oparty jest na przyspieszonym procesie starzenia się próbki poprzez poddanie jej podwyższonej temperaturze oraz działaniu przepuszczanego przez próbkę strumienia powietrza. Przepływające przez próbkę powietrze porywa lotne produkty utleniania próbki, przenosząc je do naczynia pomiarowego zawierającego demineralizowaną wodę, w którym to naczyniu odbywa się ciągły pomiar przewodnictwa.

Przewodnictwo wzrasta wraz z pojawianiem się produktów utleniania. Nagły, znaczący wzrost mierzonego przewodnictwa w naczyniu pomiarowym – widoczny jako silne przegięcie na krzywej – wskazuje na czas indukcji.

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotowanie próbki

- Oleje płynne : jako grupa tłuszczów roślinnych lub zwierzęcych, które są płynne w temperaturze pokojowej, można mierzyć bezpośrednio. Jednorazowa plastikowa pipeta Pasteura jest używana do ważenia próbki bezpośrednio do naczynia reakcyjnego.
- Tłuszcze stałe : jako grupa tłuszczów roślinnych lub zwierzęcych, które są stałe w temperaturze pokojowej i topią się w podwyższonej temperaturze, można mierzyć bezpośrednio. W przypadku problemów z ważeniem próbki do dolnej części naczynia reakcyjnego, próbkę można wcześniej stopić w łaźni wodnej. Należy uważać, aby temperatura łaźni wodnej nie była znacznie wyższa od temperatury topnienia próbki, w przeciwnym razie można spodziewać się pogorszenia jakości próbki.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



- Tłuszcze zawierające wodę : (masło, margaryna) można również ważyć bezpośrednio. Rozmiar próbki musi zostać zwiększony, aby zrekompensować utratę próbki spowodowaną parowaniem zawierającej ją wody.
- Stałe produkty zawierające tłuszcz – pomiar bezpośredni. Ciała stałe o dużej zawartości tłuszczu, takie jak orzechy i nasiona oleiste (np. orzechy laskowe, migdały, nasiona słonecznika, nasiona sezamu itp.), można mierzyć bezpośrednio. Przed zważeniem próbki należy ją rozgnieść i zhomogenizować, np. w moździerz. Należy uważać, aby próbka nie została przegrzana i nie została zanieczyszczona śladami substancji przejściowych.
- Stałe produkty zawierające tłuszcz – ekstrakcja na zimno. Tłuszcz z próbek o złożonej matrycy, np. artykuły spożywcze takie jak majonez, mleko w proszku, czekolada, herbatniki itp., musi zostać wyekstrahowany przed oznaczeniem. Jest to preferowane wykonuje się je metodą ekstrakcji na zimno, gdyż podgrzewanie zmieniłoby zawartość tłuszczu.

Przed ekstrakcją próbka musi zostać rozdrobniona, jeśli nie jest już płynna lub sproszkowana. Do kolby stożkowej odważa się próbkę wystarczającą do wyekstrahowania ok. 10 g tłuszczu (wystarczającą na dwa pomiary). Dodaje się ok. 3-krotność objętości próbki niskowrzącego eteru naftowego. Ekstrakcję przeprowadza się mieszając przez co najmniej 1 godzinę. Następnie fazę eteru naftowego oddziela się od pozostałości przez filtrowanie w przypadku próbek stałych lub przez lejek rozdzielczy w przypadku próbek ciekłych i przenosi do kolby okrągłodennej. Eter naftowy oddestylowuje się w temperaturze 20-30°C pod próżnią, np. za pomocą wyparki próżniowej.

Analiza

Przygotowanie Rancimatu

Blok grzewczy nagrzewa się do odpowiedniej temperatury.

Przygotowanie naczynia pomiarowego

Naczynie pomiarowe napełnia się 60 ml dejonizowanej wody i umieszcza na Rancimacie wraz z pokrywką naczynia pomiarowego. W przypadku długich analiz (>72 h) zaleca się zwiększenie



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



objętości w celu skompensowania utraty parowania. Należy wziąć pod uwagę szybkość parowania 5-10 ml wody dziennie. Należy upewnić się, że elektroda jest zanurzona w roztworze pomiarowym w dowolnym momencie.

Przygotowanie naczynia reakcyjnego

Naczynie reakcyjne (szklana próbka) musi być czysta sucha, w razie potrzeby cząstki stałe usunąć sprężonym powietrzem. Następnie próbka jest ważona bezpośrednio do naczynia reakcyjnego. W przypadku próbek ciekłych i próbek, które topią się w podwyższonych temperaturach, stosuje się wielkość próbki $3,0 \pm 0,1$ g. W przypadku próbek o znacznej zawartości wody (>5%) wielkość próbki musi zostać zwiększona, aby zrekompensować zmniejszenie objętości, gdy woda odparowuje. Upewnij się, że rurka wlotowa powietrza zawsze zanurza się w próbce.

Stałe próbki, które nie topią się, powinny pokrywać jedynie dno naczynia reakcyjnego. W tym przypadku do naczynia reakcyjnego odważa się 0,5-1 g sproszkowanej próbki.

Naczynie reakcyjne zamyka się pokrywką z zamontowaną szklaną kapilarą i przewodem wlotowym powietrza.

Determinacja

Przed rozpoczęciem oznaczania temperatura bloku grzewczego musi być stabilna. Przewody pomiędzy Rancimatem i naczyniem reakcyjnym oraz pomiędzy naczyniem reakcyjnym i naczyniem pomiarowym są połączone. Następnie naczynie reakcyjne umieszcza się w bloku grzewczym i natychmiast rozpoczyna się pomiar.

Przepływ gazu powinien być nastawiony na 20l/h.

Próbka do badań – zapytać prowadzącego o próbki, jednak jeśli nie ma specjalnych zaleceń to próbkę 1 stanowi olej rzepakowy, a próbkę 2 stanowi olej rzepakowy z octanem tokoferolu wymieszany 1:1. Blok grzewczy należy nastawić na 200°C, upewnić się u prowadzącego zajęcia.

Wyniki - odczytać czas indukcji i odnieść się do składu badanych próbek. W ramach sprawozdania omówić metodę i zasadę działania urządzenia oraz zinterpretować uzyskane wyniki i odnieść się do danych literaturowych.



Aparatura i odczynniki:

- Urządzenie do przeprowadzania testu Rancimat zgodnie z normą PN-EN ISO 6886:2016-04 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania): 892 Professional Rancimat (8 stanowisk z probówkami, przewodami i elektrodami) podłączony do urządzenia rejestrującego (komputera) z właściwym oprogramowaniem do rejestracji przebiegu testu

- Waga laboratoryjna

- Woda destylowana

INSTRUKCJA OBSŁUGI URZĄDZENIA

Typical results

Vegetable oils and fats

Sample	Temperature/°C	Induction time/h
Canola oil	130	12 ... 17
Canola oil, hydro-generated	140	10 ... 11
Citrus oil	90	approx. 0.5
Cocoa butter	120	9 ... 15
Coconut oil	120	approx. 33
Coffee oil	110	approx. 0.25
Corn oil	120	approx. 5
Cottonseed oil	120	2 ... 3
Hazelnut fat	120	10 ... 12
Hazelnut oil	120	7 ... 11
Linseed oil	110	0.5 ... 2
Margarine	120	2 ... 6
Olive oil	120	6 ... 11
Orange oil	90	approx. 2
Palm oil	120	7 ... 12
Peanut fat	120	9 ... 10



Animal oils and fats, direct determination

Sample	Temperature/°C	Induction time/h
Butter	120	3 ... 6
Chicken fat	110	approx. 0.5
Fish oil	80	approx. 0.25
Kidney fat	110	3 ... 4
Lard	100	1 ... 3
Pigeon fat	110	approx. 0.3
Tallow	120	3 ... 8

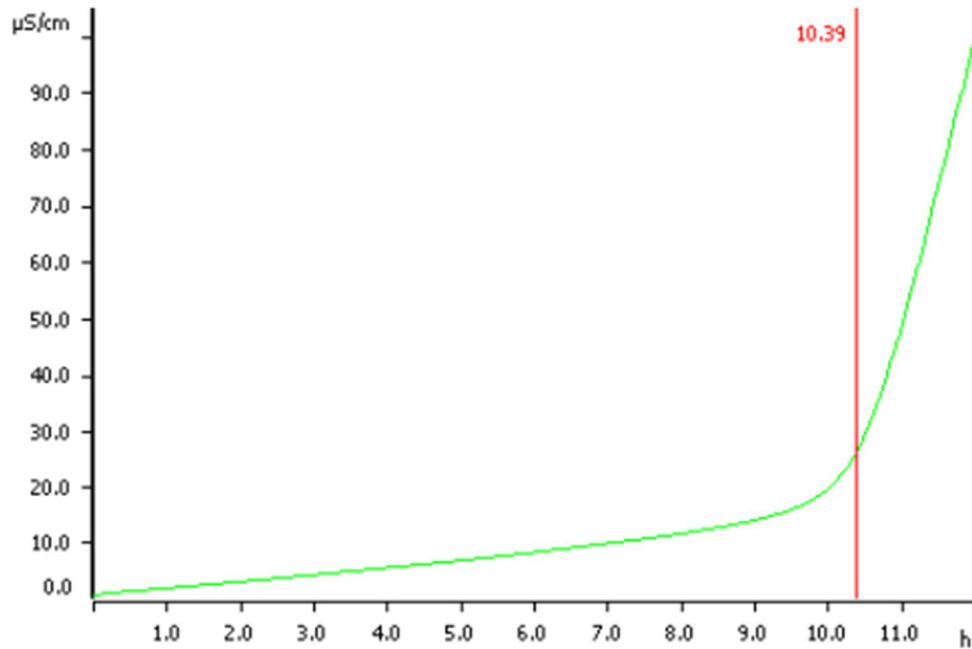
Solid samples, direct determination

Sample	Temperature/°C	Induction time/h
Butter cookies	160	approx. 6
Coconut flakes	160	approx. 17
Hazelnuts	120	approx. 22
Instant noodles	120	15 ... 30
Peanuts	110	approx. 10
Potato chips (crackers)	140	approx. 10

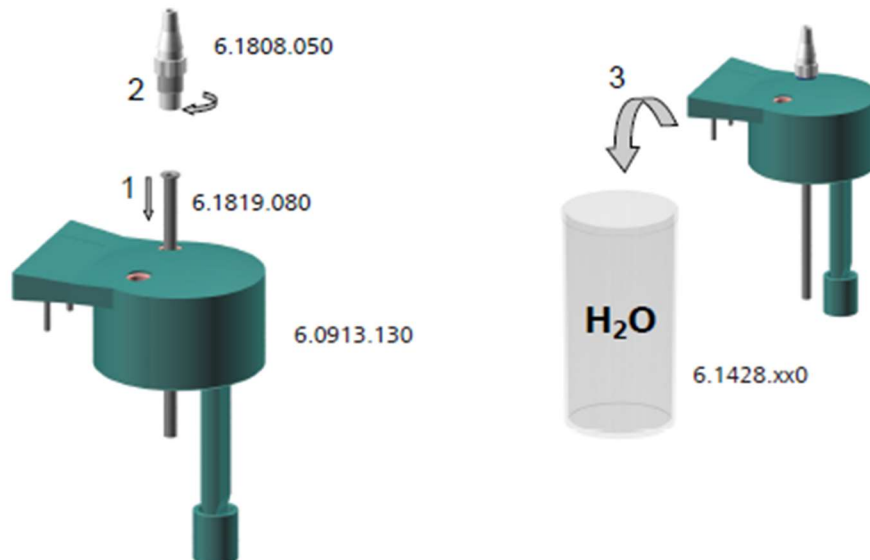


Examples

Olive oil , temperature 120 °C, induction time 10.39 h

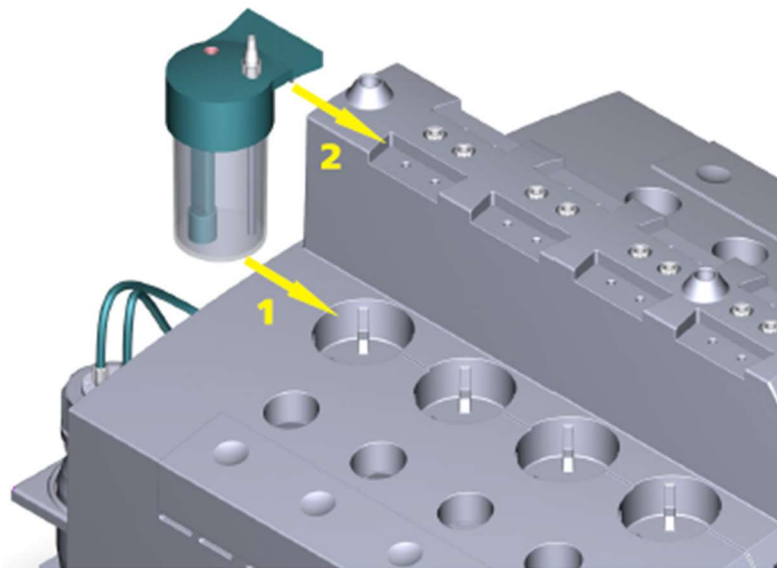


Montaż pokrywy naczynia pomiarowego

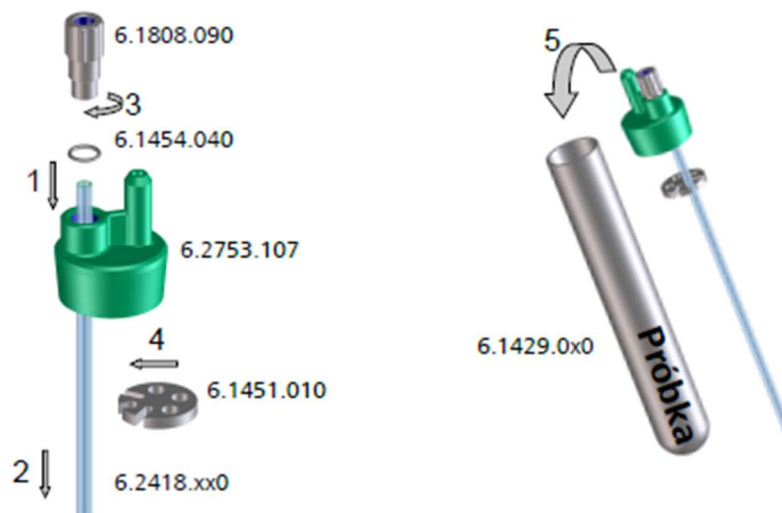




4

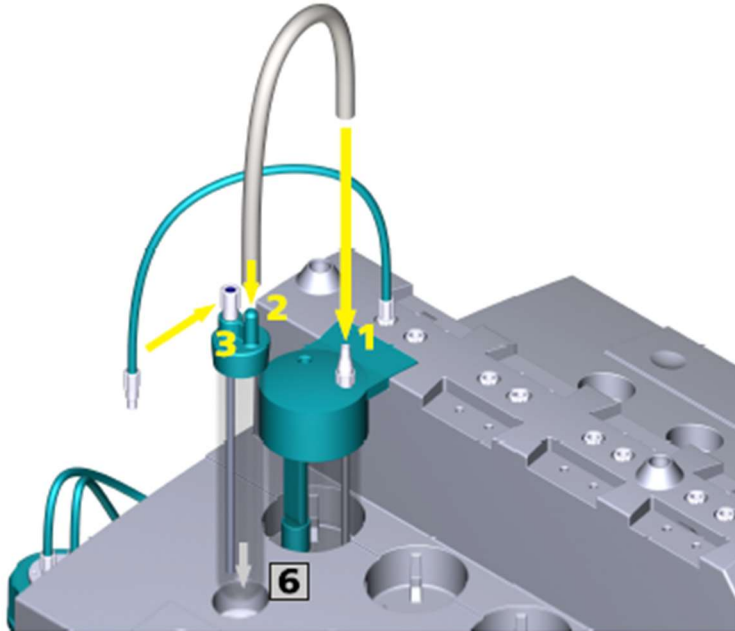


Montaż pokrywy naczynia reakcyjnego





5 Podłączenie naczyń reakcyjnych

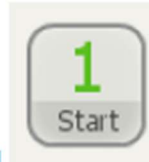


- (1) Biały wężyk silikonowy 6.1816.010 (w 892 Professional Rancimat i 895 Professional PVC Thermomat) lub czarny wężyk Iso-Versinic® 6.1839.000 (893 Professional Biodiesel Rancimat) podłączyć do adaptera wężyka M8/oliwka laboratoryjna pokrywy naczynia pomiarowego.
- (2) Biały wężyk silikonowy lub wężyk Iso-Versinic®, który zamocowany jest na pokrywie naczynia pomiarowego, podłączyć do złącza wężyka znajdującego się na pokrywie naczynia reakcyjnego.
- (3) Przykręcić wężyk z FEP 250 mm 6.1805.080, który przymocowany jest do złącza urządzenia Rancimat, do adaptera gwintowanego M8/M6 pokrywy naczynia reakcyjnego 6.2753.107.



7 Uruchamianie oznaczania

Uruchomić oznaczanie bezpośrednio na urządzeniu lub na stanowisku pomiarowym 1 za pomocą symbolu



skupieniu pomiarowym 1 za pomocą symbolu

Wykonywanie pomiaru sygnalizowane jest poprzez miganie symbolu. Wartość pomiarowa i czas prezentowane są za pomocą krzywej w czasie rzeczywistym.

