

PASZE	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-90
	Pasze	9160-42
	Oznaczanie tanin w nasionach roślin strączkowych grubonasiennych	
		Grupa katalogowa 1549

1. WSTĘP

Przedmiotem normy jest metoda oznaczania tanin w nasionach roślin strączkowych grubonasiennych (bobiku, grochu, łubinu, peluszkii).

2. METODA BADANIA

2.1. Zasada oznaczania polega na ekstrakcji tanin za pomocą mieszaniny alkoholu etylowego, gliceryny i wody, utworzeniu barwnego kompleksu z odczynnikiem fosfomolibdenofosfowolframowym i pomiarze absorbancji barwnego roztworu przy długości fali 700 nm.

2.2. Odczynniki, roztwory i materiały. Do analizy, jeżeli nie zaznaczono inaczej, należy stosować wyłącznie odczynniki cz.d.a. oraz wodę destylowaną lub wodę o równoważnej czystości.

- a) Alkohol etylowy 96%(V/V).
- b) Gliceryna.
- c) Kwas fosforowy $\rho = 1,7 \text{ g/ml}$.
- d) Kwas fosfomolibdenowy ($\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{ MoO}_3 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$).
- e) Wolframian sodowy ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$).
- f) Węglan sodowy, roztwór o stężeniu 200 g/l. Odważyć 200 g węglanu sodowego i rozpuścić w 500 ml gorącej wody. Po oziębieniu uzupełnić do objętości 1000 ml. Odczynnik powinien być klarowny. Należy go przechowywać w polietylenowej butelce.
- g) Odczynnik fosfomolibdenofosfowolframowy. Rozpuścić 100 g wolframianu sodowego (2.2e) i 20 g kwasu fosfomolibdenowego (2.2d) w 750 ml wody. Dodać 50 ml kwasu fosforowego (2.2c). Po 2 h uzupełnić wodą do objętości 1000 ml, a następnie ogrzać odczynnik do wrzenia pod chłodnicą zwrotną. Odczynnik powinien być klarowny.
- h) Mieszanina do ekstrakcji. Zmieszać alkohol etylowy (2.2a), glicerynę (2.2b) i wodę destylowaną w stosunku objętościowym 1:1:1.
- i) Roztwór wzorcowy kwasu taninowego. Zważyć z dokładnością do 0,0001 g 0,1 g kwasu taninowego, przenieść do kolby pomiarowej pojemności 100 ml

i rozpuścić w gorącej wodzie. Po ostudzeniu uzupełnić wodą do kreski. Roztwór przechowywać w ciemnej butelce nie dłużej niż miesiąc. 1 ml tego roztworu zawiera 1 mg kwasu taninowego (roztwór A). Z roztworu A pobrać 1 ml do kolby pomiarowej pojemności 100 ml i uzupełnić wodą do kreski. 1 ml tego roztworu zawiera 10 μg kwasu taninowego (roztwór B).

j) Sączki miękkie.

2.3. Aparatura i przyrządy

- a) Spektrokolorymetr z kuwetami o grubości warstwy pomiarowej 5 cm.
- b) Wstrząsarka laboratoryjna.

2.4. Wykonanie oznaczania

2.4.1. Przygotowanie ekstraktu. Odważyć z dokładnością do 0,001 g około 0,5 g zmielonej próbki i przenieść do kolby stożkowej pojemności 200 ml. Dodać 70 ml mieszaniny do ekstrakcji (2.2h) podgrzanej uprzednio do temperatury 60°C. Zawartość kolby wstrząsać na wstrząsarce laboratoryjnej przez 0,5 h. Ekstrakt przesączyć przez miękki sączek do kolby pomiarowej pojemności 200 ml. Osad na sączku przemyć gorącą wodą. Po ostudzeniu uzupełnić kolbę wodą do kreski i zawartość wymieszać.

2.4.2. Przeprowadzenie pomiaru. Do kolby pomiarowej pojemności 50 ml przenieść 1 ml ekstraktu, dodać 2 ml odczynnika fosfomolibdenofosfowolframowego (2.2g), a po 5 min wprowadzić 10 ml roztworu węglanu sodowego (2.2f). Uzupełnić wodą destylowaną do kreski i dobrze wymieszać. Równoległe z próbą właściwą przeprowadzić pomiar próby odczynnikowej. 70 ml mieszaniny ekstrakcyjnej (2.2h) uzupełnić wodą w kolbie pomiarowej do objętości 200 ml. Pobrać 1 ml do kolby pomiarowej pojemności 50 ml i przeprowadzić reakcję w sposób opisany dla próby właściwej. Po 15 min zmierzyć absorbancję próby odczynnikowej i próby właściwej w spektrokolorymetrze w kuwetach o grubości warstwy pomiarowej 5 cm przy długości fali 700 nm wobec wody.

Zgłoszona przez Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego
Ustanowiona przez Dyrektora Centralnego Laboratorium Przemysłu Paszowego dnia 20 lipca 1990 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 grudnia 1990 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 10/1990, poz. 23)

2.4.3. Sporządzenie krzywej wzorcowej. Do kolb pomiarowych pojemności 50 ml odpipetować kolejno 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ml roztworu wzorcowego kwasu taninowego (roztwór B). Pierwsza kolba stanowi próbę odczynnikową. Do każdej kolby dodać 2 ml odczynnika fosfomolibdenofosfowolframowego i przeprowadzić reakcję i pomiar absorbancji w sposób opisany dla próby właściwej. Wykreślić krzywą wzorcową odkładając na osi rzędnych wartości odczytanej absorbancji pomniejszone o wartość absorbancji próby odczynnikowej, a na osi odciętych odpowiadające absorbancji zawartości kwasu taninowego w μg w 50 ml.

2.4.4. Obliczanie wyniku. Zawartość tanin w przeliczeniu na kwas taninowy w próbce (X) obliczyć w % wg wzoru

$$X = \frac{a \cdot 0,02 \cdot 1,09}{m}$$

w którym:

- a — zawartość kwasu taninowego w roztworze badanym odpowiadająca odczytanej absorbancji pomniejszonej o absorbancję próby odczynnikowej, μg ,
- m — odważka próbki, g,
- 0,02 — współczynnik uwzględniający rozcieńczenie i przeliczenie na zawartość procentową,
- 1,09 — współczynnik uwzględniający stopień odzysku.

2.4.5. Wynik końcowy oznaczania. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników dwóch równoległych oznaczeń różniących się nie więcej niż 5% błędu względnego. Wynik podać w zaokrągleniu do dwóch miejsc po przecinku.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego w Lublinie.
2. Autorzy projektu normy — mgr Bożena Nogalska, inż. Włodzimierz Charytoniuk — Zakład Biochemii i Analizy Instrumentalnej Centralnego Laboratorium Przemysłu Paszowego w Lublinie.