

TEHNIK ŽAN

Učno gradivo za Tehnike analize živil

Alenka Hmelak Gorenjak



Naslov: TEHNIK ŽAN
Izobraževalni program: ŽIVILSKO – PREHRANSKI TEHNIK
Modul: TEHNIKE ANALIZE ŽIVIL

Avtorica:
Alenka Hmelak Gorenjak, univ. dipl. inž. živ. teh.

Ilustrirala: Tina Krnjič

Strokovni recenzent: dr. Tomaž Langerholc, univ. dipl. inž. kemije

Lektor: Miroslav Nidorfer, prof. slov., bibl. spec.

Maribor, 2010

© Avtorske pravice ima Ministrstvo za šolstvo in šport Republike Slovenije.

Gradivo je sofinancirano iz sredstev projekta Biotehniška področja, šole za življenje in razvoj (2008-2012).

Operacijo delno financira Evropska unija iz Evropskega socialnega sklada ter Ministrstvo za šolstvo in šport. Operacija se izvaja v okviru operativnega programa razvoja človeških virov za obdobje 2007 – 2013, razvojne prioritete: Razvoj človeških virov in vseživljenjskega učenja, prednostna usmeritev: Izboljšanje kakovosti in učinkovitosti sistemov izobraževanja in usposabljanja.

Vsebina tega dokumenta v nobenem primeru ne odraža mnenja Evropske unije. Odgovornost za vsebino dokumenta nosi avtor.

Kazalo

PREDGOVOR.....	1
1 DELO V LABORATORIJU	3
1.1 Vrednotenje rezultatov	3
Pravilnost.....	3
Sistematične napake	4
Natančnost	5
Slučajne napake.....	5
1.2 Varno delo v laboratoriju	6
Osnovna pravila varnega dela	6
Osebna varovalna oprema	7
Oznake za nevarnost	8
R in S stavki.....	11
1.3 Priprava raztopin.....	13
Delež.....	13
Masni delež	13
Koncentracija.....	14
Masna koncentracija	14
Množinska koncentracija.....	14
2 KLASIČNE KEMIJSKE ANALIZNE METODE	16
2.1 Gravimetrična analiza.....	17
Potek gravimetrične analize.....	17
Gravimetrični izračun	19
2.2 Volumetrična analiza.....	20
Potek titracije	20
Vrste titracij.....	21
Nevtralizacijska titracija	21
Indikatorji	21
Titracijske krivulje.....	21
Obarjalna titracija.....	22
Kompleksometrična titracija	23
Standardne raztopine.....	24
Indikatorji	24
Oksidacijsko-redukcijska titracija	24

Standardne raztopine oksidantov	24
Standardne raztopine reductentov.....	25
Volumetrični izračun.....	25
3 INSTRUMENTALNE ANALIZNE METODE	29
3.1 Potenciometrija	30
Merjenje pH vrednosti.....	31
Steklena elektroda.....	31
Kalomelova elektroda.....	32
Kombinirana elektroda	32
3.2 Spektrometrija.....	33
Beer-Lambertov zakon	33
Spektrometer.....	35
3.3 Kromatografija.....	37
Vrste kromatografskih tehnik.....	37
Papirna in tankoplastna kromatografija	38
Potek dela pri tankoplastni kromatografiji.....	38
Vrednotenje.....	39
Tekočinska kromatografija	39
Plinska kromatografija.....	40
3.4 Elektroforeza	41
Papirna elektroforeza	41
Gelska elektroforeza.....	42
4 ANALIZNE METODE SESTAVE ŽIVIL.....	44
4.1 Določanje vode.....	45
Določanje vode s sušenjem	45
Določanje vode z destilacijo	46
Kemijske metode.....	47
Instrumentalne metode	47
4.2 Določanje mineralnih snovi	48
Suhi sežig	48
Moker sežig.....	49
Določanje posameznih mineralnih snovi.....	49
Določanje kationov	49
Določanje anionov	50
Dokazovanje in določanje težkih kovin	50

4.3 Določanje ogljikovih hidratov.....	51
Določanje monosaharidov in disaharidov.....	51
Kvalitativno določanje monosaharidov in disaharidov	51
Kvantitativno določanje monosaharidov in disaharidov.....	52
Dokazovanje in določanje polisaharidov.....	53
4.4 Določanje beljakovin in aminokislin.....	55
Določanje beljakovin po Kjeldahlu	55
Barvne reakcije s proteini.....	56
Formolna titracija	57
Določanje aminokislin	57
4.5 Določanje maščob	58
Določanje količine maščob.....	58
Določanje količine maščob po Soxhletu.....	58
Določanje kvara maščobe	59
Določanje hidrolitičnega kvara.....	59
Določanje oksidativnega kvara.....	60
Določanje karakterističnih števil	60
Določanje sestave maščobe	61
4.6 Določanje aditivov.....	62
Določanje konzervansov	62
Določanje barvil.....	63
Določanje umetnih sladil.....	63
Kazalo slik	65
Kazalo tabel	65
5. LITERATURA.....	66

PREDGOVOR

V modernem svetu dobiva velik pomen kakovostna, varna in uravnotežena prehrana. Ljudje se vedno bolj zavedamo, da naše zdravje izvira tudi iz našega odnosa do zdravega prehranjevanja. Zagotavljanje varne, kakovostne hrane pomeni tudi ustrezen nadzor, tako v procesu pridelave in predelave, kot tudi nadzor živil na policah trgovin. Pomembno je, da je z zakonodajo in uporabo ustreznih analiznih metod zagotovljena varnost in kakovost prehrane.

Učbenik za predmet Tehnike analize živil naj vam bo v pomoč pri spoznavanju osnov analize živil, ki temeljijo na analizi kemiji in osnovnih laboratorijskih tehnikah. Z Žanom boste spoznali osnove, ki jih potrebujemo za varno delo v laboratoriju, klasične kemijske in fizikalne analizne metode in metode za analizo posameznih sestavin živil.

V učbeniku so navedeni še ostali priporočeni viri za pridobivanje ustreznega znanja. Med obvezne, prav gotovo, sodijo številni pravilniki o kakovosti živil, ki jih zlahka najdemo na spletnem medmrežju. Ob uporabi te, dodatne literature, boste dijaki pridobili dovolj osnovnega znanja za vključevanje v zagotavljanje in nadzor kakovosti živilsko-prehranskih izdelkov.

Dragi dijaki, želim vam, da bi z veseljem spoznavali tehnike analize živil in jih uspešno preizkušali v laboratoriju. Upam, da vam bosta pri tem Žan in Žana v pomoč.

Avtorica gradiva
Alenka Hmelak Gorenjak



Žan - zapomnili si bomo!



Žana – znali bomo odgovoriti na vprašanja.

1 DELO V LABORATORIJU



Kdaj je moje delo pravilno in kdaj natančno?
 Čemu služijo oznake na reagenčnih steklenicah?
 Kako pripravim 10 % raztopino kuhinjske soli?

V laboratoriju uporabljamo za izvajanje analize živil različne laboratorijske tehnike, ki se ne razlikujejo bistveno od uporabe tehnik v kateremkoli analiznem laboratoriju. Tehtanje, odmerjanje volumna, priprava raztopin, uporaba klasičnih in instrumentalnih analiznih metod je v vseh laboratorijih podobna, razlike so samo pri specifičnih analiznih metodah za posamezna živila (npr. analiza mleka, analiza mlevskih izdelkov ...). Pravilna uporaba laboratorijskih tehnik je nujna za pravilnost rezultata. Po izvedbi analize je prav tako nujno pravilno vrednotenje rezultatov in poznavanje ter upoštevanje možnosti napak. Zato se v uvodnem poglavju učbenika ukvarjamo tudi z osnovami vrednotenja rezultatov. Seveda nas pa v laboratoriju ne skrbita samo natančno in pravilno delo, poseben poudarek se namenja tudi varnemu delu. S pomočjo zakonodaje je omogočeno, da nista ogrožena varnost in zdravje delavca v laboratoriju. Dolžnost vsakega delavca v laboratoriju pa je, da upošteva navodila za varno delo in se stalno izobražuje na področju varnosti.

1.1 Vrednotenje rezultatov

Po opravljeni analizi pridemo do rezultatov, ki jih je potrebno tudi ovrednotiti. Vrednotenje rezultatov se razlikuje po tem ali gre za rutinsko, vsakodnevno kontrolo ali za raziskovalno delo v laboratoriju. Rutinske metode običajno ne zahtevajo posebnih statističnih obdelav, pri raziskovalnem delu pa je obdelava podatkov zahtevnejša in zahteva tudi poznavanje statističnih metod.

Rezultati analiz so vedno pridobljeni na osnovi določenega postopka (metode), z uporabo določene opreme in s pomočjo vzorcev. Rezultati analiz bodo pravilni, če je postopek pravilno izbran, če je uporabljena oprema zanesljiva in če so vzorci reprezentančni. Vzorci so reprezentančni, kadar predstavljajo celoto, ki jo želimo analizirati (npr. pazimo, da pred odvzemom vzorca premešamo tekoče živilo). Od tega, kako pridemo do rezultatov, je odvisna tudi njihova verodostojnost.

Zanesljivost rezultatov analiznega postopka podajamo s pravilnostjo in natančnostjo.

Pravilnost

Pravilnost je merilo za to, kako se izmerjena vrednost ujema z dejansko vrednostjo. Označujemo jo z napako, ki jo lahko izrazimo kot absolutno ali relativno:

Absolutna napaka : $E_a = \bar{x} - \mu$

Relativna napaka : $E_r = \frac{\bar{x} - \mu}{\mu} \cdot 100\%$

\bar{x} – povprečna izmerjena vrednost

μ – dejanska vrednost

Največkrat nimamo podatka o dejanski vrednosti, zato je težko realno oceniti napako. Obstajajo pa mehanizmi, s katerimi se lahko zaščitimo pred napakami, ki bi vplivale na pravilnost analitskega postopka.

V laboratoriju mora delo potekati tako, da ne pride do velikih napak. Te nastajajo zaradi:

- različnih zamenjav,
- pokvarjenih naprav,
- nezanesljivih delavcev,
- napačnega jemanja vzorcev in napačnega standardiziranja,
- odmikov od predpisov,
- napačnega računanja in
- netočne dokumentacije.

Te napake se običajno le redko zgodijo in jih ne uvrščamo med stalne napake v laboratoriju. Na pravilnost rezultata pa vplivajo sistematične napake, ki se običajno ponavljajo pri posameznih analiznih metodah.

Sistematične napake

Sistematične napake so napake, ki vplivajo na pravilnost analitskega postopka in jih lahko vsaj v principu ugotovimo in upoštevamo ali v celoti odpravimo.

Sistematične napake nastajajo zaradi:

- **osebne napake analitika**,
Primer: Napačno odčitavanje merilnih instrumentov.
- **instrumentalne napake** (napaka merilnih instrumentov),
Primer: odstopanje izmerjene teže na tehtnicah od dejanske, volumna pipet, biret, merilnih bučk ...
- **napaka metode** (ima svoj izvor v metodi analize, ki jo analitik uporablja). Je najbolj problematična napaka, ker so prizadeti vsi rezultati, ki smo jih dobili s to metodo.

Sistematične napake odkrivamo s pomočjo:

- analize standardov,
- analize istega materiala z različnimi metodami in

- neodvisne analize v več laboratorijih.

Natančnost

Natančnost je merilo za ponovljivost rezultatov znotraj ene serije. Prikazana je z večjim ali manjšim odklonom od aritmetične sredine. Predpostavimo, da je aritmetična sredina najbolj verjeten rezultat.

V statistiki se za podajanje natančnosti uporablja standardni odklon, ki ga izračunamo po naslednji formuli:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$$

s – standardni odklon

Na večji ali manjši odklon od aritmetične sredine pri posamezni meritvi znotraj eksperimenta vplivajo slučajne napake.

Slučajne napake

Slučajne napake nastajajo zaradi nenatančnega dela. S prilagoditvijo aparatov in poskusa jih lahko do neke mere znižamo, ne moremo pa jih popolnoma odpraviti. Slučajne napake so neodvisne ene od druge in lahko pričakujemo, da se bodo pri dovolj velikem številu ponovitev nekega poskusa izničile (enkrat navzdol, drugič navzgor).



Pred delom v laboratoriju vedno načrtujemo delo in se nanj ustrezno pripravimo. Poznamo možne vire napak in jih skušamo odpraviti. Dobljene rezultate vrednotimo z izračunom povprečne vrednosti in podamo napako dela z absolutnim in relativnim odklonom.

1.2 Varno delo v laboratoriju

Kemijski laboratorij za analizo živil se ne razlikuje od ostalih laboratorijev - je neke vrste delavnica, v kateri izvajamo različne laboratorijske tehnike z namenom določiti sestavo živila, njegovo hranilno vrednost ali ugotoviti kakovost živila. V njem uporabljamo plinsko in električno napeljavo, delamo z nevarnimi kemikalijami in zahtevnimi aparaturami. V laboratoriju je potrebno upoštevati vsa navodila za varno delo in se pred zahtevnimi analizami naučiti pravih laboratorijskih tehnik.

Kemijski laboratorij mora biti svetel, velik in zračen. Opremljen je z delovnimi mizami. Na steni delovne mize so priključki za elektriko, vodovodne pipe ter plinska napeljava. Na primernem mestu v laboratoriju so pomivalna korita. V laboratoriju so tudi omare za kemikalije, za stekleni pribor in drobni inventar; digestorij, v katerem delamo s strupenimi parami. Vsak, ki dela v laboratoriju, je dolžan nositi zaščitno haljo, zaščitna sredstva, kot so očala in rokavice ter se ravnati po predpisih za varno delo. V laboratoriju sta zelo pomembna red in čistoča!

Osnovna pravila varnega dela

Osnovna pravila varnega dela so zapisana v laboratorijskem redu, ta je izobešen v laboratoriju in določa splošna pravila za delo v laboratoriju. Navodila, ki se nanašajo na posamezen laboratorij ali na posamezno vajo, se posredujejo sprotno.

V laboratoriju obstaja veliko nevarnosti, zato je nujno potrebno upoštevati navodila za varno delo:

- V laboratoriju vedno nosimo zaščitno haljo, ki mora biti čista in zašita.
- Pri delu v laboratoriju nosimo zaščitna očala s stransko zaščito.
- Dolge lase povežemo v čop.
- Pred izvajanjem poizkusov proučimo osnovne lastnosti kemikalij (strupenost, vnetljivost, ...), ki jih bomo uporabljali.
- Pri delu z jedkimi in strupenimi snovmi ter vročimi predmeti nadenemo primerne zaščitne rokavice, prav tako tudi pri uporabi barvil.
- Zdravju škodljive hlapne snovi vedno prelivamo v digestoriju.
- Tekočine vedno pipetiramo z nastavkom za pipete ali pa z avtomatskimi pipetami.
- Odvečne količine reagentov nikoli ne vračamo v posodo, iz katere smo jih vzeli, ker s tem onesnažimo zalogo.
- Odpadnih kopeli ne izlivamo v pomivalna korita ali odlagamo v smetišča, ampak jih zbiramo v posebnih posodah (navodila laboranta).
- V laboratoriju hrane in pijače ne hranimo in ne uživamo, ker obstaja nevarnost kontaminacije.
- Vse poškodbe s kemikalijami in druge nesreče takoj javimo učitelju ali laborantu.
- Po končanem delu si vedno umijemo roke z vodo in milom.

Osebna varovalna oprema

Osebna varovalna oprema služi za zmanjšanje tveganja nastanka poškodb in okvar zdravja, do katerih lahko pride med opravljanjem dela v laboratoriju. Med osebno varovalno opremo sodi oblačilo in pripomočki narejeni za nošenje z namenom zaščititi osebo pred nastankom



Slika 1: Dijaki v laboratoriju uporabljajo osebno varovalno opremo (Vir: lasten)

poškodb oziroma bolezni. V laboratoriju je prepovedano opravljanje laboratorijskih vaj brez uporabe ustrezne osebne varovalne opreme. Med obvezno varovalno opremo spadajo:

- zaščitna očala: očala s stransko zaščito, panoramska očala (za tiste osebe, ki nosijo korekcijska očala ali kontaktne leče),
- halja mora biti iz bombaža, z dolgimi rokavi in segati vsaj do kolen, zapenjati se mora s pritiskači,
- primerna obutev je taka, da varuje celotno stopalo in omogoča trden in varen korak,
- natikači, sandali ali obutev z visoko peto oz. drsečimi podplati za delo v laboratoriju ni primerna,
- zaščitne rokavice (uporaba po potrebi).

V laboratoriju smo s preprostimi opozorilnimi znaki opozorjeni, katera zaščitna sredstva moramo uporabiti:



Uporabiti digestorij



Nositi zaščitna očala



Nositi zaščitne rokavice



Narediti poskus za zaščitnim zaslonom

Slika 2: Oznake za uporabo zaščitnih sredstev

Vir: <http://vedez.dzs.si/datoteke/1%20Varno%20delo%20v%20kemijskem%20laboratoriju.ppt>
(23. 6. 2010)



Poglavitne nevarnosti v laboratoriju


Glavne nevarnosti v laboratoriju izvirajo iz sledečih virov: strupenih, jedkih ali eksplozivnih kemikalij, vnetljivih reagentov, stisnjenih plinov, globoko ohlajenih plinov, nevarne opreme.

Oznake za nevarnost

Pri delu z različnimi snovmi moramo poznati znake, ki nas opozarjajo na varno ravnanje z njimi. V tabeli so zbrani znaki za nevarnosti, njihove razlage ter primeri snovi, ki so z določenimi znaki označene.

Tabela 1: Oznake za nevarnost

 <p>LAHKO VNETLJIVO F (Highly Flammable)</p> <p>Snovi, ki se lahko vnamejo že po krajšem stiku z virom vžiga, v stiku z zrakom, če so izpostavljene segrevanju ali višjem tlaku.</p> <p>Take snovi so: bencin, etanol, aceton, kovine v prahu.</p>	 <p>ZELO LAHKO VNETLJIVO F+ (Extremely Flammable)</p> <p>So lahke tekočine, ki imajo zelo nizko plamenišče (temperatura, pri kateri začne snov goreti) in nizko vrelišče. So tudi plini, ki se na zraku vnamejo že pri sobni temperaturi (20 °C) in običajnem tlaku (1 bar).</p> <p>Take snovi so: kloroetan, dietileter, vodikov sulfid.</p>	 <p>JEDKO C (Corrosive)</p> <p>Snovi, ki lahko poškodujejo ali celo uničijo živo tkivo (npr. kožo) in nekatere materiale (npr. blago), s katerim pridejo v stik. Tako označene snovi lahko povzročijo kožne opekline.</p> <p>Take snovi so: koncentrirane kisline in baze, brom, srebrov nitrat, fenol.</p>
 <p>STRUPENO T (Toxic)</p> <p>Snovi, ki povzročajo hude okvare zdravja (npr. rak, dedne genske okvare, oslabitev plodnosti) ali celo smrt, če jih zaužijemo, vdihavamo oz. če pridejo v stik z našo kožo.</p> <p>Take snovi so: klor, metanol, nekatere spojine težkih kovin (npr. svinca), benzen.</p>	 <p>ZELO STRUPENO T+ (Very Toxic)</p> <p>Snovi, ki že v majhnih količinah povzročajo hude okvare zdravja (npr. rak, dedne genske okvare, oslabitev plodnosti) ali celo smrt, če jih zaužijemo, vdihavamo oz. če pridejo v stik z našo kožo.</p> <p>Take snovi so: ogljikov monoksid, brom, vodikov sulfid, nekatere arzenove spojine, nikotin.</p>	 <p>OKOLJU NEVARNO N (Dangerous For The Environment)</p> <p>Snovi, ki lahko povzročijo takojšnjo ali pa dolgoročno škodo okolju (voda, tla, zrak) in organizmom, ki žive v teh okoljih (npr. čebele, ptiči, ribe).</p> <p>Take snovi so: nekateri biocidi in spojine težkih kovin (npr. svinca), klor, vodikov sulfid, modra galica.</p>

		
<p>ZDRAVJU ŠKODLJIVO Xn (Nocif, Harmful)</p> <p>Snovi, lahko povzročijo takojšnje okvare zdravja pri zaužitju, vdihavanju ali ob stiku s kožo. Lahko imajo tudi dolgoročne vplive in povzročijo okvare, ki jih ne opazimo takoj, tudi rakava obolenja, dedne genske okvare ali zmanjšanje plodnosti.</p> <p>Take snovi so: heksan, triklorometan (kloroform), modra galica, nikelj.</p>	<p>DRAŽILNO Xi (Irritant)</p> <p>Snovi, ki povzročajo draženje kože, oči in dihal. V določenih primerih povzročijo tudi hude poškodbe oči.</p> <p>Take snovi so: nekatera čistilna sredstva, natrijev karbonat (oči), kalcijev klorid (oči), heksan (koža).</p>	<p>EKSPLOZIVNO E (Explosive)</p> <p>Snovi, ki lahko ob določenih pogojih (ob udarcu, stiskanju, trenju, povišani temperaturi) eksplodirajo (se v hipu kemijsko spremenijo).</p> <p>Take snovi so: smodnik, nitroglicerín, TNT.</p>
	 <p>OKSIDATIVNO O (Oxidizing)</p> <p>Snovi, ki zaradi različnih vplivov oddajajo kisik in lahko burno reagirajo ob stiku z drugimi, zlasti vnetljivimi materiali, kar lahko privede do požara.</p> <p>Take snovi so: vodikov peroksid (s koncentracijo višjo od 20 %), kalijev manganat(VII), amonijev nitrat.</p>	

Vir: http://www.osbos.si/e-kemija/e-gradivo/1-sklop/oznake_za_nevarnost.html (23. 6. 2010)

Stari znaki za nevarnost, so še v veljavi. Vendar so že predlagani novi znaki za nevarnost. Piktogrami nimajo več enoznačnega pomena/imena, ampak se pojavljajo v kombinaciji z različnimi opisi, definicijami ali pojasnili.

Tabela 2: Novi znaki za nevarnost

Znaki za fizikalno nevarnost



Eksplozivne snovi



Vnetljive snovi



Oksidativne snovi



Plini pod tlakom



Jedko za kovine

Znaki za nevarnost za zdravje



Takojšnja strupenost



Jedko za kožo
Hude poškodbe oči



Preobčutljivost dihal
Mutageno
Rakotvorno
Strupeno za razmnoževanje
Specifična strupenost
Nevarno pri vdihavanju



Ta znak se uporablja kot opozorilo za različne vrste nevarnosti v blažji obliki, ki jih opisujejo drugi znaki za nevarnost za zdravje.

Znaki za nevarnost v okolju



Nevarno za vodno okolje

Vir: <http://vedez.dzs.si/datoteke/1%20Varno%20delo%20v%20kemijskem%20laboratoriju.ppt> (23. 6. 2010)

Po novem pravilniku mora embalaža vsebovati naslednje podatke:

Kaj mora vsebovati etiketa na embalaži kisline po novih pravilih?

Razvrstitev	Kategorija 1
Znak za nevarnost	
Opozorilna beseda	Pozor
Stavek o nevarnosti	H290: Lahko je jedko za kovine.
Previdnostni stavek – preprečevanje	P234: Hraniti samo v originalni embalaži.
Previdnostni stavek – odziv	P390: Odpraviti razlitje, da se prepreči materialna škoda.
Previdnostni stavek – shranjevanje	P406: Hraniti v posodi, odporni proti koroziji/... z odporno notranjo oblogo.
Previdnostni stavek – odstranjevanje	–

Slika 3: Oznake na embalaži

Vir: <http://vedez.dzs.si/datoteke/1%20Varno%20delo%20v%20kemijskem%20laboratoriju.ppt> (23. 6. 2010)

R in S stavki

Dodatno nas na embalaži opozarjajo R stavki (R-risk) in obveščajo S stavki (S-safety) o nevarnostih in ustreznem ukrepanju. V laboratoriju imamo izobešene plakate, ki nam razlagajo pomen teh stavkov. V tabelah je navedenih le nekaj primerov:

Tabela 3: Standardna opozorila ('R' stavki) za označevanje nevarnih snovi in pripravkov

Oznaka	Pomen
R 1	Eksplozivno v suhem stanju
R 2	Nevarnost eksplozije ob udarcu, trenju, požaru ali drugih virih vžiga
R 17	Samovnetljivo na zraku
R 18	Pri uporabi lahko tvori vnetljivo/ eksplozivno zmes hlapi-zrak
R 26	Zelo strupeno pri vdihavanju
R 27	Zelo strupeno v stiku s kožo
R 28	Zelo strupeno pri zaužitju
R 29	V stiku z vodo se sprošča strupen plin
R 35	Povzroča hude opekline
R 36	Draži oči
R 37	Draži dihala
R 38	Draži kožo
R 39	Nevarnost zelo hudih trajnih okvar zdravja
R 40	Možen rakotvoren učinek
R 45	Lahko povzroči raka
R 46	Lahko povzroči dedne genetske okvare
R 68	Možna nevarnost trajnih okvar zdravja

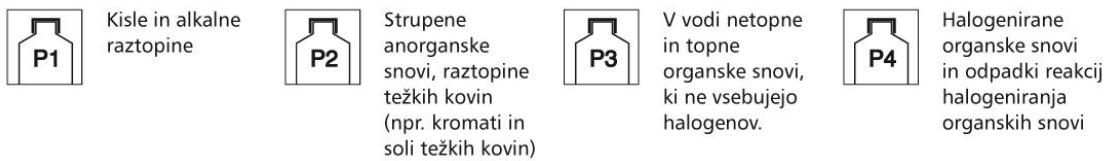
Vir: http://andrej.mernik.eu/kemija/r_in_s_stavki/ (23. 6. 2010)

Tabela 4: Standardna obvestila ('S' stavki) za označevanje nevarnih snovi in pripravkov

Oznaka	Pomen
S 1	Hraniti zaklenjeno
S 2	Hraniti izven dosega otrok
S 13	Hraniti ločeno od hrane, pijače in krmil
S 14	Hraniti ločeno od ... (nezdružljive snovi določi proizvajalec)
S 15	Varovati pred toploto
S 16	Hraniti ločeno od virov vžiga - ne kaditi
S 25	Preprečiti stik z očmi
S 26	Če pride v stik z očmi, takoj izpirati z obilo vode in poiskati zdravniško pomoč
S 36	Nositi primerno zaščitno obleko
S 37	Nositi primerne zaščitne rokavice
S 40	Tla in predmete, onesnažene s to snovjo/pnpravkom, očistiti s/z ... (čistilo določi proizvajalec).
S 49	Hraniti v izvorni posodi
S 51	Uporabiti le v dobro prezračenih prostorih
S 63	V primeru nezgode pri vdihavanju: prizadeto osebo umakniti na svež zrak in pustiti počivati
S 64	Pri zaužitju spirati usta z vodo (samo, če je oseba pri zavesti)

Vir: http://andrej.mernik.eu/kemija/r_in_s_stavki/ (23. 6. 2010)

Po vsaki opravljeni vaji ločujemo odpadne kemikalije v za to pripravljene posode.



Slika 4: Oznake za pravilno ločevanje odpadnih kemikalij

Vir: <http://vedez.dzs.si/datoteke/1%20Varno%20delo%20v%20kemijskem%20laboratoriju.ppt>
(23. 6. 2010)



Preden začnemo z delom v laboratoriju moramo spoznati navodila za varno delo. Upoštevamo pravila glede nošenja osebne varovalne opreme in dosledno upoštevamo navodila. Pred uporabo kemikalije, preglejmo oznake za nevarnost. Z ostanki kemikalij ravnamo po predpisih.

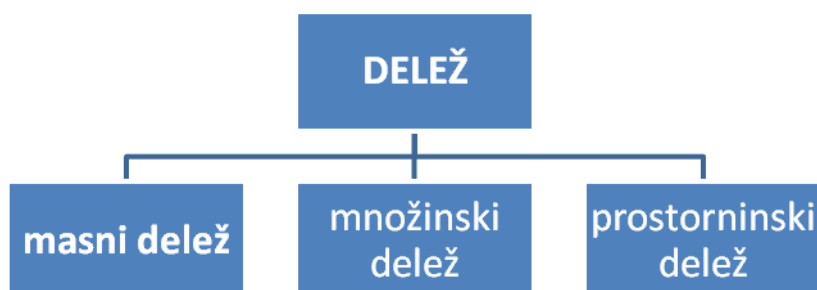
1.3 Priprava raztopin

Raztopine so homogene zmesi topljenca in topila. Raztopljena snov se imenuje **topljenec** in je lahko trdna, tekoča snov ali plin. **Topilo** je skoraj vedno tekočina (v nekaterih primerih je lahko tudi trdna snov).

Koncentracija raztopine nam pove, koliko topljenca je raztopljenega v enoti volumna raztopine. Pravimo, da je raztopina koncentrirana, kadar je prisoten velik delež topljenca v majhni količini topila. Kadar je v veliki količini topila raztopljeno malo topljenca, pravimo, da je raztopina razredčena.

Najpogosteje podamo sestavo raztopine z **deleži** in **koncentracijo**.

Delež



Deleži so veličine, ki nakazujejo, kolikšen del vzorca pripada posamezni komponenti. Te veličine nimajo enot ali pa jih podamo v procentih (%). Seštevek deležev posameznih komponent v vzorcu je vedno enak ena.

Masni delež

$$\text{masni delež } (w) = \frac{m(\text{topljenca})}{m(\text{raztopine})} [\%]$$

v tekočini: je definiran kot masa topljenca v 100 g raztopine;

- v trdni zmesi: je definiran kot masa posamezne komponente v 100 g zmesi.

$$m = m_1 + m_2 \text{ in } w = w_1 + w_2 = 1 \text{ ali } 100\%$$

w – masni delež [%]

m_1 – masa topila [g]

m_2 – masa topljenca [g]

m – masa raztopine [g]

Koncentracija



Masna koncentracija

$$\text{masna koncentracija } (\gamma) = \frac{m(\text{topljenca})}{V(\text{raztopine})} \left[\frac{\text{g}}{\text{L}}, \text{g/L}, \text{g L}^{-1} \right]$$

je definirana kot masa topljenca na enoto prostornine raztopine.

γ - masna koncentracija $\left[\frac{\text{g}}{\text{L}}, \text{g/dm}^3, \text{g L}^{-1}, \right]$

m – masa topljenca [g]

V – prostornina raztopine [L, dm^3]

Množinska koncentracija

$$\text{množinska koncentracija } (c) = \frac{n(\text{topljenca})}{V(\text{raztopine})} \left[\frac{\text{mol}}{\text{L}}, \text{mol/L}, \text{mol L}^{-1} \right]$$

je definirana kot množina topljenca na volumsko enoto raztopine, v kateri se topljenec nahaja.

c – množinska koncentracija [mol/L, mol L^{-1} , mol/dm^3 , mol dm^{-3}]

n – množina topljenca [mol]

V – prostornina raztopine [L, dm^3]

$$\text{množina topljenca } (n) = \frac{m(\text{topljenca})}{M(\text{topljenca})} \text{ [mol]}$$

m – masa topljenca

M – molska masa topljenca

Računske primere za pripravo raztopin poišči v učbeniku:

Sodja - Božič, J. Kemijsko računanje: učbenik. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1990.



Raztopine pripravljamo v ustreznih deležih in koncentracijah. Masni delež je definiran kot masa topljenca v 100 g raztopine oz. kot masa posamezne komponente v 100 g zmesi. Masna koncentracija je definirana kot masa topljenca na enoto prostornine raztopine. Množinska koncentracija je definirana kot množina topljenca na volumsko enoto raztopine, v kateri se topljenec nahaja.



- Kako je definirana pravilnost in kako natančnost analitskega postopka?
- Katere napake vplivajo na pravilnost analitskega postopka?
- Kako vrednotimo rezultate ene meritve?
- Kolikšni sta absolutna in relativna napaka, če je povprečna vrednost meritev 6,35 g/L, dejanska vrednost pa 6,20 g/L?
- Opiši navodila za varno delo v laboratoriju?
- Kaj prištevamo med osebno varovalno opremo in kdaj jo moramo uporabljati?
- Navedi izvore nevarnosti, ki nas v laboratoriju najbolj ogrožajo?
- Opiši oznake, ki opozarjajo na zdravju škodljivo snov, jedko snov in strupeno snov?
- Kaj nam povedo R in S stavki?
- Kako ravnamo z ostanki različnih vrst kemikalij?
- Navedi definicije za masni delež, masno koncentracijo in množinsko koncentracijo?
- Kolikšno maso raztopine kalijevega hidroksida z masnim deležem 10,0 % lahko pripravim iz 110 g kalijevega hidroksida?
- Kolikšno maso raztopine natrijevega hidroksida z masnim deležem 5,0 % lahko pripravim iz 70 g natrijevega hidroksida?
- Kolikšen volumen klorovodikove kisline z masnim deležem HCl 34 % in gostoto 1,19 g/mL naj odmerim za 250 mL raztopine z masno koncentracijo 25,20 g/L?

2 KLASIČNE KEMIJSKE ANALIZNE METODE



Ali lahko iz vina izločim žveplo?

Kako bi določil količino dodane soli v kruhu?

Kako ugotovim, katera voda vsebuje več mineralov?

V laboratoriju pogosto izvajamo klasične kemijske metode za ugotavljanje količine posamezne komponente v vzorcu. Delimo jih na gravimetrične in volumetrične analizne metode. Metode so prepoznavne po uporabi laboratorijske steklovine in klasičnih analiznih tehnik, kot so tehtanje, pipetiranje, titracija ... Kljub razvoju instrumentalnih analiznih metod ohranjajo svoj pomen pri makro analitiki in umerjanju instrumentalnih metod. Pogosto se klasične kemijske metode kombinirajo z bolj občutljivimi instrumentalnimi metodami. V analizi živil ohranjajo svoj pomen pri številnih analiznih metodah, kot so gravimetrično določanje količine vode, mineralnih snovi, maščob ... in volumetričnem določanju kislinske stopnje, vsebnosti skupnih kislin, določanju trdote vode ...

2.1 Gravimetrična analiza

Osnovna analizna tehnika pri gravimetriji je tehtanje. Osnova metode je, da analit izločimo iz vzorca in ga stehtamo. V analizi živil pogosto uporabljamo gravimetrične metode npr.: določanje vode – indirektno s sušenjem, mineralnih snovi – s sežigom, maščob – z ekstrakcijo z organskim topilom ...

V analizi kemiji je med gravimetričnimi metodami gotovo najpomembnejša gravimetrična obarjalna metoda. Pri tej metodi analit selektivno izločimo v obliki netopne oborine in ga po sušenju oz. žarenju tehtamo.

Za izvedbo kvantitativne obarjalne gravimetrične metode morajo biti izpolnjeni naslednji pogoji:

- kvantitativna in selektivna reakcija obarjanja,
- netopnost oborine v reakcijski zmesi in raztopini za izpiranje,
- oborina je konstantne, točno definirane sestave in
- onečiščenje oborine z drugimi ioni mora biti čim manjše oz. poznano.

Točnost metode je v veliki meri odvisna od pravilnega postopka obarjanja in ravnanja z oborino.

Potek gravimetrične analize

Gravimetrična analiza poteka v naslednjih korakih:

- priprava raztopine
- obarjanje
- rast kristalov
- filtracija
- izpiranje oborine
- sušenje ali (in) žarenje
- tehtanje
- izračun

Priprava raztopine

Pri pripravi raztopine upoštevamo pogoje, ki morajo biti izpolnjeni za kvantitativno analizo. Raztopina mora biti ustrezno razredčena, da se zmanjša napaka metode - pojav soobarjanja.

Obarjanje

Potek obarjanja mora biti takšen, da se tvorijo čim večji kristali, ki se hitro filtrirajo in dobro izpirajo. Reagent za obarjanje zato dodajamo počasi in reakcijsko zmes mešamo tako, da se reagent enakomerno porazdeli po raztopini. Na velikost delcev oborine vplivata še temperatura raztopine in hitrost mešanja.

Rast kristalov

Po začetni fazi obarjanja sledi faza rasti kristalov. Iz majhnih kristalov zrastejo veliki kristali. Pri nepravilnem obarjanju pa imamo v raztopini veliko manjših kristalov, ki jih zelo težko ločimo z običajnimi filtrnimi sredstvi iz oborine.

Filtracija

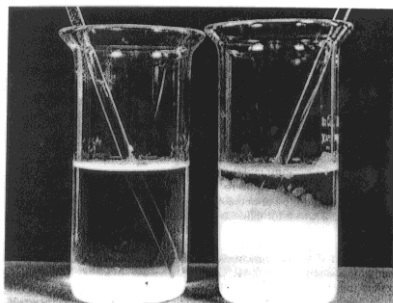
Poteka hitro in enostavno, če je oborina izločena v obliki velikih kristalov.

Soobarjanje in izpiranje oborine

Proces nastajanja oborine spremljajo pojavi soobarjanja, ki povzročajo onečiščenje oborine z drugimi ioni iz raztopine. Vzrok za soobarjanje je lahko **adsorpcija** topnih primesi na oborino ali **okluzija** – vključevanje drugih ionov v oborino. Adsorpcijo preprečimo z izpiranjem oborine, običajno z destilirano vodo. Okluzijo pa preprečimo z obarjanjem iz razredčenih raztopin.

Sušenje in žarenje oborine

Če se pri reakciji izloči oborina znane in stehiometrične sestave, jo po filtraciji samo osušimo in stehamo. Če pa sestava ni znana ali obstojna (veže vlogo ali ogljikov dioksid iz ozračja), jo po sušenju še prežarimo.



Slika 5: Obarjanje – poteka pod posebnimi pogoji
Vir: www.fkkt.uni-lj.si/.../farmaceuti-gravimetrija.ppt (29. 6. 2010)

Tabela 5: Anorganski obarjalni reagenti

Reagent	Analit
HCl	Ag (AgCl), Hg (Hg ₂ Cl ₂)
(NH ₄) ₂ S	Hg (HgS),
H ₂ C ₂ O ₄	Ca (CaO), Sr (SrO),
BaCl ₂	SO ₄ ²⁻ (BaSO ₄)
HNO ₃	Sn (SnO ₂)

Vir: www.fkkt.uni-lj.si/.../farmaceuti-gravimetrija.ppt (29. 6. 2010)

Gravimetrični izračun

Pri gravimetričnem izračunu moramo upoštevati, da analit ni identičen tehtani oborini. Izračunati moramo maso iskanega analita iz mase oborine. Pri tem si pomagamo z **gravimetričnim faktorjem**, ki predstavlja razmerje med molsko maso analita in molsko maso oborine, pri katerem izenačimo število molov analita in oborine:

$$F = \frac{M \text{ analita (g/mol)} \cdot a}{M \text{ oborine (g/mol)} \cdot b}$$

Pogosto nas pri gravimetrični analizi zanima odstotek analita v zatehtanem vzorcu:

$$\% \text{ analita} = \frac{m \text{ analita}}{m \text{ vzorca}} \cdot 100\%$$

Maso analita dobimo iz mase zatehtane oborine in gravimetričnega faktorja:

$$m \text{ analita} = m \text{ oborine} \cdot f \quad \text{iz tega sledi, da je}$$

$$\% \text{ analita} = \frac{m \text{ oborine} \cdot f}{m \text{ vzorca}} \cdot 100\%$$

Glej računске primere v literaturi:

Sodja - Božič, J. *Kemijsko računanje: učbenik*. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1990.

Sodja - Božič, J. *Kemijsko računanje: zbirka nalog*. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1991.



Klasične kemijske metode delimo na gravimetrične in volumetrične. Osnovna tehnika gravimetričnih metod je tehtanje. Analit, ki ga določamo, izločimo iz vzorca in ga stehtamo. Pri gravimetrični obarjalni metodi analit obarimo s pomočjo obarjalnega reagenta in stehtamo izločeno, posušeno in prežarjeno oborino. Metoda poteka v več korakih.

2.2 Volumetrična analiza

Osnovna analizna tehnika pri volumetriji je merjenje volumna. Osnovni postopek pri volumetrični analizi pa imenujemo **titracija**. S pomočjo titracije pogostokrat na enostaven način ugotavljamo kakovost živil: vsebnost kislin, kislinsko stopnjo, kvar maščob, vsebnost vitamina C, trdoto vode ...

Volumetrija je najbolj pogosto uporabljena analitična metoda z enostavno in hitro izvedbo. Danes se v laboratorijih z velikim številom analiz uporablja avtomatska titracija. Titracija je avtomatizirana pri določanju konca titracije (ekvivalentne točke), ki se lahko določa na različne načine (tudi s pH-metrom). Primerna je tudi za določanje nižjih količin vsebnosti analitov v vzorcu.



Slika 6: Titracija se zaradi enostavnosti postopka pogosto uporablja v analizi živil (Vir: lasten)

Potek titracije

Med titracijo poteka kemijska reakcija med našim vzorcem (analitom) in raztopino, katere koncentracija ja znana – imenujemo jo **standardna raztopina** in jo običajno nalijemo v bireto. Poznati moramo stehiometrično razmerje (kemijsko reakcijo) med analitom in titrantom in po končani titraciji lahko izračunamo koncentracijo našega analita s podatkov o porabi (volumnu) standardne raztopine, koncentracije standardne raztopine in volumna raztopine vzorca.

Za izvedbo titracije morajo biti izpolnjeni naslednji pogoji:

Reakcija med analitom in standardno raztopino mora biti **definirana in poznana**.

Reakcija mora biti **hitra**.

Ne smejo potekati stranske reakcije.

Reakcija mora potekati **kvantitativno**.

Konec reakcije mora biti **jasno zaznaven** (s pomočjo indikatorja, spremembo barve standardne raztopine, merjenjem pH-vrednosti ...)

Ekvivalentna točka je takrat, ko je konec kemijske reakcije med analitom in standardno raztopino. **Končna točka** titracije pa je takrat, ko zaznamo konec titracije. Končna točka titracije se mora ujemati z ekvivalentno točko titracije.

Vrste titracij

Glede na vrsto kemijske reakcije, ki poteka med analitom in standardno raztopino, poznamo štiri vrste titracij:

- nevtralizacijska titracija – potekajo kemijske reakcije med kisljinami in bazami;
- obarjalna titracija – potekajo kemijske reakcije pri katerih tvori standardna raztopina oborino z analitom;
- kompleksometrična titracija - standardna raztopina je kompleksna spojina, ki tvori z analitom (kovinskimi ioni) v vodi topne komplekse in
- oksidacijsko redukcijska titracija (redoks titracija) – potekajo kemijske reakcije med oksidanti, ki v reakciji sprejemajo elektrone in reducenti, ki jih oddajajo.

Nevtralizacijska titracija

V analizi živil pogostokrat uporabljamo nevtralizacijsko titracijo: pri določanju vsebnosti skupnih kisljin, kislinske stopnje, hidrolitičnega kvara maščob ...

Med titracijo potekajo kemijske reakcije med kisljinami in bazami.

Naš analit je lahko močna kislina, močna baza, šibka kislina ali šibka baza. Za standardno raztopino pa vedno uporabimo le **močno kislino**, če titriramo baze in **močno bazo**, če titriramo kislino.

Indikatorji

Indikatorji, s katerimi ugotavljamo končno točko nevtralizacijske titracije, so šibke organske kisline ali baze, ki spremenijo barvo v določenem delu pH-skale. Indikatorji disociirajo podobno kot druge kisline in baze v ustrezne anione in katione.

Nedisociiran indikator je drugačne barve kot disociirana oblika. Katera oblika prevladuje, je odvisno od pH raztopine.

Titracijske krivulje

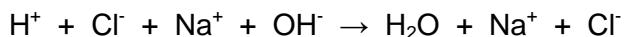
Če med nevtralizacijsko titracijo merimo pH vrednost in narišemo spreminjanje pH vrednosti v odvisnosti od dodane standardne raztopine, dobimo **titracijsko krivuljo**. S pomočjo titracijskih krivulj si lažje predstavljamo pomen izbire ustreznega indikatorja in detekcijo končne točke titracije.

Titracija močne kisline z močno bazo:

Obe, močna kislina in močna baza – standardna raztopina in analit, popolnoma disociirata v raztopini.

Primer:

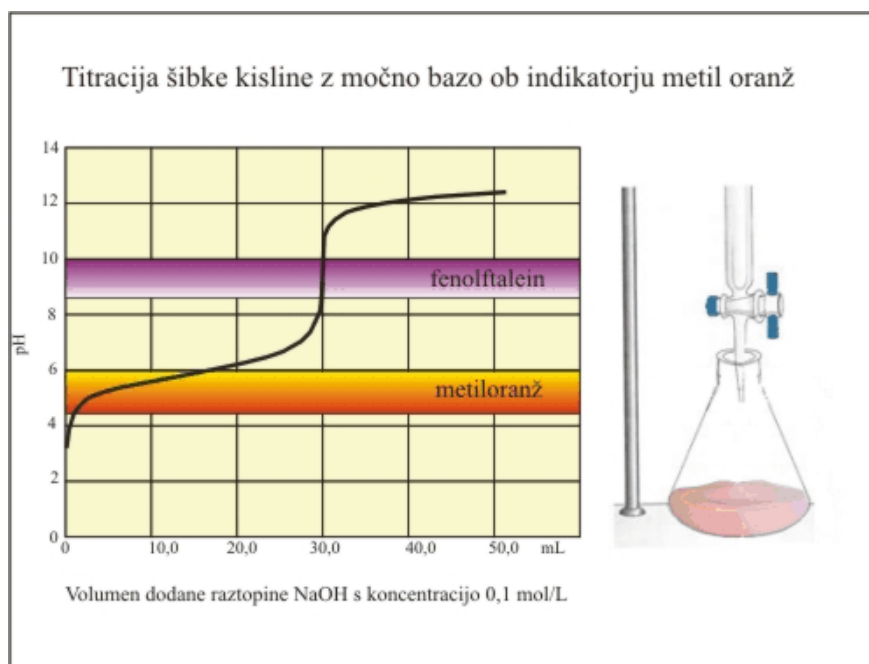
Titracija klorovodikove kisline z natrijevim hidroksidom



H^+ in OH^- tvorita H_2O , ostala dva iona ostaneta nespremenjena ($\text{Na}^+ + \text{Cl}^-$) – rezultat kemijske reakcije je nevtralizacija. Končna točka titracije je v nevtralnem območju pH-skale.

Titracije šibke kisline z močno bazo

Šibka kislina ne disociira popolnoma v raztopini. Višina strmega dela krivulje se spreminja v odvisnosti od jakosti kisline. Čim manjša je disociacijska konstanta, tem manjša je sprememba pH raztopine v bližini ekvivalentna točke.



Slika 7: Titracija šibke kisline

Vir: <http://www.kii2.ntf.uni-lj.si/e-kemija/file.php/1/output/Titracija/index.html> (30 . 6. 2010)

Titracije šibke baze z močno kislino

Čim šibkejša je baza, tem krajši je strmi del krivulje.

Obarjalna titracija

V analizi živil se najpogosteje izvaja obarjalna titracija za določitev vsebnosti kuhinjske soli v različnih živilskih proizvodih (pekovski izdelki, mesni izdelki, margarina ...).

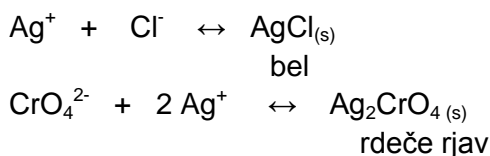
Obarjalna titracija je volumetrična metoda, pri kateri je osnova kemijska reakcija med standardno raztopino in analitom, pri kateri nastanejo težko topne oborine. Pogoj za izvedbo titracije je, da se ioni, ki jih določamo, obarjajo s standardno raztopino hitro, kvantitativno in da je oborina skoraj netopna.

Standardne raztopine, ki se najpogosteje uporabljajo:

srebrov nitrat (AgNO_3), za določanje kloridnih, bromidnih in jodidnih ionov in kalijev tiocianat (KSCN) ali amonijev tiocianat (NH_4SCN), za določanje srebrovih spojin.

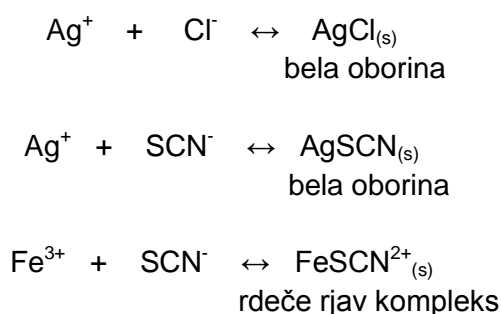
Določitev klorida po Mohru

Klorid določamo s pomočjo titracije s standardno raztopino srebrovega nitrata (AgNO_3). Končno točko titracije ugotavljamo s pomočjo indikatorja kalijevega kromata (K_2CrO_4). Do ekvivalentne točke se obarja s kloridnimi ioni srebrov nitrat - nastala oborina (AgCl) je bele barve, nato se tvori oborina med standardno raztopino in indikatorjem – srebrov kromat, ki obarva raztopino rdeče rjavo.



Določitev klorida po Volhardovi metodi

Določitev klorida po Volhardovi metodi spada med indirektno titracije: raztopini vzorca (klorida) dodamo srebrov nitrat v presežku. Izloči se ekvivalentna množina srebrovega klorida. Presežno množino srebrovega nitrata nato titriramo s standardno raztopino amonijevega tiocianata v navzočnosti železovih (III) ionov. Tiocianat se najprej porabi za reakcijo s srebrevimi ioni, ki so v presežku. Ko je titracija končana, tiocianat reagira z železovimi (III) ioni – nastane rdeče obarvan tiocianato-železov (III) ion.



Kompleksometrična titracija

Se uporablja tudi v analizi živil za določitev trdote vode, vsebnosti Ca^{2+} in Mg^{2+} ionov v mineralnih vodah, mleku ...

Osnova kompleksometrične titracije so kemijske reakcije med ioni kovin in ioni tistih organskih spojin, ki v atomu kovine zasedejo več koordinativnih valenc, pri čemer nastanejo obstojne kompleksne spojine – kelati. Pri reakcijah med kovinskimi ioni, ki lahko sprejmejo elektronske pare (akceptorji elektronskih parov) in spojinami, ki lahko oddajajo elektronske pare (donorji elektronskih parov), nastanejo koordinacijske spojine ali kompleksi.

Standardne raztopine

Najpomembnejša standardna raztopina kompleksometrične titracije je etilendiamintetraocetna kislina – EDTA. Zaradi boljše topnosti se uporablja njena dinatrijeva sol. Pri reakcijah med kovinskimi ioni in EDTA je stehiometrično razmerje vedno 1 : 1, ne glede na valenco kationa.

Indikatorji

Indikatorji kompleksometrične titracije so organske spojine, ki reagirajo s kovinskimi ioni in tvorijo obarvane kelate. Z dodatkom standardne raztopine se sprošča indikator in po ekvivalentni točki, ko so vsi ioni kovine vezani na EDTA, dobimo barvo prostega indikatorja, ki je drugače obarvan kot indikator vezan na kovinske ione.

Najpogosteje uporabljamo naslednja indikatorja:

- eriokrom črno T (določamo Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+}),
- mureksid (amonijev purpurat).

Indikatorje uporabljamo kot vodne ali alkoholne raztopine. Zaradi slabe obstojnosti pa jih hranimo v trdni obliki v zmesi z natrijevim kloridom.

Oksidacijsko-redukcijska titracija

Pogosto nas zanima vsebnost vitamina C v določeni vrsti živila. Določamo ga lahko tudi z volumetrično metodo - redoks titracijo.

Osnova metode so kemijske reakcije oksidacije in redukcije. Med standardno raztopino in analitom poteka kemijska reakcija oksidacije in redukcije – **oksidacijsko-redukcijska reakcija**. Običajno jo zapišemo v dveh delnih reakcijah :
oksidacija (oddajanje elektronov),
redukcija (prejemanje elektronov).

Standardne raztopine oksidantov

Najpomembnejše standardne raztopine oksidantov so:

kalijev permanganat ($KMnO_4$),
kalijev dikromat ($K_2Cr_2O_7$),
kalijev bromat ($KBrO_3$),
jodova (VII) kislina (H_5IO_6) in
raztopina joda.

KALIJEV PERMANGANAT ($KMnO_4$)

Je močan oksidant. Uporablja se za titracijo številnih ionov v kislem, nevtralnem in bazičnem mediju.

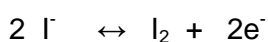
Od vrste medija je odvisna oksidacijska stopnja mangana. Analiti, ki jih lahko določamo, so:

- v močno kislih raztopinah določamo ione železa(II), oksalno kislino, oksalate, vodikov peroksid;
- v šibko kislem, nevtralnem ali šibko bazičnem mediju določamo cianidne in sulfidne ione;
- v alkalnem mediju pa titriramo nekatere organske spojine, kot so: metanol, formaldehid, glikol.

Pri titraciji s kalijevim permanganatom ne potrebujemo indikatorja, ker se raztopina po končani reakciji obarva s prebitkom standardne raztopine rožnato.

JOD

Je srednje močan oksidant, ki reagira z zmernimi reducenti. Jodidni ion pa je reducent, ki reagira tudi z močnimi oksidanti.



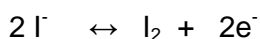
Titracije z jodom so direktne ali indirektne:

Z direktno titracijo določamo spojine z nižjim oksidacijskim potencialom (kositer(II), sulfiti, tiosulfati ...), z indirektno titracijo določamo bromate (BrO_3^-), nitrato (NO_3^-), raztopino bakra.

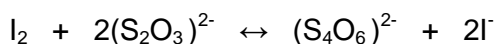
Kot indikator uporabimo raztopino škroba. Jod se absorbira na površino koloidnih delcev škroba – pojavi se modra barva, ki izgine, ko se ves jod reducira do jodidnega iona.

Standardne raztopine reducentov

Najpomembnejša standardna raztopina reducentov je natrijev tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Osnovna reakcija je oksidacija jodida do elementarnega joda:



in redukcija nastalega joda z natrijevim tiosulfatom:



Volumetrični izračun

S pomočjo titracije želimo določiti koncentracijo našega analita v raztopini ali v zmesi vzorca. V prvem poglavju smo spoznali, kako so definirane posamezne koncentracije snovi. Ponovimo:

Masni delež (w)

Masni delež analita v raztopini:

$$w(a) = \frac{m(a)}{m_{\text{razt.}}} \cdot 100\% \quad [\%] \quad \text{ali izrazimo drugače}$$

$$w(a) = \frac{n(a) \cdot M(a)}{m_{\text{razt.}}} \cdot 100\% \quad [\%]$$

Masni delež analita v zmesi:

$$w(a) = \frac{m(a)}{m_{\text{zmesi}}} \cdot 100\% \quad [\%] \quad \text{ali izrazimo drugače}$$

$$w(a) = \frac{n(a) \cdot M(a)}{m_{\text{zmesi.}}} \cdot 100\% \quad [\%]$$

Masna koncentracija (γ)

$$\gamma(a) = \frac{m(a)}{V_r} \quad \left[\frac{g}{L} \right] \quad \text{ali izrazimo drugače}$$

$$\gamma(a) = \frac{n(a) \cdot M(a)}{V_r} \quad \left[\frac{g}{L} = \frac{mol \cdot \frac{g}{mol}}{L} \right]$$

Množinska koncentracija (c)

$$c(A) = \frac{n(A)}{V_r} \quad \left[\frac{mol}{L} \right]$$

n_A – množina analita $[mol]$

m – masa snovi $[g]$

m_r – masa raztopine $[g]$

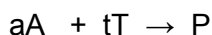
V_r – volumen raztopine $[L]$

M – molska masa $\left[\frac{g}{mol} \right]$

Splošni izračun volumetrične analize

Za izračun koncentracije potrebujemo množino snovi analita (n_A). Pri volumetričnem izračunu ga dobimo s pomočjo izračuna množine snovi standardne raztopine (n_T). Obe množini snovi sta enaki, če je stehiometrično razmerje med analitom, ki ga določamo in standardno raztopino 1 : 1. Pogosto pa to razmerje ni 1 : 1. Takrat določimo množino snovi analita na sledeči način:

Splošno lahko zapišemo kemijsko reakcijo, ki poteka med titracijo :



kjer je A analit, T titrant in P produkt kemijske reakcije. Razmerje med analitom in titrantom upoštevamo:

$$n_A = n_T \cdot \frac{a}{t} \left(\frac{\text{mol}A}{\text{mol}T} \right)$$

$$n_A = c_T \cdot V_T \cdot \frac{a}{t} \left(\frac{\text{mol}A}{\text{mol}T} \right)$$

$$m_A = n_A \cdot M_A \quad \text{ali izrazimo drugače}$$

$$m_A = c_T \cdot V_T \cdot \frac{a}{t} \left(\frac{\text{mol}A}{\text{mol}T} \right) \cdot M_A$$

Po končani titraciji izračunamo iz podatkov o koncentraciji (c_T) in volumna standardne raztopine (V_T) ter volumna raztopine vzorca (V_r) ali mase vzorca (m_z) katerokoli koncentracijo (masni delež, množinsko ali masno koncentracijo). Pomembno je, da pri volumetričnem izračunu upoštevamo pravilno stehiometrično razmerje med analitom in standardno raztopino.

Računske primere kemijskega računanja (volumetrična analiza) poišči v naslednji literaturi:

Sodja - Božič, J. Kemijsko računanje: učbenik. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1990.

Sodja - Božič, J. Kemijsko računanje: zbirka nalog. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1991.

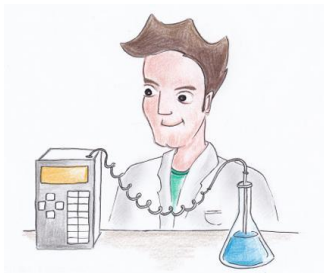


Osnovna tehnika volumetrične analize je titracija. Pri titraciji merimo volumen raztopine s točno določeno koncentracijo, da lahko določimo koncentracijo našega analita v raztopini s točno odmerjenim volumnom. Med titracijo poteka kemijska reakcija med analitom in standardno raztopino. Konec titracije ugotovimo s pomočjo indikatorjev, spremembe barve zaradi dodane standardne raztopine v presežku, potenciometrično ... Glede na potek kemijske reakcije poznamo: nevtralizacijsko, obarjalno, kompleksometrično in oksidacijsko-redukcijsko titracijo.



- Kaj je osnova gravimetričnih metod?
- Kateri pogoji morajo biti izpolnjeni za izvedbo gravimetrične obarjalne metode?
- Naštej faze dela gravimetrične obarjalne metode.
- Kaj je titracija?
- Razloži vlogo standardne raztopine, primarnega standarda in indikatorja pri volumetrični analizi?
- Kaj je ekvivalentna točka in kaj končna točka titracije?
- Naštej vrste titracije?
- Navedi primere analita, standardne raztopine in indikatorjev pri nevtralizacijski, obarjalni in kompleksometrični titraciji.
- Kateri laboratorijski inventar uporabljamo za izvedbo klasičnih kemijskih metod?
- Razmisli, od česa so odvisne količine odpadnih reagentov pri klasičnih kemijskih metodah.
- Izračunaj maso železa, če smo določali železo s pomočjo gravimetrične obarjalne metode in stehali oborino Fe_2O_3 , ki je znašala 0,5452g. Koliko % Fe se nahaja v vzorcu, če smo ga za analizo odtehtali 3,4125 g?
- Kolikšna je masna koncentracija raztopine žveplove kisline (H_2SO_4), če 25 mL raztopine obarjamo z barijevim kloridom (BaCl_2) ter dobimo 0,8920 g BaSO_4 ?
- Izračunaj masno koncentracijo $\text{Ca}(\text{OH})_2$, če smo 25 mL vzorca titrirali s klorovodikovo kislino in pri titraciji porabili 23,0 mL HCl z množinsko koncentracijo 0,1000 mol/L?
- Kolikšna je množinska koncentracija Zn^{2+} ionov, če smo 50 mL vzorca titrirali s 5,0 mL standardne raztopine EDTA z množinsko koncentracijo 0,0200 mol/L?
- Kolikšen je masni delež NaCl v raztopini, če 3,00 g raztopine razredčimo na 50 mL in titriramo z 10,10 mL raztopine AgNO_3 s koncentracijo 0,100 mol/L?

3 INSTRUMENTALNE ANALIZNE METODE



Ali je kakšna povezava med merjenjem pH vrednosti in ugotavljanjem kislinske stopnje s titracijo?

Kako je možno s pomočjo svetlobe določiti vsebnost železa v moki?

Lahko zmes barvil zopet razstavimo na posamezne barve?

V analizi živil se vedno pogosteje uporabljajo namesto klasičnih analiznih metod instrumentalne analize. Z njimi je izključena subjektivna napaka analitika, pogosto se izvedejo hitreje in so bolj občutljive. Kljub vsemu klasične metode ohranjajo svoj pomen pri preverjanju instrumentalnih metod in v laboratorijih, kjer število analiz ne dopušča drage instrumentalne opreme. Pogosto so klasične analize kombinirane z instrumentalnimi.

Instrumentalne metode delimo na elektrokemijske in optične. Pri elektrokemijskih metodah merimo elektrodni potencial, elektroprevodnost raztopine ... Pri optičnih metodah pa izkoriščamo določene optične lastnosti merjenega sistema (lom svetlobe, absorpcijo, emisijo svetlobe določene valovne dolžine ...).



Slika 8: Instrumentalne metode so lahko zelo enostavne – kot je uporaba ročnega refraktometra

(Vir: lasten)

3.1 Potenciometrija

Potenciometrija spada med elektrokemijske metode. Gotovo sodi med najbolj pogosto uporabne instrumentalne metode v analizi živil. S potenciometrično metodo merimo pH živil, ki je pomemben pokazatelj kakovosti živil in sprememb kakovosti.

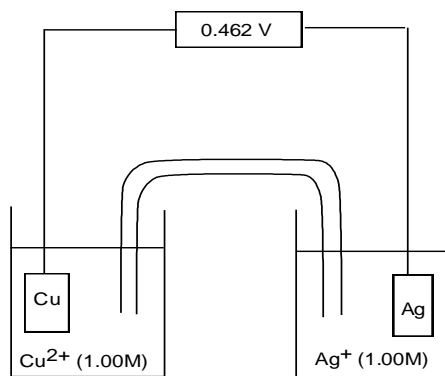
Pri potenciometrični analizi merimo potencial elektrokemijskega člana, ki ga sestavljata indikatorska in referenčna elektroda. Potencial merimo pri ničelnem toku: od zunaj pritismo na elektrodi obratno usmerjeno napetost, ki jo povečujemo, dokler tok ne neha teči.

Indikatorska elektroda je elektroda ki se ji potencial spreminja s spreminjanjem koncentracije analita. Referenčna elektroda pa je elektroda, ki ima stalen elektrodni potencial in služi kot primerjalna elektroda.

Napetost **galvanskega člana** je enaka razliki elektrodnih potencialov desne (**katoda – poteka redukcija**) in leve elektrode (**anoda - poteka oksidacija**):

$$E(\text{člen}) = E(\text{katoda}) - E(\text{anoda})$$

Katoda je negativno nabita elektroda, anoda pa je pozitivno nabita elektroda.



Slika 9: Shema elektrokemijskega člana

Vir: http://www.farma.drustvo.si/gradivo.php?b=gradivo_p%2FAnalizna+kemija%2FPREDAVANJA

(30. 6. 2010)



Ponovi:

Reakcije oksidacije in redukcije - redoks reakcije, potekajo med reducentom in oksidantom. Oksidacija pomeni oddajanje elektronov, redukcija pa sprejemanje elektronov.

Oksidanti so snovi, ki druge snovi oksidirajo, sami pa se pri tem reducirajo. Obratno velja za reducente: druge reducirajo, sami se pri tem oksidirajo.

Pri **elektrolizi** je proces prisiljen. Na katodo in anodo od zunaj delujemo z napetostjo tako, da se redukcija vrši na negativno nabiti elektrodi – katodi. Elektrolizne celice so uporabne v elektrokemičnih metodah - **elektrogravimetriji** – maso analita merimo s pomočjo tehtanja elektrode pred in po elektrolizi.

Merjenje pH vrednosti

S pH vrednostjo podajamo koncentracijo oksonijevih ionov v raztopini. V analizi živil pogosto merimo pH vrednost za spremljanje spremembe kakovosti živil.

Po definicije je pH negativen dekadični logaritem koncentracije oksonijevih ionov. Kadar imamo močne kisline ali baze, ki v vodni raztopini popolnoma disociirajo, lahko pH vrednost raztopine izračunamo po formuli:

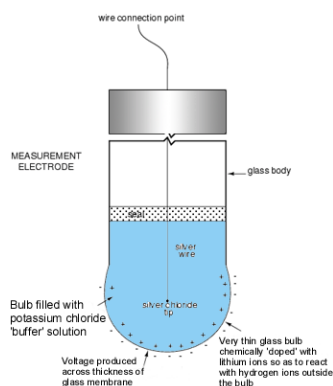
$$\text{pH} = -\log c[\text{H}_3\text{O}^+]$$

Za merjenje pH vrednosti uporabimo kot indikatorsko elektrodo – **stekleno elektrodo** in kot referenčno elektrodo – **nasičeno kalomelovo elektrodo**. Potencial nasičene kalomelove elektrode (NKE) je pri določeni temperaturi stalen in znaša (pri $T = 20\text{ }^\circ\text{C}$) 0.246 V. Potencial steklene elektrode se spreminja s koncentracijo oksonijevih ionov v raztopini.

Napetost člena merimo s pH-metrom. V pH-metru sta indikatorska in referenčna elektroda združeni v kombinirano elektrodo. Merilna skala je v pH enotah.

Steklena elektroda

Sestavljena je iz steklene cevke, ki je na koncu izpihana v bučko. Debelina steklene membrane je 0.06 do 0.1 mm. V bučki je raztopina klorovodikove kisline s stalno točno določeno koncentracijo oksonijevih ionov H_3O^+ in notranja referenčna elektroda $\text{Ag} | \text{AgCl}_{(s)} | \text{Cl}^-_{(aq)}$. Ko potopimo elektrodo v merjeno raztopino, nastane razlika potencialov zaradi različne koncentracije oksonijevih ionov na eni in drugi strani steklene membrane.



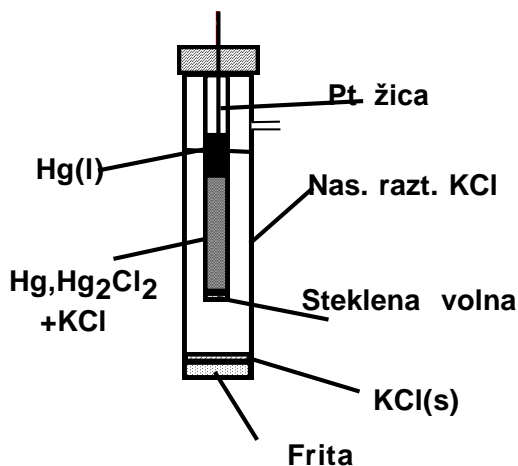
Slika 10: Steklena elektroda

Vir: <http://www.sensorland.com/HowPage037.html>

(7. 11. 2009)

Kalomelova elektroda

Je sestavljena iz živega srebra, prekritega z zmesjo živosrebrovega (I) klorida Hg_2Cl_2 (kalomela) in živega srebra ter raztopino kalijevega klorida $\text{KCl}_{(\text{aq})}$. S kemijskim zapisom jo predstavimo: $\text{Hg} | \text{Hg}_2\text{Cl}_2 | \text{Cl}^-_{(\text{aq})}$



Slika 11: Kalomelova elektroda

Vir: www.farma-drustvo.si/.../PREDAVANJA/Elektrokemija.ppt (30. 6. 2010)

Kombinirana elektroda

V kombinirani elektrodi sta združeni referenčna in indikatorska elektroda. Notranja referenčna elektroda je sestavljena iz $\text{Ag} | \text{AgCl}$ z raztopino HCl , zunanja referenčna elektroda je sestavljena iz $\text{Ag} | \text{AgCl}$ z raztopino KCl . Notranja referenčna elektroda je del steklene elektrode s stekleno membrano, ki zaznava različno koncentracijo oksonijevih ionov.



Elektrokemijske metode potekajo v galvanskem členu ali elektrolizni celici. Osnova so kemijske reakcije oksidacije in redukcije. Člen sestavljata indikatorska in referenčna elektroda. V analizi živil se najpogosteje uporabljajo potenciometrične metode, med nje spada tudi merjenje pH vrednosti živil.

3.2 Spektrometrija

Spektrometrija spada med optične metode. V analizi živil jo pogosto uporabljamo zaradi enostavne izvedbe, nepredrage opreme in dovolj natančnih meritev. S pomočjo spektrometrije lahko določimo npr. kontaminante v vodi, vsebnost holesterola v mleku, vsebnost glukoze v sadnem soku ali kazeina v skuti ...

Poenostavljeno, med spektrometrične metode prištevamo vse metode, kjer izkoriščamo svetlobo za določanje kemijskih koncentracij snovi.

Osnova oz. pogoj za izvedbo metode:

Raztopina absorbira svetlobo točno določene valovne dolžine (elektromagnetno valovanje iz izvora energije). Količina absorbirane svetlobe (energije) je sorazmerna koncentraciji analita v raztopini.

Ali lahko odgovoriš na vprašanje: Zakaj je raztopina kalijevega permanganata obarvana vijolično?

Raztopino "vidimo" obarvano zato, ker prepušča le del svetlobe. Ob prehodu polikromatske svetlobe (bela svetloba, ki je sestavljena iz celotnega spektra valovnih dolžin) skozi neko snov ta del svetlobe absorbira, neabsorbirano svetlobo pa prepušča. Prepuščena svetloba je za nas "vidna" in njena barva je komplementarna absorbirani (glej tabelo 6).

Npr. raztopina kalijevega permanganata absorbira zeleno svetlobo z maksimumom pri 525 nm in prepušča vijolično svetlobo. Zato vidimo raztopino vijolično obarvano.

Tabela 6: Barve različnih območij vidnega spektra

<i>Valovna dolžina (nm)</i>	<i>Absorbirana barva</i>	<i>Prepuščena barva</i>
380-450	vijolična	rumena-zelena
450-495	modra	rumena
495-570	zelena	vijolična
570-590	rumena	modra
590-620	oranžna	zelena-modra
620-750	rdeča	modra-zelena

Vir: Gary, 1994

Beer-Lambertov zakon

Skozi raztopino vodimo svetlobo točno določene valovne dolžine z intenziteto I_0 . Del svetlobe se v raztopini absorbira. Skozi raztopino tako prihaja svetloba z zmanjšano intenziteto (I).

Razen absorpcije svetlobe potekajo ob prehodu svetlobe, še drugi fizikalni pojavi. Izničimo jih tako, da umerimo intenziteto vhodnega žarka (I_0) s pomočjo slepega vzorca.

Za homogeni vzorec velja, da je del prepuščene svetlobe, ki jo imenujemo **transmitanca** (T), enaka razmerju med intenziteto **izhodnega** žarka (I) in **vhodnega** žarka (I₀).

$$T = I / I^0 = 10^{-kl}$$

V logaritemski obliki lahko zapišemo to enačbo kot

$$\log T = \log (I / I^0) = -kl$$

Leta 1852 sta Beer in Bernard ugotovila, da podobna odvisnost velja tudi ob upoštevanju **koncentracije** (c).

$$\log T = \log (I / I^0) = -acl$$

Za praktično uporabo so najprimernejše linearne zveze. Eksponentno zvezo $T = e^{-\epsilon cl}$ prevedemo v linearno tako, da jo logaritmiramo in uvedemo pojem **absorbanca** (A). Dobljeno zvezo imenujemo **Beer-Lambertov zakon**.

Beer-Lambertov zakon je osnova za spektrometrično določanje koncentracije neke snovi v vzorcu raztopine. Absorbanca je v linearni zvezi s koncentracijo snovi. S formulo zapišemo:

$A = \epsilon cb$

A – absorbanca

ϵ [$cm^{-1}mol^{-1}L$] - molarni absorpcijski koeficient, odvisen od snovi, ki jo merimo

b [cm] - dolžina poti svetlobe skozi raztopino - pri določanju koncentracije neke snovi je konstantna in znaša običajno 1 cm

Beerov zakon velja samo za monokromatsko svetlobo – svetlobo točno določene valovne dolžine.

Z merjenjem absorbance nekega analita v vzorčni raztopini nam še ne da podatka o koncentraciji te raztopine. Pripraviti si moramo standardne raztopine, narisati umeritveno krivuljo in iz nje odčitamo koncentracijo našega analita.

Potek dela za spektrometrično določanje koncentracije analita:

- priprava vzorčnih raztopin,
- priprava standardnih raztopin za umeritveno krivuljo (običajno pet),
- merjenje absorbance standardnih raztopin pri maksimalni absorbanci (proti slepemu vzorcu),
- izris umeritvene krivulje,
- merjenje absorbance vzorčnih raztopin (proti slepemu vzorcu),
- odčitavanje koncentracije analita v vzorcu iz umeritvene krivulje.

Spektrometer

Za merjenje absorbance uporabljamo spektrometer. Sestavljajo ga naslednji elementi:

- izvor svetlobe (žarnica) (1),
- monokromator (naprava, ki omogoča izbor ozkega območja svetlobe) (2),
- kiveta z vzorcem (3),
- detektor (naprava, ki pretvarja svetlobno energijo v električno) (4) in
- registrator (5) (naprava, ki omogoča vrednotenje signala).

Izvor svetlobe:

Za izvor vidne svetlobe se običajno uporablja volframova žarnica. Za UV območje se uporablja nizkotlačna vodikova ali devterijeva žarnica. Uporablja se za območje med 185 in 375 nm. Pri uporabi UV svetlobe je pomembna uporaba kvarčnih kivet, ker steklene ne prepuščajo UV svetlobe.

Monokromator:

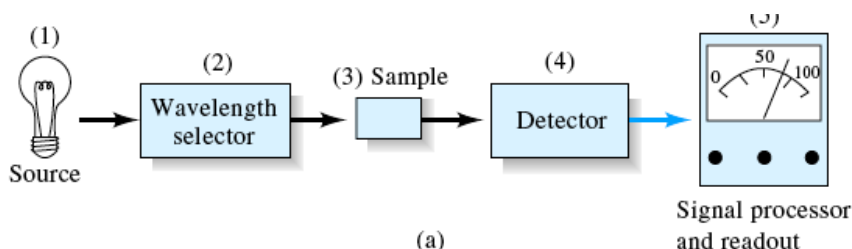
Monokromator je pripomoček, ki nam omogoči, da iz polikromatske svetlobe dobimo monokromatsko svetlobo. Obstajata dva tipa monokromatorjev: optična prizma in optična rešetka. Za izolacijo določenega dela valovnih dolžin svetlobe lahko uporabljamo tudi optične filtre.

Kiveta:

Ker se meritve izvajajo v raztopinah, potrebujemo za merjenje posebne, prepustne merilne celice, ki jih imenujemo kivete. Največkrat so steklene (lahko tudi iz kvarčnega stekla), širine 1 cm, tako da je pot svetlobe skozi kiveto dolga vedno 1 cm. V zadnjem času se pogosto uporabljajo plastične kivete za enkratno uporabo.

Detektorji:

Najpomembnejši del detektorjev v spektrometriji je fotocelica, ki vsebuje fotoemisivno katodo in anodo, med katerima je velika napetost. Prehod enega fotona v fotocelico povzroči sprostitvev enega elektrona s katode ter njegov prehod na anodo. Merimo tok elektronov.



Slika 12: Sestavni deli absorpcijskega spektrometra

Vir: <http://employees.oneonta.edu/schaumjc/chem362/components.ppt#2> (7. 6. 2010)



Od optičnih metod se v analizi živil najpogosteje uporabljajo spektrometrične metode. Osnova je izkoriščanje lastnosti raztopin (oz. posameznih sestavin v njej), da absorbirajo iz spektra svetlobe elektromagnetno valovanje točno določene valovne dolžine. Merimo absorbanco svetlobe proti slepemu vzorcu. Beer-Lambertov zakon je osnova za spektrometrično določanje koncentracije neke snovi v vzorcu. Absorbanca je v linearni zvezi s koncentracijo snovi. Izmerimo absorbanco pripravljenih standardnih raztopin in iz umeritvene krivulje odčitamo koncentracijo našega analita.

3.3 Kromatografija

Kromatografske tehnike uvrščamo med ločitvene oz. separacijske metode. Nekatere med njimi so zelo enostavne in hitre analizne metode, ki ne zahtevajo drage opreme (primer papirna in tankoplastna kromatografija). Izvedba teh je podobna kot na začetku razvoja metod. Razvite so tudi zelo zahtevne kromatografske tehnike (tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti - HPLC, plinska kromatografija - GC), ki zahtevajo drago opremo, ustrezno znanje za interpretacijo rezultatov in se izvajajo kot najzahtevnejše analitične metode. V analizi živil se uporabljajo tako najenostavnejše kot tudi zahtevne kromatografske tehnike za določanje aditivov, kontaminantov, aminokislin, maščobnih kislin, ugotavljanje potvorbe živil ...

Pri kromatografiji vedno nastopata dve fazi. Ena je **stacionarna** (mirujoča), druga pa **mobilna** (gibljiva) faza. Komponente vzorcev potujejo z mobilno fazo glede na to, kako dobro se v njej raztapljajo. Pri svojem potovanju pa se seveda porazdelijo med obe fazi. Zaradi različnih lastnosti posameznih komponent v vzorcu pride pri potovanju do ločitve.

Vrste kromatografskih tehnik

Kromatografske tehnike razlikujemo glede na agregatno stanje mobilne in stacionarne faze, geometrijo sistema, osnovno silo, ki povzroča gibanje mobilne faze ter glede na osnovni mehanizem retenzije topljencev.

Glede na stacionarne faze razlikujemo:

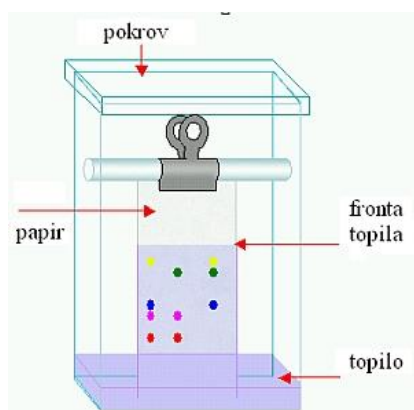
- papirno kromatografijo, pri kateri se zmes ločuje s potovanjem mobilne faze po poroznem papirju,
- tankoplastno kromatografijo, pri kateri je stacionarna faza nanešena na stekleno, kovinsko ali plastično ploščo,
- kolonsko kromatografijo, pri kateri je stacionarna faza v koloni primerne oblike in velikosti.

Glede na uporabljeno mobilno fazo razlikujemo:

- tekočinsko in
- plinsko kromatografijo.

Kromatografske tehnike uporabimo, kadar želimo:

- razstaviti zmes na posamezne komponente,
- ugotoviti, katere komponente vsebuje vzorec – kvalitativno določanje,
- ugotoviti, koliko posamezne komponente vsebuje vzorec - kvantitativno določanje in
- za čiščenje snovi iz raztopin.



Slika 13: Papirna kromatografija

Vir: <http://www.kii2.ntf.uni-lj.si/e-kemija/file.php/1/output/kromatografija/index.html> (10. 6. 2010)

Papirna in tankoplastna kromatografija

Papirna in tankoplastna kromatografija (TLC) sta planarni separacijski tehniki. Ločevanje komponent vzorca poteka med potovanjem mobilne faze po poroznem papirju pri papirni kromatografiji oz. tanki plasti sorbenta. Stacionarna faza pri papirni kromatografiji je porozen papir, pri tankoplastni kromatografiji pa tanka plast sorbenta, ki je nanešen na tanke ploščice (steklene ali kovinske).

Obe vrsti kromatografij potekata na podoben način v naslednjih fazah:

- izbira ustreznega kromatografskega papirja oz. TLC plošče z ustreznim nanosom,
- priprava vzorca,
- nanašanje vzorca,
- razvijanje kromatograma,
- detekcija in
- vrednotenje.

Potek dela pri tankoplastni kromatografiji

Izbira TLC plošče z ustreznim nanosom

Pred analizo izberemo TLC ploščo z ustreznim nanosom sorbenta. Danes se dobijo na tržišču industrijsko pripravljene plošče. Običajno so velikosti 10 x 20 ali 20 x 20 cm. Na njih je nanešena 0.20 mm ali 0.25 mm debela plast sorbenta (stacionarna faza) z velikostjo delcev cca. 12 μm . Sorbenti na ploščah so najpogosteje silikagel, aluminijev oksid, poliamid ali mikrokristalična celuloza.

Nanašanje vzorca

Vzorec lahko nanašamo ročno ali avtomatsko. Nanašamo jih v točko ali v črto. Ročno nanašamo vzorce s pomočjo kapilar. Oddaljenost vzorca od spodnjega roba plošče je konstantna – običajno 1 do 2 cm. Razdalja med posameznimi nanosi je od 10 do 20 mm. S

kapilarami nanašamo od 0.2 do 10 μL vzorca.

Razvijanje kromatograma

Poteka v posebnih kromatografskih kadeh, ki so lahko nasičene ali nenasičene. Nasičeno kad pripravimo tako, da steno kadi prevlečemo s filter papirjem in nalijemo razvijalec, ki potuje po filter papirju. Ob izhlapevanju razvijalca iz filter papirja se prostor nasiči z njegovimi parami.

Potek razvijanja: Na dno kadi se nalije razvijalec tako, da je TLC plošča za 0.5 cm potopljena v njega. Zaradi kapilarnih sil potuje razvijalec (mobilna faza) po plošči navzgor in s seboj nosi molekule komponent vzorca. Te se zaradi različnih interakcij med molekulami vzorca sorbenta (stacionarna faza) in topila ločijo. Ko mobilna faza doseže zgornji rob plošče, ploščo vzamemo iz kadi in jo posušimo s tokom toplega zraka.

Detekcija

Kadar substance po razvijanju nima svoje lastne barve, je potrebno po razvitju kromatograma opraviti vizualizacijo. Vizualizacija lahko poteka s pomočjo UV detekcije ali s pomočjo rosenja (prskanje) - posamezne substance so vidne na kromatogramu šele po izvedbi kemijske reakcije z določenim reagentom. Zaradi nastanka strupenih aerosolov to opravljamo vedno samo v digestoriju.

Vrednotenje

Ločene posamezne komponente vzorca so v obliki madeža na plošči. Razvrščene so od nanosa vzorca do meje, do katere je pripotovalo topilo. Dolžina poti, ki jo je pripotovala posamezna komponenta vzorca v razmerju z dolžino poti topila (retenzijski faktor), nam da informacijo o tem, kaj imamo v vzorcu – kvalitativna analiza (glej sliko).

$$\text{retenzijski faktor} = \text{dolžina poti substance} / \text{dolžina poti topila}$$

Kvantitativno ovrednotimo kromatogram s pomočjo denzitometrov – merjenja reflektirane svetlobe. Večinoma se tankoplastna kromatografija uporablja za kvalitativno ali semikvantitativno analizo. Pri slednji primerjamo površine lis vzorcev s površinami lis standardov in iz poznanih koncentracij standardov sklepamo na količino posamezne substance v vzorcu.

Tekočinska kromatografija

Tudi pri tekočinski kromatografiji se ločijo posamezne komponente v vzorcu s porazdeljevanjem med dve fazi, stacionarno in mobilno fazo. Mobilna faza pronica skozi stacionarno fazo v koloni v določeni smeri in s sabo bolj ali manj hitro prenaša posamezne komponente vzorca.

Tekočinska kromatografija ima zelo široko območje izbora mobilnih in stacionarnih faz, zato tudi spada med bolj selektivne metode kot plinska kromatografija.

Mobilna faza pri tekočinski kromatografiji je tekočina nizke viskoznosti. Kot mobilna faza se največ uporabljata organski topila metanol in acetonitril. Sama voda nima elucijske moči, zato ji dodajamo ustrezna topila.

Stacionarne faze so porozni mikrodenci iz različnih substanc, najpomembnejši so silika gel, hidro oksidi, porozni organski polimeri, lasersko obdelan aluminij in tudi porozni grafit.

Plinska kromatografija

Spada med zahtevne kromatografske metode, ki se prav tako uporabljajo v analizi živil. Izvajajo se na aparatih - plinskih kromatografih.

Aparature so sestavljene iz:

injektorja za vnašanje vzorca,
analitične kolone s stacionarno fazo,
detektor in
rekorder.

Snov, ki jo želimo ločiti vnašamo skozi injektor, kjer zaradi visokih temperatur injektorja prehajajo snovi v plinasto stanje. Pretok mobilne faze (plina) skozi kolono omogoča prenos uplinjenih snovi po koloni do detektorja, signal detektorja se poveča in prenaša na rekorder.



Pri kromatografskih tehnikah vzorec ločimo na posamezne komponente med potovanjem mobilne faze preko stacionarne, na katero smo nanesti vzorec. Posamezne kromatografske tehnike se med sabo razlikujejo po vrsti stacionarne in mobilne faze in izvedbi dela. Kot stacionarna faza se uporabljajo papir (pri papirni kromatografiji), različni nanosi (npr. silikagel pri tankoplastni, tekočinski kromatografiji), kot mobilna faza pa različna organska topila (pri papirni, tankoplastni in tekočinski kromatografiji) in inerten plin (pri plinski kromatografiji). Kromatografske tehnike izvajamo za kvalitativno ali kvantitativno analizo ali čiščenje snovi iz raztopin.

3.4 Elektroforeza

Elektroforeza spada med separacijske metode, ki se uporabljajo v analitiki vseh vrst proteinov - v biokemiji, biologiji, analizi živil, klinični kemiji, farmacevtski analitiki. V analizi živil lahko s pomočjo elektroforeze določamo tudi beljakovine v živilih, katerih beljakovinska sestava se med skladiščenjem ali tehnološkem procesu spreminja. Sodobne elektroforezne tehnike nam omogočajo tudi izvedbo občutljivih testov na ponarejena živila.

Z elektroforeznimi metodami **ločujemo nabite molekule**. Večina separacij poteka v električnem polju na nosilcih, ki so nasičeni s pufrom. Molekule lahko ločujemo ne samo glede na razlike v nabojih, temveč tudi glede na velikost molekul, njihovo izoelektrično točko ...

Kot nosilec za elektroforezo lahko uporabimo celulozni acetat in kromatografski papir, najpogosteje pa uporabljamo poliakrilamidne in agarozne gele. Pufer je potreben za prevajanje električnega toka in tudi za vzdrževanje konstantnega ionizacijskega stanja polielektrolitov.

Papirna elektroforeza

Pri papirni elektroforezi uporabljamo kot nosilec posebno obdelan papir, ki se razlikuje odvisno od zahtev vzorca, ki ga preiskujemo. Tudi vrsta puferske raztopine je odvisna od vrste vzorca.

Papirna kromatografija poteka v naslednjih korakih:

- Na papirju narišemo startno črto.
- Nanašamo vzorec - v obliki kapljice ali v črto.
- Posušimo vzorec in omočimo trak v pufersko raztopino ter ga položimo na nosilec tako, da je startna črta na nasprotni strani elektrode, proti kateri delci potujejo in da konca segata v pufersko raztopino.
- Kadičko pokrijemo s stekleno ploščo tako, da se komora nasiti z vlago.
- Elektrodi povežemo z usmernikom in vklopimo omrežno napetost - odvisno od vrste vzorca od 150 do 500 V.
- Opazujemo potovanje komponent vzorca. Ko je ločitev potekla, elektroforezo prekinemo.
- Papirne trakove osušimo s tokom toplega zraka, določimo oddaljenost od startne črte in zapišemo smer gibanja delcev.

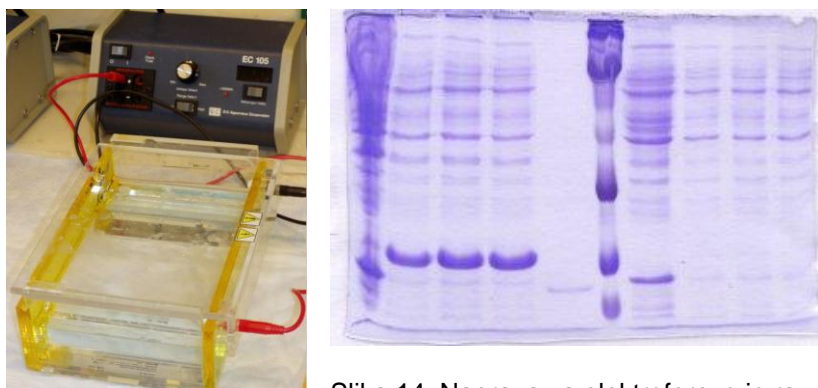
Pri kvantitativni analizi določimo koncentracijo posameznih komponent na različne načine. Papir z madežem odrežemo in madež raztopimo v primernem topilu ter koncentracijo določimo spektrofotometrično. Lahko pa liso na papirju direktno fotometriamo.

Gelska elektroforeza

Separacija poteka na gelu. Za gelsko elektroforezo poznamo različne aparature. Na voljo so v vertikalni in horizontalni izvedbi. Sestavljene so iz **stabilnega usmernika** in **elektroforezne enote**, v kateri sta rezervoarja za pufer z elektrodama.

Gel, na katerem poteka separacija, se nahaja med steklenima ali plastičnima ploščama ali v cevki - vertikalna izvedba, lahko pa leži na podpornem delu - horizontalna izvedba in je povezan z rezervoarji za pufer.

Po separaciji barvamo proteine na gelu z različnimi barvili in jih tako napravimo vidne. Vrednotimo jih z denzitometrom ob uporabi standardnih mešanic proteinov.



Slika 14: Naprava za elektroforezo in razviti elektroforetogram

Vir: <http://www.kii2.ntf.uni-lj.si/e-kemija/file.php/1/output/aminokislina2/index.html> (30. 6. 2010)



Elektroforezne metode potekajo v električnem polju. Z njimi ločujemo nabite molekule in jih kvalitativno in kvantitativno določamo. Najpogosteje se uporabljajo v analitiki proteinov. Poznamo papirno in gelsko elektroforezo.



Razmisli kakšne so prednosti instrumentalnih metod pred klasičnimi kemijskimi analiznimi metodami?

Kako smo razdelili instrumentalne metode?

Kaj je osnova elektrokemijskih metod?

Katera elektrokemijska metoda se najpogosteje uporablja v analizi živil?

Navedi razliko med indikatorsko in referenčno elektrodo?

Kako je sestavljen pH-meter?

S formulo in grafično zapiši Beer-Lambertov zakon.

Kaj je pogoj za spektrometrično določanje koncentracije analita?

Kako je sestavljen spektrofotometer?

Kaj so cilji kromatografskih metod?

Kako poteka tankoplastna kromatografija?

Kakšne je razlika med tankoplastno in papirno kromatografijo?

Navedi mobilno fazo pri posamezni vrsti kromatografij?

Opiši bistveno razliko med kromatografijo in elektroforezo?

Za katere sestavine živil bi uporabil elektroforezo?

4 ANALIZNE METODE SESTAVE ŽIVIL



Kako bi ugotovil, kateri mesni izdelek je bolj kakovosten?
Ali znam določiti TIP moke?
Se določajo beljakovine enako v kruhu in v mesnem izdelku?
Koliko maščobe vsebuje čips?

Analiza sestavin živil je nujna za ocenjevanje hranilne vrednosti živil, kakor tudi za kontroliranje procesa proizvodnje. Analiza živil se izvaja tudi za kontrolo kakovosti živil kot zahteva zakonodaja.

Prvi podatki o analizi živil izvirajo iz leta 1606, ko je A. Libaviusa objavil v svojem delu De Judico Aquarum Mineralium metode analiziranja mineralne vode. Prve kvantitativne analize živil so se omejevale zgolj na analizo beljakovin, maščob, ogljikovih hidratov in vode. Takrat so tudi veljale samo te sestavine za pomembne v živilu. Z odkritjem fiziološkega pomena vitaminov, makro- in mikroelementov, antioksidantov pa so se začele razvijati tudi metode določanja teh sestavin. Analizna kemija, na kateri temelji analiza živil, je danes postala sodobna informacijska znanost. Izbira in smotrna uporaba primerne tehnike pa zahteva natančno poznavanje principov analiznih metod.

Kemijsko predstavlja živilo zmes organskih in anorganskih sestavin. Za vsako živilo je značilna naravna kemijska sestava, tako v kvalitativnem kot v kvantitativnem pomenu. Za živila je značilna različna vsebnost hranilnih snovi. Analiza sestavin živil zajema določanje:

- vode,
- mineralnih snovi,
- ogljikovih hidratov,
- beljakovin,
- maščob,
- vitaminov,
- aditivov,
- antioksidantov in
- kontaminantov.



Pravilniki o kakovosti živil predpisujejo za posamezna živila ustrezne analizne metode. Na medmrežju so nam ti pravilniki tudi dosegljivi.

(Npr: Poglej analizne metode za določanje kakovosti vina: <http://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?stevilka=2439&urlid=200143> 30. 6. 2010)

4.1 Določanje vode

Določanje vsebnosti vode v živilu spada med pomembne metode določanja kakovosti živil. Voda v živilih je v obliki **proste vode** ali **vezane**. Običajno je v živilih več proste vode, ki jo je lahko določati. Vezana voda je v živilih vezana kot kristalna voda v hidratih ali vezana z molekulami beljakovin in saharidov, ali pa je adsorbirana na površini koloidnih delcev. Vezano vodo v živilih ne določimo z običajnimi metodami. Ker vsa živila vsebujejo vodo, je **kvalitativno** dokazovanje vode v živilih brez pomena. **Kvantitativno** določanje vsebnosti vode v živilih pa je izrednega pomena, ker je od vsebnosti vode odvisna tudi kakovost živila, možnost konzerviranja in skladiščenja. **Pravilniki o kakovosti živil** predpisujejo maksimalno dovoljeno količino vode v vrsti živil (primer maslo, klobase, potvorbe mleka ...), tako se glede na količino vode v živilih tudi živila klasificirajo v različne kakovostne skupine (npr. maslo, med).

Vsebnost vode v živilih lahko določamo z naslednjimi metodami:

- fizikalne indirektno metodo (z izparevanjem ali z destilacijo),
- kemijske metode in
- fizikalne direktne metode (indeks refrakcije, gostota, električna prevodnost).

Določanje vode s sušenjem

Določanje vode s sušenjem spada med najbolj pogosto uporabljene metode. Osnova metode je sušenje živila do konstantne teže. Za posamezna živila Pravilnik o kakovosti živil predpisuje pogoje sušenja.

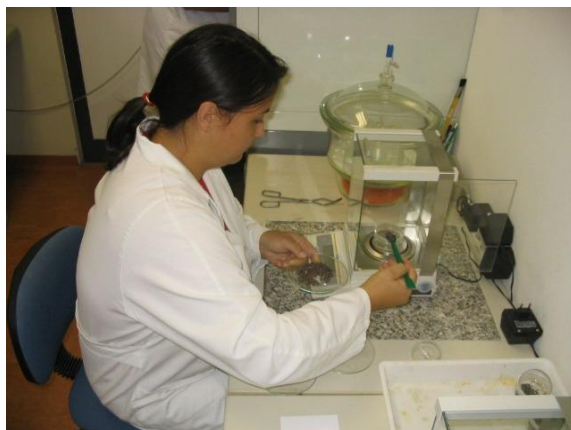
Sušenje lahko poteka pri normalnem zračnem tlaku ali v vakuumskem sušilniku. Pri normalnem zračnem tlaku poteka na predpisani temperaturi – **običajno 105 °C do konstantne teže**.

Odstotek vode izračunamo po obrazcu:

$$\% \text{ vode} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \cdot 100 \%$$

m_1 - masa vzorca pred sušenjem

m_2 – masa vzorca po sušenju



Slika 15: Odtehtanje vzorca za sušenje

(Vir: lasten)

Sušenje v vakuumskem sušilniku poteka na nižji temperaturi od 50 do 70 °C. Postopek je primeren za živila, ki se težje sušijo (med, sirupi, marmelada) oz. za živila, ki vsebujejo termolabilne snovi.

Pogosto se izvaja sušenje z dodatkom etanola in kvarčnega peska (določanje vode v mesnih izdelkih). Tako povečamo površino vzorca in s tem hitrost sušenja živil. Dodatek etanola pa omogoča izparevanje kapilarno vezane vode. Takšen način sušenja je primeren za živila, ki vsebujejo večje količine sladkorja in beljakovin.

Pri metodah določanja vode s sušenjem moramo biti pozorni na:

- ustrezno pripravo vzorca,
- temperaturo in čas sušenja in
- možne vire napak.

Napake metode so: izparevanje drugih hlapnih snovi, adsorpcija ogljikovega dioksida iz zraka, proces oksidacije, Maillardova reakcija ...

Določanje vode z destilacijo

Osnova metode je destilacija vode s pomočjo topil, ki se ne mešajo z vodo, kondenzacija vodne pare in merjenja volumna predestilirane vode.

Primerna je predvsem za živila, ki vsebujejo termolabilne in lahko hlapne substance. Uporabljamo jo za določanje vode v maščobah, mleku v prahu, v žitih in mlevskih proizvodih.

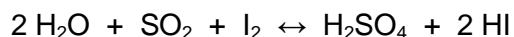
Izvajamo jo z organskimi topili:

- ki so lažja od vode (benzol, toluol, ksilol) in
- ki so težja od vode (tetraklorogljik, trikloretilen, tetrakloreten).

Metoda je enostavna, hitra in se odvija pri konstantni temperaturi. Pri izvedbi metode lahko pride do napake zaradi nepopolne destilacije.

Kemijske metode

Med najpomembnejše kemijske metode spada metoda s Karl Fischerjevim reagentom (KFR). Osnova metode je oksidacijsko-redukcijska titracija. Določamo žveplov dioksid v prisotnosti vode s titracijo z jodom. Oksidacija žveplovega dioksida z jodom je možna v prisotnosti vode po reakciji:



Titracija poteka s Karl Fischerjevim reagentom – KFR (žveplov dioksid : piridin : raztopina joda : metanol = 1:3:1:1) do nastanka prostega joda, ki pomeni konec titracije.

Z metodo po Karl Fischerju ne določamo vodo v živilih, ki vsebujejo tudi močne oksidante ali reducente zaradi reakcije s KFR.

Instrumentalne metode

Od instrumentalnih metod so za določanje količine vode oz. suhe snovi najpogosteje v uporabi:

- elektrokemijske metode za hitro določevanje vode v živilih (za žita, moko, čaj ...),
- refraktometrijsko določanje se uporablja za indirektno odčitavanje vode z določanjem količine suhe snovi (v sadnih sokovih, sirupih, medu ...) in
- različne specifične metode za posamezna živila.



Določanje vsebnosti vode je pomemben pokazatelj kakovosti živil. Pravilnik predpisuje za določeno vrsto in kakovost živila maksimalno dovoljeno vsebnost vode in metode, s katerimi jo določamo. Med najpomembnejše metode spada fizikalna indirektna metoda, pri kateri s pomočjo sušenja določimo odstotek suhe snovi in posredno izračunamo odstotek vode v živilu. Pogosto so v uporabi tudi sodobne, hitrejše instrumentalne metode.

4.2 Določanje mineralnih snovi

Količina mineralnih snovi služi kot merilo za biološko vrednost živila, zato je določanje mineralnih snovi v živilu zelo pomembno. Z določitvijo mineralnih snovi lahko dobimo oceno tudi o kakovosti živila in njegove zdravstvene neoporečnosti.

Mineralne snovi v analitičnem pogledu razumemo kot ostanek pepela po sežigu. Sestava pepela ni odvisna samo od vrste živila, pač pa tudi od poteka sežiga. Pepel vsebuje v večjih količinah: kalij, natrij, kalcij, magnezij (v obliki odgovarjajočih kationov), fosfor, žveplo, klor (v obliki fosfata, sulfata, klorida) in silicij (kot silicijev dioksid). V manjših količinah ali le v sledih so prisotni še drugi elementi v ionski obliki: železo, baker, mangan, kobalt, kositer, nikelj, cink, selen, aluminij ...

Mineralne snovi določamo s suhim in z mokrim sežigom.

Suhi sežig

Suhi sežig živila poteka na visoki temperaturi, običajno nad 450 °C. Ostanek vzorca po sežigu je pepel.

Pri določanju mineralnih snovi s suhim sežigom je za točnost meritve pomembna pravilna priprava vzorca. Pri pripravi upoštevamo naslednja pravila:

- pazimo na homogenost vzorca (mastna tkiva praktično ne vsebujejo mineralov),
- sveže sadje in zelenjavo pred analizo operemo, tudi z destilirano vodo, da odstranimo pesek, zemljo ...
- trdna živila ustrezno zdrobimo in homogeniziramo,
- tekoča živila posušimo, najprej nad vodno kopeljo, nato še v sušilniku na 105 °C.

Potek dela:

- očiščen in na temperaturi sežiga prežarjen lonček, ohlajen v eksikatorju, stehtamo na štiri decimalna mesta natančno,
- natehtamo določeno količino vzorca in po potrebi dodamo dodatke, da bi pospešili hitrost sežiga: vodikov peroksid, dušikova kislina, magnezijev acetat,
- sežig vzorca po navodilih, na temperaturi od 450 do 1000 °C. Najprimernejša temperatura sežiga je **od 500 do 550 °C**. Sežig traja do konstantne teže oz. dokler ni pepel enakomerne barve,
- po končanem sežigu sledi hlajenje v eksikatorju,
- tehtanje in
- izračun.

$$\% \text{ pepela} = \frac{m_{\text{vzorca po žarenju}}}{m_{\text{vzorca pred žarenjem}}} \cdot 100$$

Napaka metode so izgube mineralnih snovi pri visokih temperaturah. Na temperaturah nad 500-550 °C se izgubijo alkalni kloridi (primer natrijev klorid), nad 650 °C se izgubijo večje količine karbonatov (Ca-, Mg-, K- in Na-karbonati).



Slika 16: Žarimo do enakomerne barve ostanka

(Vir: lasten)

Moker sežig

Metoda mokrega sežiga se običajno uporablja, kadar določamo posamezne elemente v živilu. Prednost mokrega sežiga pred suhim sežigom je, da pri mokrem sežigu ni izgub posameznih mineralnih snovi zaradi visokih temperatur sežiga. Moker sežig poteka z dodatkom ustreznih kislin, ki kot močno oksidacijsko sredstvo razgrajujejo organsko snov.

Kislina, ki jih uporabljamo za moker sežig kot oksidacijsko sredstvo, so: dušikove in žveplene kisline in zmesi, zmes dušikove in klorove (VII) kisline ali zmes dušikove, klorove (VII) in žveplene kisline. Izbira ustreznega oksidacijskega sredstva je odvisna od vrste živila in vrste analize, ki jo želimo izvesti.

Določanje posameznih mineralnih snovi

Določanje posameznih mineralnih snovi običajno poteka iz raztopine pepela po mokrem sežigu. Določanje mineralnih snovi je lahko kvalitativno ali kvantitativno. Kvantitativno določanje mineralnih snovi se v analizi živil zelo pogosto izvaja s številnimi fizikalno-kemijskimi metodami, ki smo jih spoznali v predhodnih poglavjih.

Določanje mineralnih snovi delimo na določanje kationov in anionov.

Določanje kationov

Poteka iz raztopine pepela, ali pa jih predhodno ločimo s pomočjo ionskih izmenjevalcev. Metode določanja so različne:

- kalij in natrij lahko določamo gravimetrično ali s plamensko spektrofotometrijo,
- kalcij in magnezij določamo z gravimetrično obarjalno metodo ali volumetrično s kompleksometrično titracijo.

Določanje anionov

Najpogosteje določamo v analizi živil kloride, sulfate in fosfate:

- kloride določamo najpogosteje z obarjalnimi metodami – po Mohru in po Volhardu,
- sulfate določamo po gravimetrični obarjalni metodi,
- fosfate določamo gravimetrično, volumetrično ali kolorimetrično.

Dokazovanje in določanje težkih kovin

Pri določanju težkih kovin je pogosto zanimiva tudi kvalitativna analiza, s katero dokazujemo, ali so težke kovine prisotne v vzorcu živila. Z kvantitativno analizo določimo količino preiskovane komponente, ki ne sme preseči maksimalne dovoljene koncentracije (MDK – vrednosti).

Težke kovine, ki so najpogostejši kontaminanti živil, so:

- baker, v živila prihaja največkrat iz posode,
- svinec, v živilih se nahaja zaradi uporabe insekticidov kot tudi zaradi uporabe neprimerne posode,
- železo, arzen ...

Za določanje težkih kovin se uporabljajo različne metode, pomembno mesto med njimi ima spektrometrija.



Določanje mineralnih snovi je pomembno za oceno kakovosti živil in tudi za ugotavljanje morebitne kemijske onesnaženosti živil. Skupne mineralne snovi najpogosteje določamo s pomočjo suhega sežiga. Za določitev posameznih mineralnih snovi pa lahko uporabimo tudi mokri sežig. Pri suhem sežigu služi kot oksidacijsko sredstvo kisik in visoka temperatura, pri mokrem sežigu pa uporabljamo močne, koncentrirane kisline (npr. žveplova (VI) kislina, dušikova kislina).

4.3 Določanje ogljikovih hidratov

Ogljikove hidrate določamo za ugotavljanje kemijske sestave živila, ugotavljanje kakovosti in zaradi ugotavljanja ustreznosti po pravilnikih o kakovosti živil. V naravi so zelo razširjeni v živilih rastlinskega porekla, v živilih živalskega izvora se nahajajo v znatno manjših količinah. Tudi v prehranski piramidi zavzemajo ogljikovi hidrati velik del – nahajajo se na dnu prehranske verige s polisaharidi in na vrhu z enostavnimi sladkorji.

Od monosaharidov določamo v živilih predvsem glukozo in fruktozo, ki se nahajata v sadju in medu. Ostale monosaharide (galaktozo, manozo, ksilozo, arabinozo), ki se nahajajo v neznatnih količinah v prostem stanju v živilih, običajno ne določamo. Od disaharidov so z analitičnega stališča najpomembnejši saharoza, laktoza in maltoza. Saharoze je v sadju in zelenjavi zelo malo v obliki naravne sestavine, mnogo več jo je dodane v sadnih proizvodih. Laktozo določamo v mleku, mlečnih izdelkih in v živilih, ki jim dodamo mleko. Maltoza se v živilih nahaja kot produkt hidrolize škroba, njeno določanje je pomembno v moki. Od polisaharidov je v živilih najbolj razširjen škrob. Vsebnost škroba kot naravne sestavine ali v obliki dovoljenega aditiva določamo zelo pogosto. Če sumimo na potvorbo, je včasih že dovolj samo kvalitativen dokaz. Od ostalih polisaharidov določamo pektinske snovi v posameznem sadju (jabolka, limone), v žitih pa pentozane. Celulozo in hemicelulozo določamo običajno skupno kot surove vlaknine.

Določanje monosaharidov in disaharidov

Pri določanju sladkorjev (monosaharidov in disaharidov) moramo pred analizo ustrezno pripraviti vzorec. Iz vzorca ekstrahiramo sladkor in iz ekstrakta odstranimo vse komponente, ki bi lahko motile analizo.

Priprava vzorca poteka v naslednjih korakih:

- vzorec živila ustrezno zdrobimo (v terilnici, mlinčku, sekljalniku), tako da olajšamo ekstrakcijo sladkorja iz živila,
- ekstrakcija poteka z vodo na temperaturi od 40 do 50 °C - običajno na vodni kopeli,
- bistrenje ekstrakta: iz njega moramo odstraniti vse v vodi topne komponente in koloide (beljakovine, pektine, tanine, barve, razne katione in anione).

Bistrenje poteka s pomočjo dodatkov za bistrenje. Kot sredstvo za bistrenje najpogosteje uporabljamo nevtralno ali bazično raztopino svinčevega acetata in reagent po Carrezu (raztopina I – $K_4Fe(CN)_6$, raztopina II – soli cinkovega acetata in sulfata).

Kvalitativno določanje monosaharidov in disaharidov

S kvalitativnim določanjem ugotavljamo prisotnost določenega monosaharida oz. oligosaharida. Osnova kvalitativnega in kvantitativnega določanja je običajno enaka.

Najpogosteje uporabljamo za kvalitativno določanje naslednje postopke:

- z barvnimi reakcijami,
- z reakcijami, ki bazirajo na redukcijskih lastnostih sladkorjev,
- z reakcijami, ki bazirajo na optični aktivnosti sladkorjev,
- izkoriščanje fermentacijskih lastnosti sladkorjev,
- kromatografske tehnike.

Kvantitativno določanje monosaharidov in disaharidov

Osnove metod so enake kot pri kvalitativnih metodah. Razdelimo jih v naslednje skupine:

- redukcijske,
- polarimetrijske,
- fotometrične,
- kromatografske in
- biokemijske.

Metoda po Fehlingu

Osnova metode je izkoriščanje lastnosti monosaharidov in disaharida maltoze in laktoze, da reducirajo ione metalov (bakra, bizmuta, srebra) iz alkalne raztopine njihovih soli. Po redukciji dobimo ustrezne okside ali elementarni metal. Saharoza nima redukcijskih lastnosti in jo lahko določimo na tak način šele po hidrolizi, z razcepom na monosaharida, glukozo in fruktozo.

Najpogosteje uporabljamo za določanje sladkorjev metodo s Fehlingovimi raztopinami - sestavljena je iz dveh raztopin:

Fehling I - raztopina CuSO_4

Fehling II – alkalna raztopina K-Na-tartrata

Pri mešanju obeh raztopin nastane kompleksen ion bakra (II).

V reakciji med raztopino sladkorja in Fehlingove raztopine poteka redukcija bakrovega (II) iona do Cu^+ , nastane bakrov hidroksid (rumena oborina), ki pri segrevanju preide v bakrov (I) oksid (rdeča oborina). Sladkorji se v alkalni sredini oksidirajo v različne kisline.

Določimo količino nastalega bakrovega oksida s pomočjo:

- gravimetrične analize (filtracija, spiranje, sušenje, tehtanje) ali
- titracije s kalijevim permanganatom.

Količino sladkorja dobimo iz količine bakrovega oksida iz ustreznih tabel. Za določanje skupnega sladkorja izvedemo hidrolizo s klorovodikovo kislino.

Polarimetrično določanje sladkorjev

Polarimetrija spada med hitre instrumentalne metode. Pri metodi izkoriščamo lastnosti sladkorjev, da so v raztopini optično aktivni - premikajo raven polarizirane svetlobe (desno ali

levo). Velikost kota rotacije je odvisna od vrste in koncentracije sladkorja, temperature in dolžine cevi polarimetra. Metoda se uporablja za določanje visokih koncentracij sladkorjev, npr. v jedilnem sladkorju, sirupih, čokoladi ...

Fotometrične metode določanja sladkorjev

Se pogosto uporabljajo zaradi enostavnosti pri serijskem določanju sladkorjev.

Kromatografske metode

Uporabljamo različne kromatografske tehnike: papirno, tankoplastno in plinsko kromatografijo. Za uspešno ločitev je potrebno pravilno pripraviti ekstrakt vzorca z ustrezno koncentracijo sladkorja in izbrati ustrezno topilo.

Biokemijske metode

Delimo jih v mikrobiološke in encimske metode. Pri mikrobioloških metodah ločujemo sladkorje glede na razlike v fermentacijski sposobnosti kvasovk – glukoza in fruktoza; po hidrolizi pa še maltoza in saharoza fermentirajo pod vplivom njihovega delovanja, pentoze in laktoze pa ne.

Encimske metode so zaradi visoke selektivnosti zelo uporabne za določanje monosaharidov, oligosaharidov kot tudi škroba. Za določanje uporabimo ustrezne encimske preparate.

Dokazovanje in določanje polisaharidov

Od vseh polisaharidov se najpogosteje analizira škrob. Za dokazovanje škroba se uporablja reakcija z raztopino joda. Pogosto dokazujemo prisotnost škroba pri dokazovanju potvorbe živil (npr. pri medu, mesnih izdelkih ...).

Količino škroba v živilih določamo na različne načine:

- izvedemo hidrolizo škroba in ga določamo preko glukoze,
- obarjanje škroba in gravimetrično ali volumetrično določanje in
- izkoriščanje optične aktivnosti škroba.

Pogosto analiziramo še pektinske snovi in celulozo s hemicelulozo in ligninom.



Ogljikove hidrate določamo za ugotavljanje kemijske sestave živila, kakovosti živil in zaradi ugotavljanja ustreznosti po pravilnikih o kakovosti živil. Med klasične analize sodi določanje sladkorjev po Fehlingu. Pri metodi po Fehlingu izkoriščamo redukcijske lastnosti sladkorjev (monosaharidov in disaharida laktoze in maltoze). Pomembne so tudi barvne reakcije in fotometrično določanje obarvanega kompleksa in

različne kromatografske tehnike določanja sladkorjev. Od polisaharidov najpogosteje analiziramo škrob. Značilna je reakcija škroba z jodovico. Vsebnost škroba v živilu je lahko tudi pokazatelj potvorb živila.

4.4 Določanje beljakovin in aminokislin

Analitika vsebnosti beljakovin ima pomembno vlogo v analizi živil. Beljakovine in vsebnost esencialnih aminokislin določamo zaradi ugotavljanja biološke vrednosti živil. Prisotnost beljakovin vpliva na proces porjavenja (Maillardova reakcija), vsebnost beljakovin v pivu, vinu in v sadnih sokovih vpliva na tehnološki postopek in stabilnost proizvodov. V pšenični moki ugotavljamo količino v vodi netopnih beljakovin (gliadina in glutenina) za ugotavljanje tehnoloških lastnosti moke ...

Poznamo več vrst metod kvantitativnega določanja beljakovin. Najpogosteje uporabljamo naslednje:

- indirektna metoda - določitev beljakovin z določitvijo vsebnosti dušika,
- kemijska reakcija s peptidno vezjo in fotometrična meritev,
- kemijska reakcija z določeno aminokislino in fotometriiranje.

Določanje beljakovin po Kjeldahlu

Beljakovine iz živila težko izoliramo, zato jih ne določamo direktno, ampak indirektno glede na vsebnost dušika v beljakovinah.

Beljakovine vsebujejo v povprečju 16 % dušika. Razen dušika vsebujejo še:

ogljik	51 – 55 %
kisik	20 – 25 %
vodik	6 – 7 %
dušik	15 – 18.5 %
žveplo, fosfor	

Dušika je v beljakovinah v povprečju 16 %. Tako dobimo faktor za preračunavanje količine beljakovin iz količine dušika:

$$\frac{100}{16} = 6.25$$

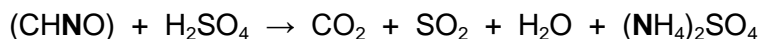
Osnova metode po Kjeldahlu je moker sežig vzorca v koncentrirani žvepleni kislini ob prisotnosti katalizatorja pri povišani temperaturi do popolne oksidacije ogljika in vodika in redukciji organskega dušika do amonijevega sulfata.

Z dodatkom koncentriranega natrijevega hidroksida se iz amonijevega sulfata sprosti amoniak, ki ga predestiliramo v nasičeno raztopino borove kisline. Sledi titracija amonijevega borata s standardno raztopino kisline.

Metoda poteka v treh stopnjah:

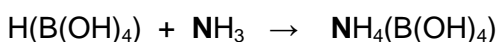
Mokri sežig:

izvedemo ga s pomočjo koncentrirane H_2SO_4 , organski dušik se reducira do amonijevega sulfata:



Destilacija:

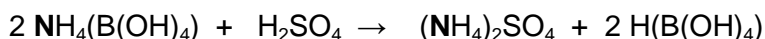
ob dodatku koncentriranega natrijevega hidroksida se sprosti amoniak, ki ga predestiliramo v nasičeno raztopino borove kisline, dobimo amonijev borat.



Slika 17: Naprava za destilacijo (Vir: lasten)

Titracija:

Amonijev borat, titriramo s standardno raztopino žveplove (VI) kisline.



Napaka metode:

Z metodo po Kjeldahlu določimo ves organski dušik. Večina tega dušika pripada beljakovinam, manjši del pa je prisoten še v prostih aminokislinah, nukleinskih kislinah, aromatskih snoveh, vitaminih B-kompleksa. Do napak lahko pride tudi zaradi izgube dušika pri previsokih temperaturah mokrega sežiga in prekomernega dodajanja katalizatorjev. S priporočeno temperaturo mokrega sežiga ($370\text{ }^\circ\text{C}$ do $410\text{ }^\circ\text{C}$) se izognemo tej napaki.

Barvne reakcije s proteini

Posamezni proteini dajo z določenimi reagenti značilne barvne reakcije, ki jih izkoriščamo v analitične namene. Med njimi je najpomembnejša Biuret reakcija: polipeptidi reagirajo z razredčeno raztopino bakrovega sulfata v močno alkalnem mediju z značilno modro barvo.

Formolna titracija

V mleku in sladoledu ugotavljamo skupno količino beljakovin tudi s formolno titracijo. Izvedemo reakcijo amino skupine beljakovin ali aminokislin s formaldehidom in titriramo COOH skupine beljakovin oz. aminokislin s pomočjo standardne raztopine baze.

Določanje aminokislin

Za določanje aminokislin so najprimernejše kromatografske tehnike – lahko so hitre in enostavne kot sta papirna in tankoplastna kromatografija ali zahtevnejše - tekočinska in plinska kromatografija.

Za določitev aminokislin so primerne po izvedbi kemijskih barvnih reakcijah tudi spektrometrične metode.



Beljakovine v živilih določamo za ugotavljanje biološke vrednosti hrane ter za spremljanje in nadzor tehnološkega procesa. Med klasične metode določanja beljakovin spadajo indirektno metode z določanjem organskega dušika. Iz vsebnosti dušika določimo vsebnost skupnih beljakovin. Med indirektno metode spada metoda po Kjeldahlu. Poteka v treh stopnjah: moker sežig, destilacija in titracija. Za določanje posameznih aminokislin se najpogosteje uporabljajo različne kromatografske tehnike.

4.5 Določanje maščob

Določanje količine maščob v živilu je pomembno za ocenjevanje energijske vrednosti živil in za živila, ki jih razvrščamo v razrede glede na količino maščob. Količina maščob v živilih se giblje od 0.1 % v zelenjavi pa do skoraj 100 % v masteh in oljih. Večje količine maščob vsebujejo živila živalskega izvora: svinjska mast, loj, maslo, polnomastni sir. V rastlinskih živilih se nahaja večja količina maščob v semenih in v nekaterih plodovih, kot so olive, lešniki, orehi ...

Analitika maščob pa nima pomena samo pri določanju količine maščob, zanima nas tudi sestava in kvar maščob. Pogosto določamo tudi karakteristična števila, ki nam povedo lastnosti maščob (nasičenost oz. nenasičenost maščobnih kislin, dolžino verig maščobnih kislin ...) in s tem prehransko vrednost maščob. Za bolj cenjene vrste maščob je pomembno tudi ugotavljanje pristnosti maščob (npr. za ekstra deviško oljčno olje).

Določanje količine maščob

Osnova določanja količine maščob je ekstrakcija maščob iz živila z organskim topilom. Za ekstrakcijo maščob uporabljamo naslednja topila: eter, petroleter, kloroform, trikloretilen ... Ker so v teh topilih razen maščob topne še druge snovi (voski, steroli, vitamini, pigmenti, eterična olja, proste maščobne kisline) imenujemo dobljen ekstrakt – surove maščobe. Pri večini živil je količina ne-maščobnega dela surovih maščob neznatna in jo lahko pri analitiki zanemarimo

Od tod tudi izvira definicija za maščobe:

Maščobe so snovi, ki jih iz živila ekstrahiramo z brezvodnim etrom in po enournem sušenju na 100 °C ne izparijo.

Obstaja veliko metod, ki jih delimo glede na osnovni princip ekstrakcije. Katero topilo in metodo določanja bomo izbrali je odvisno od vrste živila.

Med najbolj pogosto uporabljene metode spada določanje maščob po Soxhletu.

Določanje količine maščob po Soxhletu

Metoda je primerna za vrsto živil: meso in mesne izdelke, pekovski izdelki, rastlinska živila ... Izvedba je enostavna, vendar ne spada med hitre metode.

Potek dela:

- homogenizacija vzorca,
- vzorci, ki vsebujejo več vlage jih pred ekstrakcijo posušimo na 105 °C - 2 uri,
- vzorec odtehtamo v poseben tulec, ki ga namestimo v ekstraktor Soxhletove aparature,

- stehtano, suho bučko napolnimo s topilom in sestavimo aparaturo s hladilnikom,
- ekstrakcija poteka 3 do 6 ur, odvisno od vrste vzorca,
- sušenje bučke z ekstrahirano maščobo – 1 uro na 105 °C,
- hlajenje v eksikatorju,
- izračun.



Slika 18: Sodobna naprava za določanje količine maščob po Soxhletu

(Vir: lasten)

Pri živilih, katerih ekstrakcija z etrom ni popolna, bodisi zaradi prepočasnega pronicanja etra v celice, ali ker se mast nahaja vezana na beljakovine in ogljikove hidrate, izvedemo pred ekstrakcijo hidrolizo. Metoda se imenuje **Metoda po Weibullu in Stoldt**: vzorec predhodno razklopimo s klorovodikovo kislino, pri čemer prihaja do hidrolize beljakovin in škroba. Izločeno mast prefiltriramo in ekstrahiramo po Soxhletovi metodi.

Določanje kvara maščobe

Pri maščobnih živilih pogosto ocenjujemo primernost maščob z določanjem kvara. Poznamo dve vrsti kvara maščob:

- s staranjem se povečuje količina prostih maščobnih kislin in s tem kislost maščob in
- vezava kisika na dvojne vezi maščobnih kislin povzroči oksidativen kvar, nastali peroksidi pa lahko razpadajo na aldehide in ketone.

Določanje hidrolitičnega kvara

Masti in olja niso nikoli nevtralna, ker vedno vsebujejo še določeno količino prostih maščobnih kislin. S staranjem se količina prostih maščobnih kislin v maščobah poveča (hidrolitičen kvar maščob). Pravilnik o kakovosti živil predpisuje za maščobna živila maksimalno količino dovoljenih prostih maščobnih kislin, izraženo v % oleinske kisline.

Kislost maščob izražamo s kislinskim številom, kislinsko stopnjo in % oleinske kisline:

Kislinsko število

Izraža se kot število mg KOH, potrebnih za nevtralizacijo prostih maščobnih kislin v 1 g vzorca.

Kislinska stopnja

Izraža se v številu mL 1 M KOH ali NaOH, potrebnih za nevtralizacijo 100 g vzorca.

% **oleinske kisline** dobimo, če kislinsko stopnjo pomnožimo s faktorjem 0.2823.

Določanje oksidativnega kvara

Oksidativen kvar se izraža na nenasičenih maščobnih kislinah kot posledica delovanja kisika, svetlobe, temperature in prisotnosti težkih metalov, ki delujejo kot katalizatorji. Tvorijo se peroksidi. Pri temperaturah nad 130 °C peroksidi začnejo razpadati – nastajajo sekundarni produkti oksidacije: aldehidi, ketoni, mravljična kislina (značilen vonj po žarkem), oksidacijske kisline in produkti polimerizacije.

Peroksidno število

Z njim določamo prvo stopnjo oksidativnega kvara. Izražamo ga kot število milimolov peroksida, izraženega v 1 kg maščobe.

Kreissova reakcija

Z njo dokazujemo drugo stopnjo oksidativnega kvara. Epihidrin je nosilec pozitivne reakcije v Kreissovi reakciji, značilen vonj žarkih maščob pa izhaja od heptilaldehida.

Število tiobarbiturne kisline (TBK - test)

S TBK testom ugotavljamo drugo stopnjo oksidativnega kvara. Izraža se v miligramih malonaldehida v 1 kg maščobe. Določamo ga spektrofotometrično.

Določanje karakterističnih števil

Jodno število

Izraža se s številom g joda, ki se veže na nenasičene maščobne kisline v 100 g masti ali olja. Proste ali vezane nenasičene maščobne kisline imajo lastnost, da adirajo molekulo halogena na dvojno vez.

Število umiljenja

Je število mg KOH potrebnega za popolno umiljenje prostih in estersko vezanih maščobnih kislin v 1 g masti. Je značilna konstanta za posamezna olja in masti. Vrednost je odvisna od

molekulske mase maščobnih kislin.

Estersko število

Je število mg KOH, potrebnega za umiljenje estersko vezanih maščobnih kislin. Pri nevtralnih maščobah sta estersko število in število umiljenja enaka.

Določanje neumiljivih snovi

So nemaščobna sestava maščob. V vseh naravnih maščobah je količina neumiljivih snovi majhna od 0.2 do 2 %.

Določanje indeksa refrakcije

Določamo ga refraktometrično. Z njim lahko dokažemo identiteto masti in olja.

Določanje sestave maščobe

Najprimernejši metodi za določanje sestave maščob sta plinska kromatografija in tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti. Z njima lahko določimo sestavo vseh pomembnih živalskih in rastlinskih maščob. Rastlinska olja in maščobe živalskega porekla imajo značilno sestavo maščobnih kislin. Obe metodi sta uporabni tudi za ugotavljanje pristnosti maščob.



Analitika maščob zavzema določanje količine maščob, kvara, karakterističnih števil, vrste maščobnih kislin in pristnosti maščob. Določanje količine maščob po Soxhletu spada med klasične metode. Osnova metode je ekstrakcija maščob z organskim topilom. Hidrolitičen kvar maščob določamo s kislinsko stopnjo, oksidativen kvar maščob pa s peroksidnim številom. Z jednim številom izražamo nasičenost oz. nenasičenost maščobnih kislin. Število umiljenja je pokazatelj dolžine verig maščobnih kislin oz. molske mase maščobe. Za ugotavljanje vrste maščobnih kislin in pristnosti maščob se najpogosteje uporabljajo sodobne kromatografske tehnike.

4.6 Določanje aditivov

Dodatki so snovi ali mešanica snovi, ki jih dodamo živilom med tehnološkim procesom. Dodatki ali njihovi razkrojni produkti v splošnem ostanejo v živilu, vendar jih lahko v nekaterih primerih iz živila med tehnološkim postopkom odstranimo. Pravilnik o kakovosti živil predpisuje, kateri dodatki in v kakšni količini so dovoljeni v živilu. Osnovni pogoj za njihovo uporabo je, da so razvrščeni v **Pozitivni seznam aditivov** (Pravilnik o kakovosti živil) – kar pomeni, da so popolnoma preverjeni za trajno in varno uporabo v živilskih izdelkih, ali da doslej še niso imeli škodljivih posledic, čeprav za trajno in varno uporabo v živilskih izdelkih še niso popolnoma preverjeni. Izjemoma so v pozitivni seznam uvrščeni tudi aditivi, ki niso popolnoma preverjeni, je pa njihova uporaba v živilskih izdelkih tehnološko upravičena. Število dodatkov iz leta v leto narašča. Danes je že zavedenih nekaj tisoč različnih vrst dodatkov.

Tabela 7: Razdelitev dodatkov glede na njihovo namembnost

Dodatki s prehransko in dietetično funkcijo	Dodatki za stabilizacijo	Dodatki s senzoričnimi lastnostmi	Dodatki pri predelavi živil in dodatki kot delovna pomagala
<ul style="list-style-type: none"> – vitamini in provitamini – aminokisliline – minerali in elementi v sledih – polnila 	<ul style="list-style-type: none"> – konzervansi – antioksidanti – sinergisti in kompleksanti – zaščitni plini – emulgatorji – zgoščevalci in želirne snovi – posebni stabilizatorji 	<ul style="list-style-type: none"> – barvila – dodatki za izboljšanje okusa – arome 	<ul style="list-style-type: none"> – pH regulatorji – encimi – kulture mikroorganizmov – topila – nosilni plini – dodatki za bistrenje – dodatki za filtriranje – dodatki proti penjenju – belilna sredstva

V analizi živil s kvalitativnimi testi dokazujemo, da nedovoljeni aditivi niso prisotni in s kvantitativno analizo zagotavljamo, da koncentracija uporabljenih aditivov ne presega dovoljene meje.

Analitika aditivov je glede na raznovrstnost substanc, ki se uporabljajo kot aditivi, zelo kompleksna, uporabljajo se številne analizne metode – klasične in instrumentalne.

Določanje konzervansov

Konzervansi se uporabljajo zaradi podaljšanja obstojnosti živil in zaradi zaščite pred mikotoksini. Določamo jih s kvalitativno in kvantitativno analitiko. Najpogosteje uporabljamo benzojsko kislino in njene soli (benzoate) ter sorbično kislino in njene soli (sorbate).

Kvalitativen dokaz za benzojsko kislino poteka z barvno reakcijo s FeCl_3 ali s tankoplastno kromatografijo.

Kvantitativno ji določamo spektrofotometrično z merjenjem absorbance, volumetrično s titracijo z NaOH, s tekočinsko kromatografijo visoke zmogljivosti ali s plinsko kromatografijo.

Določanje barvil

Z dodajanjem barv izboljšamo senzorične lastnosti živil zaradi izgube ali spremembe barve med postopki pri predelavi ali za doseganje atraktivnejšega izgleda živil

V rutinski analizi živilskih barvil običajno zadostuje kvalitativna analiza, s katero potrdimo ali izključimo prisotnost določenih barvil. Izvedemo jo s papirno ali tankoplastno kromatografijo. Tekočinsko kromatografijo uporabljamo samo za kvantitativno določevanje – kadar je uporaba določenega barvila količinsko omejena.

Določanje umetnih sladil

Umetna sladila se dodajajo živilom zaradi prijetnega sladkega okusa in nizke kalorične vrednosti. Kvalitativno določamo umetna sladila s pomočjo kromatografskih tehnik – tankoplastna kromatografija. Za kvantitativno določitev pa uporabljamo tekočinsko kromatografijo. Kadar določamo čista umetna sladila ali sladila v brezalkoholnih pijačah, ni potrebna posebna priprava vzorca, sicer je potrebna priprava vzorca z ekstrakcijo umetnih sladil z vodo ali etanolom.



Analitika aditivov je glede na raznovrstnost in številčnost aditivov zelo kompleksna. Poglavitni pomen analitike aditivov je, da nedovoljeni aditivi niso prisotni v živilih in da koncentracija uporabljenih aditivov ne presega zakonsko dovoljene zgornje meje. Najpogosteje se analizirajo različni konzervansi, barvila, umetna sladila. Za vsak aditiv se uporablja specifična metoda določanja. Med najbolj pogosto uporabne instrumentalne metode v analitiki aditivov sodijo kromatografske tehnike in spektrometrija.



- Opiši metodo določanja vode s sušenjem in navedi napake metode.
- Navedi princip določanja vode s titracijo po Karl Fischerju.
- Naštej najpomembnejše instrumentalne metode določanja količine vode.
- Koliko % vode je v vzorcu živila, če je masa praznega tehtiča znašala 53,2400 g, masa tehtiča z vzorcem živila pa 56,1505 g? Po sušenju smo ponovno tehtali - masa tehtiča s posušenim vzorcem je znašala 55,3415 g.
- Navedi faze dela in pogoje za določanje mineralnih snovi s suhim sežigom.
- Kdaj uporabljamo moker sežig in kako ga izvedemo?
- Izračunaj TIP moke, če smo v stehtan žarilni lonček (z maso 27,1215 g) odtehtali 3,0022 g vzorca moke, jo žarili 90 minut na 900 °C in po ohladitvi v eksikatorju ponovno tehtali – teža je znašala 27,1700 g.
- Razmisli glede varnosti pri delu. Na kaj moramo biti še posebej pozorni pri izvedbi mokrega sežiga?
- Navedi osnovo metode določanja ogljikovih hidratov po Fehlingu.
- Na kakšen način lahko določimo saharozo po Fehlingu?
- S katero barvno reakcijo lahko dokažemo škrob?
- Navedi osnove indirektno metode določanja beljakovin po Kjeldahlu.
- Navedi potek dela po Kjeldahlu. Katera faza dela je za okolje najbolj obremenilna?
- S katero metodo bi določili aminokislino v vzorcu živila?
- Navedi osnovo določanja količine maščob po Soxhletu.
- Navedi topila za določanje količine maščob. Razmisli, na kaj vse moramo biti pozorni pri izbiri topila za ekstrakcijo maščobe?
- Navedi faze dela določanja količine maščob v čipsu.
- Kakšen kvar maščob poznaš in kako ga dokažemo?
- Kaj nam pove jodno število?
- Navedi bistven pomen analitike aditivov.

Kazalo slik

Slika 1: Dijaki v laboratoriju uporabljajo osebno varovalno opremo.....	8
Slika 2: Oznake za zaščitne sredstva.....	7
Slika 3: Oznake na embalaži.....	10
Slika 4: Oznake za pravilno ločevanje odpadnih kemikalij.....	12
Slika 5: Obarjanje – poteka pod posebnimi pogoji.....	18
Slika 6: Titracija se zaradi enostavnosti postopka pogosto uporablja v analizi živil.....	20
Slika 7: Titracija šibke kisline.....	22
Slika 8: Instrumentalne metode so lahko zelo enostavne – kot je uporaba ročnega refraktometra...	29
Slika 9: Shema elektrokemijskega člana.....	30
Slika 10: Stekljena elektroda.....	31
Slika 11: Kalomelova elektroda.....	32
Slika 12: Sestavni deli absorpcijskega spektrometra.....	35
Slika 13: Papirna kromatografija.....	38
Slika 14: Naprava za elektroforezo in razviti elektroforetogram.....	42
Slika 15: Odtehtanje vzorca za sušenje.....	46
Slika 16: Žarimo do enakomerne barve ostanka.....	49
Slika 17: Naprava za destilacijo.....	56
Slika 18: Sodobna naprava za določanje količine maščob po Soxhletu.....	59

Kazalo tabel

Tabela 1: Oznake za nevarnost.....	8
Tabela 2: Novi znaki za nevarnost.....	10
Tabela 3: Standardna opozorila ('R' stavki) za označevanje nevarnih snovi in pripravkov.....	11
Tabela 4: Standardna obvestila ('S' stavki) za označevanje nevarnih snovi in pripravkov.....	11
Tabela 5: Anorganski obarjalni reagenti.....	18
Tabela 6: Barve različnih območij vidnega spektra.....	33
Tabela 7: Razdelitev dodatkov glede na njihovo namembnost.....	62

5. LITERATURA

- Belitz, Grosch. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Berlin: Springer-Verlag, 1992.
- Bryan, L. Williams. *Principles and Techniques of Practical Biochemistry*. London: Edward Arnold, 1984.
- Abram, V. in Zelenik-Blatnik, M. *Vaje iz živilske kemije za študente živilske tehnologije*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 1996.
- Chiplunkar, M. *Nitrogen – Information*. Flawil: Buchi Laboratoriums-Technik AG, 1999.
- Harris, D. C. *Quantitative Chemical Analysis*. Fourth Edition. New York: W.H. Freeman and company, 1996.
- Gary, D. C. *Analytical Chemistry*. Fifth Edition. New York: John Wiley & Sons, 1994.
- Golc-Wondra, A. *Elektroforeza: sodobne separacijske tehnike*. Ljubljana: Kemijski inštitut Ljubljana, 1995.
- Gorenc, D., et al. *Analizna kemija: gravimetrična in volumetrična analiza*. Ljubljana: Državna založba Slovenije, 1994.
- Gottwald, W. *GC für Anwender*. Weinheim: VCH, 1995.
- Harris, D. C. *Lehrbuch der Quantitativen Analyse*. Wiesbaden: Vieweg, 1997.
- Klofutar, C. Pregled dodatkov v živilstvu – definicija in uporaba. V: *Zbornik 16. Bitenčevih živilskih dnevov*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 1994. str. 3-10.
- Plestenjak, A. Določanje aditivov v živilih. V: *Zbornik 16. Bitenčevih živilskih dnevov*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 1994. str. 155-160.
- Prošek, M. in Pukl, M. *Kvantitativna planarna kromatografija*. Ljubljana: Kemijski inštitut Boris Kidrič, 1991.
- Rudan-Tasič, D. Vitamini C, E in Q10: 20. V: *Bitenčevi živilski dnevi*, Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2000. str. 39-51.
- Sodja Božič, J. *Vaje iz instrumentalne analize*. Trzin: Izolit, 1998.
- Skoog, D.A., et al. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Thomson Brooks Cole, 2004.
- Trajkovič, J., et al. *Analize životnih namirnic*, Beograd: Tehnološko-metalurški fakultet, 1983.
- Components of Instruments for Molecular and Atomic Spectroscopy*. (online). (citirano 7. 6. 2010). Dostopno na naslovu:
<http://employees.oneonta.edu/schaumjc/chem362/components.ppt#2>
- Fakulteta za kemijsko tehnologijo. *Gravimetrične analizne metode*. (online). (citirano 29. 6. 2010). Dostopno na naslovu: www.fkkt.uni-lj.si/.../farmaceuti-gravimetrija.ppt

Ministrstvo za šolstvo in šport. *Oznake za nevarnost*. (online). (citirano 23. 6. 2010). Dostopno na naslovu: http://www.osbos.si/e-kemija/e-gradivo/1-sklop/oznake_za_nevarnost.html

Mernik A. *R in S stavki*. (citirano 23. 6. 2010). Dostopno na naslovu: http://andrej.mernik.eu/kemija/r_in_s_stavki/

Stran študentov FFa. *Elektrokemija*. (online). (citirano 30. 6. 2010). Dostopno na naslovu: http://www.farma.drustvo.si/gradivo.php?b=gradivo_p%2FAnalizna+kemija%2FPREDAVANJA

Titracija. (online). (citirano 30. 6. 2010). Dostopno na naslovu: <http://www.kii2.ntf.uni-lj.si/e-kemija/file.php/1/output/Titracija/index.html>

Understanding pH measurement. (online). (citirano 3. 6. 2010). Dostopno na naslovu: <http://www.sensorland.com/HowPage037.html>

Varno delo v kemijskem laboratoriju. (online). (citirano 23. 6. 2010). Dostopno na naslovu: <http://vedez.dzs.si/datoteke/1%20Varno%20delo%20v%20kemijskem%20laboratoriju.ppt>

Wikipedia. *Electrophoresis*. (online). (citirano 30. 6. 2010). Dostopno na naslovu: <http://en.wikipedia.org/wiki/Electrophoresis>

