 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50193.1 – Stanovení obsahu žlutého pigmentu v mouce a semolině pšenice tvrdé	Vydání	1
		Revize	0

STANOVENÍ OBSAHU ŽLUTÉHO PIGMENTU V MOUCE A SEMOLINĚ PŠENICE TVRDÉ

1 Účel a rozsah

Postup specifikuje podmínky pro stanovení obsahu žlutého pigmentu v mouce a semolině pšenice tvrdé.

Obsah žlutého pigmentu je důležitým faktorem pro posouzení kvality surovin určených pro výrobu těstovin. Je definován jako obsah extrahovatelných karotenoidů endospermu zrna a vyjadřuje se jako mg β -karotenu ve 100 g sušiny vzorku.

2 Princip

Karotenoidy se ze vzorku extrahují vodou nasyceným n-butanolem a následně se stanoví spektrofotometricky při vlnové délce 440 nm.

3 Chemikálie

Používají se pouze chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

1 Destilovaná nebo deionizovaná voda.

2 n-Butanol.

3 n-Butanol, nasycený vodou.


Příprava: n-Butanol (2) a destilovaná voda (1) se smíchají v poměru 6:2 (V/V). Vzniklá směs se intenzivně protřepe. Pro extrakci žlutého pigmentu se použije horní čirá vrstva získaná po oddělení fází.

4 Diethylether.

5 Standard β -karotenu, čistota > 97,6 %.

6 β -karoten, standardní roztok, $c(\beta\text{-karoten}) = 5 \mu\text{g/ml}$.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se naváží 0,025 g standardu β -karotenu (5) s přesností 0,1 mg. Rozpustí se v diethyletheru (4), poté se doplní diethyletherem po značku a promíchá. 20 ml tohoto roztoku se napipetuje do 250ml odměrné baňky, doplní se po značku vodou nasyceným n-butanolem (3) a promíchá se. Z tohoto roztoku se odpipetuje 25 ml do 100ml odměrné baňky, doplní se opět po značku vodou nasyceným roztokem n-butanolu (3). 1 ml výsledného roztoku obsahuje 5 μg β -karotenu.

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50193.1 – Stanovení obsahu žlutého pigmentu v mouce a semolině pšenice tvrdé	Vydání	1
		Revize	0

Poznámky

- Koncentrace a čistota standardu β -karotenu se určí proměřením jeho absorpčního spektra.*
- Standardní roztok β -karotenu lze skladovat v lednici po dobu maximálně jednoho týdne. Roztok se chrání před světlem.*

4 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy s přesností nejméně 0,1 mg.
- Spektrofotometr.
- Erlenmayerova baňka se zábrusem, hnědá, 200 ml.
- Erlenmayerova baňka se zábrusem, 100 ml.
- Odměrná baňka se zábrusem a úzkým hrdlem, 10 ml.
- Odměrná baňka se zábrusem, 100 ml a 250 ml.
- Skleněné pipety, 20 ml a 25 ml.
- Hodinové sklíčko nebo Petriho miska.
- Filtrační papír.
- Nálevka.

5 Postup

5.1 Příprava zkušební vzorku


Mouka nebo semolina s velikostí částic menší než 0,5 mm může být použita jako analytický vzorek bez dalších úprav. Semolina s velikostí částic větší než 0,5 mm se upraví podle postupu popsaného v JPP Úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu, kap. 5.5, postup 60110.1 Úprava vzorků obilovin.

5.2 Extakce

Do 200ml tmavé Erlenmayerovy baňky se naváží 10 g vzorku s přesností 1 mg. Přidá se 50 ml vodou nasyceného n-butanolu (3), baňka se uzavře zátkou a obsah v baňce se zamíchá tak, aby se získala homogenní suspenze. Během první hodiny se obsah baňky několikrát jemně protřepe a poté se nechá stát přes noc (16 – 18) h při laboratorní teplotě.

Poznámky

- Extrakt se chrání před přímým slunečním světlem a UV zářením. V případě, že není dostupná hnědá odměrná baňka, je nutné baňku obalit např. alobalem, aby se zabránilo přístupu světla.*

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50193.1 – Stanovení obsahu žlutého pigmentu v mouce a semolině pšenice tvrdé	Vydání	1
		Revize	0

Další den ráno se obsah baňky opět promíchá a suspenze se následně kvantitativně filtruje přes skládaný filtrační papír do 100ml Erlenmayerovy baňky. Aby se zabránilo úbytku rozpouštědla odpařením, zakryje se nálevka hodinovým sklíčkem nebo Petriho miskou.

5.3 Příprava kalibračních roztoků

Kalibrační standardní roztoky se připraví tak, že do sady 10ml odměrných baněk se pipetuje (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0) ml standardního roztoku β -karotenu (6) a doplní se vodou nasyceným n-butanolem (3) po značku. Získají se tak kalibrační roztoky o koncentraci (0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5) $\mu\text{g/ml}$.

5.4 Spektrofotometrické stanovení:

Spektrofotometrické měření probíhá při vlnové délce 440 nm. Absorbanční nula přístroje se nastaví na vodou nasycený n-butanol (3). Před vlastním stanovením se vždy proměří sada kalibračních roztoků β -karotenu a vytvoří se kalibrační závislost absorbance na koncentraci β -karotenu.

Poté se proměří připravený vzorek (5.2) a získaná hodnota absorbance se vyhodnotí na základě kalibrační křivky.

6 Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah žlutého pigmentu ve vzorku, vyjádřený jako mg β -karotenu ve 100 g sušiny, se vypočítá podle vztahu:

$$w_p = \frac{50 \times a}{100 - H}$$

kde a je obsah β -karotenu odpovídající 1 ml extraktu, vyjádřený v mg,

H obsah vlhkosti vzorku vyjádřený jako hmotnostní procenta.

Poznámky

4 *Vzhledem k tomu, že β -karoten, ačkoliv se používá pro kalibraci, není v pigmentu endospermu zrna přítomen nebo pouze v menšinovém zastoupení, výsledné hodnoty se mohou odchylovat až o 5 % od skutečné hodnoty.*

7 Literatura

1 EN ISO 11052 Durum wheat flour and semolina – Determination of yellow pigment content.