

ZAGADNIENIA OGÓLNE	NORMA BRANŻOWA	BN-74
	Ryby mrożone	8020-07
	<b>Badania zjełczenia tłuszczu</b>	
	Oznaczanie liczby nadtlenkowej	Grupa katalogowa 1229

1. **Zakres stosowania metody.** Metodę stosuje się do oznaczania w tłuszczu ryb mrożonych liczby nadtlenkowej. Metodę stosuje się w badaniach pełnych.

2. **Zasada metody** polega na utlenianiu przez nadtlenki obecne w jełczącym tłuszczu jonów żelazawych do żelazowych i kolorymetrycznym oznaczaniu stężenia barwnych jonów zespolonych tworzących się z jonów żelazowych w obecności rodanku amonu.

### 3. Aparatura, przyrządy i materiały

a) Robot laboratoryjny typ 309 lub młynkomikser kuchenny.

b) Kolorymetr fotoelektryczny z filtrem niebieskim o długości fali 470 nm.

c) Probówki z korkiem szlifowanym, pojemność 15 lub 25 cm<sup>3</sup> lub kolby stożkowe z korkiem szlifowanym, pojemność 25, 50 lub 100 cm<sup>3</sup>.

d) Gruszka gumowa do pipet.

### 4. Odczynniki i roztwory

a) Chloroform cz.d.a.

b) Metanol cz.d.a.

c) Chlorek cynawy (SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) cz.d.a.

d) Chlorek rtęciowy (HgCl<sub>2</sub>) cz.d.a.

e) Rodanek amonowy (NH<sub>4</sub>CNS) cz.d.a.

f) Siarczan żelazawy (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) cz.d.a.

g) Roztwór podstawowy. Do 5 g siarczanu żelazawego rozpuszczonego w 50 cm<sup>3</sup> wody destylowanej dodać 5 g rodanku amonowego rozpuszczonego w 50 cm<sup>3</sup> metanolu oraz 5 g chlorku rtęciowego rozpuszczonego w 25 cm<sup>3</sup> metanolu i roz-

cieńczonego 25 cm<sup>3</sup> wody destylowanej. Następnie dodać 0,5 g chlorku cynawego. Roztwór przechowywany w butelce z ciemnego szkła z doszlifowanym korkiem jest trwały przez kilka miesięcy. Roztwór po wstrząśnięciu powinien mieć barwę żółtozieloną. Przed użyciem do analizy roztwór należy wstrząsnąć.

h) Roztwór roboczy. Do 25 cm<sup>3</sup> metanolu dodać 5 cm<sup>3</sup> roztworu podstawowego, dodać 25 cm<sup>3</sup> chloroformu, zmieszać i pozostawić na okres około 15 min. Następnie roztwór znad osadu przesączyć przez podwójny sącdek do suchej kolby z doszlifowanym korkiem. Roztwór roboczy jest nietrwały i należy go przygotować w dniu wykonywania oznaczeń.

**Wszystkie odczynniki i roztwory są trujące.**

5. **Przygotowanie próbki do badań.** Z opakowań transportowych wybranych z partii zgodnie z PN-71/A-86752 należy pobierać próbki nie rozmrażając całkowicie ryb-bloku. Próbkę jednostkową z ryb małych lub filetów należy pobrać przez odcięcie części bocznej bloku w ilości zgodnej z PN-71/A-86752. Ryby z próbki laboratoryjnej należy sfiletować, zemleć na maszynie do mięsa i pobierać do analizy. Zmielone mięso można przechowywać w zamkniętym naczyniu w temperaturze około 5°C przez około 6 h.

6. **Przygotowanie ekstraktu.** 40 g zmielonego mięsa (odważonego z dokładnością do 0,01 g) i 200 cm<sup>3</sup> chloroformu homogenizuje się w po-

Zgłoszona przez Zjednoczenie Gospodarki Rybnej

Ustanowiona przez Dyrektora Zjednoczenia Gospodarki Rybnej dnia 31 grudnia 1974 r.

jako norma obowiązująca w zakresie czynności określonych normą od dnia 1 lipca 1975 r.

(Dz. Norm. i Miar nr 4/1975, poz. 9)

jemniku robota laboratoryjnego przez 30 s przy obrotach około 9000 obr/min i powtarza się homogenizowanie po przerwie 5-minutowej otrzymany homogenizat sączyć przez podwójny karbowany sączek z bibuły filtracyjnej do suchej kolby z doszlifowanym korkiem.

**7. Sporządzanie krzywej wzorcowej.** 1 cm<sup>3</sup> nadtlenu wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) rozpuścić w mieszaninie chloroform-metanol (1:1) w kolbie pomiarowej pojemności 100 cm<sup>3</sup>, dopełniając do kreski (roztwór W<sub>1</sub>). Sprawdzić zawartość tlenu aktywnego w roztworze W<sub>1</sub> metodą jodometryczną Sully. Roztwór W<sub>1</sub> rozcieńczyć 10-krotnie chloroformem w kolbie pojemności 100 cm<sup>3</sup> — roztwór W<sub>2</sub>. Roztwór W<sub>2</sub> rozcieńczyć 10-krotnie chloroformem, jak wyżej — roztwór W<sub>3</sub>. Pobierając kolejno od 0,1 do 2 cm<sup>3</sup> roztworu W<sub>3</sub> dopełniać chloroformem do objętości 3 cm<sup>3</sup> i oznaczać zawartość nadtlenu, jak w 8. Wykreślić krzywą wzorcową odkładając na osi rzędnych wartości absorbancji, a na osi odciętych mg tlenu aktywnego.

**Metoda Sully.** Do kolby pomiarowej pojemności 100 cm<sup>3</sup> dodaje się 10 cm<sup>3</sup> chloroformu i 10 cm<sup>3</sup> kwasu octowego lodowatego, zamyka się kolbę korkiem z rurką szklaną długości 75 cm i nałożoną na koniec chłodnicą długości około 15 cm. Kolbę ogrzewa się na wrzącej łaźni wodnej. Gdy pary chloroformu wrzącej cieczy osiągną miejsce chłodzone, za pomocą pipety wlewa się z góry jodek potasowy (1 g × 1,3 cm<sup>3</sup> wody) i pozostałość na rurce spłukuje się nie więcej niż 6 kropelkami wody. Mieszanina nie powinna się zabarwiać. Gdy roztwór jest bezbarwny, dodaje się 1 cm<sup>3</sup> roztworu W<sub>3</sub>, gotuje 3÷5 min, odłącza chłodnicę, chłodzi pod kranem, zdejmując rurkę, dodaje 50 cm<sup>3</sup> wody, 1 cm<sup>3</sup> roztworu skrobi i miareczkuje 0,01 N roztworem tiosiarczanu sodu. Zawartość tlenu aktywnego w 1 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego wylicza się ze wzoru

$$X = a \cdot 0,08$$

w którym *a* — ilość cm<sup>3</sup> 0,01N tiosiarczanu sodu zużyta do miareczkowania.

**8. Wykonanie oznaczania.** Do próbki z doszlifowanym korkiem pobrać 2 cm<sup>3</sup> ekstraktu sporządzonego wg 6, 1 cm<sup>3</sup> chloroformu i dodać

12 cm<sup>3</sup> roztworu roboczego. Zawartość próbki zmieszać i po 10 min oznaczać kolorymetrycznie wobec ślepej próby, przy długości fali 470 nm. Ślepa próbę stanowią 3 cm<sup>3</sup> chloroformu i 12 cm<sup>3</sup> roztworu roboczego. W przypadku uzyskania zbyt intensywnej barwy próby do oznaczania kolorymetrycznego nie należy rozcieńczać lecz oznaczenie powtórzyć pobierając mniejszą ilość ekstraktu i uzupełnić chloroformem do objętości 3 cm<sup>3</sup>. Przy próbach z wyraźnie wyczuwalnym organoleptycznym zjełczeniem należy pobierać do oznaczeń 0,5÷1 cm<sup>3</sup> ekstraktu.

**9. Oznaczanie zawartości tłuszczu w ekstrakcie.** Wsuszone w suszarce w 105°C i ostudzone w ekcykatorze naczynko wagowe pojemności 10 cm<sup>3</sup> zważyć z dokładnością do 0,0001 g. Do naczynka wlać 10 cm<sup>3</sup> ekstraktu i suszyć w suszarce w temperaturze 105°C przez 30 min. Po ostudzeniu w ekcykatorze ponownie zważyć naczynko wraz z tłuszczem i z różnicy ciężarów obliczyć zawartość tłuszczu w 10 cm<sup>3</sup> ekstraktu. Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną trzech równoległych oznaczeń.

**10. Obliczanie wyników.** Na podstawie uzyskanej z oznaczania kolorymetrycznego wartości gęstości optycznej odczytać zawartość tlenu aktywnego (*X*) z krzywej wzorcowej i przeliczyć na 100 g tłuszczu wg wzoru

$$X = \frac{a \cdot 10 \cdot 100}{n \cdot b}$$

w którym:

- a* — odczytana z krzywej wzorcowej zawartość tlenu aktywnego w pobranej do oznaczenia ilości ekstraktu,
- n* — zawartość tłuszczu w pobranej do oznaczenia ilości ekstraktu,
- b* — ilość cm<sup>3</sup> ekstraktu pobrana do oznaczania kolorymetrycznego.

**11. Wynik.** Za wynik należy przyjąć średnią arytmetyczną wyników dwóch równoległych oznaczeń, różniących się między sobą nie więcej niż o 5% mniejszego wyniku.

KONIEC

#### INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Zjednoczenie Gospodarki Rybnej, Szczecin.
2. Normy związane  
PN-71/A-86752. Ryby świeże i mrożone. Pobieranie próbek
3. Autor projektu normy — dr inż. Anna Kołakowska, AR Szczecin.
4. Wydanie 2 — stan aktualny: kwiecień 1982 — zmieniono grupę katalogową.