	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	<b>Jednotné pracovní postupy – testování odrůd</b>  50150.1 – Stanovení sedimentačního indexu – Zeleného test	Vydání	1
		Revize	1

## STANOVENÍ SEDIMENTAČNÍHO INDEXU – ZELENÝHO TEST

### 1 Účel a rozsah

Postup je určen pro stanovení jednoho z faktorů určujících jakost pšenice, tzv. sedimentačního indexu, který ovlivňuje pekařskou jakost mouky vyrobené z této pšenice. Tento postup lze použít pouze pro pšenici setou.

### 2 Princip

Podstata zkoušky je založena na schopnosti bílkovin mouky bobtnat v kyselém prostředí. Ze zkoušené mouky, připravené z pšenice za přesně stanovených podmínek mletí a prosévání, se připraví suspenze v roztoku kyseliny mléčné a isopropanolu s přidávkem barviva. Po určené době protřepávání a klidu se stanoví objem sedimentu vzniklého sedimentací částic mouky. Takto zjištěný objem sedimentu je ukazatelem kvality lepkové bílkoviny.

### 3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.


- 1 Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- 2 Kyselina DL-mléčná,  $c(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3) = 85\%$ . Používá se komerčně dodávaný roztok.
- 3 Hydroxid sodný, odměrný roztok,  $c(\text{NaOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$ .

Příprava: 20 g hydroxidu sodného se rozpustí ve vodě (1), poté se roztok kvantitativně převede do 1000ml odměrné baňky a po vytemperování na laboratorní teplotu se doplní vodou (1) po značku. Roztok se nechá stát jeden den a poté se stanoví jeho faktor následujícím postupem:

Do titrační baňky se s přesností na 0,0001 g naváží přibližně 1 g hydrogenftalátu draselného (10), předem vysušeného při 120 °C po dobu 3 h. Přidá se asi 30 ml vody (1) a 3 kapky indikátoru fenolftalein (5). Titruje se odměrným roztokem hydroxidu sodného (3) do slabě narůžovělého zbarvení, které vydrží min 15 s. Faktor odměrného roztoku hydroxidu sodného se vypočítá podle vztahu

$$f = \frac{V_{teoret}}{V}$$

$V_{teoret}$  je teoretická spotřeba odměrného roztoku hydroxidu sodného (3) potřebná k titraci hydrogenftalátu draselného (10) v ml,

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	<b>Jednotné pracovní postupy – testování odrůd</b>  50150.1 – Stanovení sedimentačního indexu – Zeleného test	Vydání	1
		Revize	1

V je skutečný objem odměrného roztoku hydroxidu sodného (3) spotřebovaného při titraci v ml.

Teoretická spotřeba odměrného roztoku hydroxidu sodného (3)  $V_{\text{teoret}}$  se vypočítá podle vztahu

$$V_{\text{teoret}} = \frac{A}{B}$$

kde A je navážka hydrogenftalátu draselného (10) v g,

B 0,10211 g (ekvivalentní množství hydrogenftalátu draselného v g, které odpovídá 1 ml 0,5M hydroxidu sodného).

4 Ethanol,  $c(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) \approx 96\%$ , denaturovaný.

5 Fenolftalein, roztok,  $c(\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4) = 10 \text{ g/l}$ .

Příprava: 1 g fenolftaleinu se rozpustí v ethanolu (4), převede se do 100ml odměrné baňky a doplní se ethanolom (4) po značku.

6 Zásobní roztok kyseliny mléčné,  $c(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3) = (2,7 - 2,8) \text{ mol/l}$ .

Příprava: V 1000ml odměrné baňce se 250 ml kyseliny mléčné (2) naředí a doplní vodou (1) po značku. Roztok se přelije do 2000ml varné baňky se zábrusem, přidají se varné kamínky nebo kuličky a umístí se na vařič. Baňka se připojí ke zpětnému chladiči, roztok se přivede k varu a 6 h se vaří.

Roztok kyseliny mléčné se vytemperuje na laboratorní teplotu a nejlépe druhý den se 5 ml tohoto roztoku titruje hydroxidem sodným (3) s použitím fenolftaleinu (5) jako indikátoru. Na 5 ml roztoku kyseliny mléčné je zapotřebí asi 28 ml roztoku hydroxidu sodného (3). Zjištěná koncentrace se musí nacházet mezi (2,7 – 2,8) mol/l.

Koncentrace zásobního roztoku kyseliny mléčné (x) v mol/l se vypočítá podle vztahu

$$x = \frac{V_2 \times f \times c}{V_1}$$

$V_1$  je pipetovaný objem zásobního roztoku kyseliny mléčné v ml,

$V_2$  spotřeba odměrného roztoku hydroxidu sodného v ml,


f faktor odměrného roztoku hydroxidu sodného,

c koncentrace odměrného roztoku hydroxidu sodného v mol/l.

Zásobní roztok kyseliny mléčné se připravuje jednorázově a uchovává se v tmavých skleněných lahvích.

7 Isopropanol.

8 Zkušební roztok kyseliny mléčné.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	<b>Jednotné pracovní postupy – testování odrůd</b>  50150.1 – Stanovení sedimentačního indexu – Zeleného test	Vydání	1
		Revize	1

Příprava: V 1000ml odměrné baňce se důkladně promíchá 180 ml zásobního roztoku kyseliny mléčné (6) s 200 ml isopropanolu (7) a doplní se vodou po značku. Připravený zkušební roztok se uchovává v uzavřené baňce a před použitím se ponechá stát po dobu nejméně 48 h. Používá se nejdéle 15 dní od přípravy.

9 Bromfenolová modř, roztok.

Příprava: V 1000ml odměrné baňce se rozpustí 4 mg bromfenolové modři a doplní vodou (1) po značku.

10 Hydrogenftalát draselný,  $c(\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4) \geq 99,5 \%$ , certifikovaný standard.

## Poznámky

1 *Koncentrovaný roztok kyseliny mléčné obsahuje asociované molekuly, které při ředění pomalu disociují až do dosažení rovnovážného stavu. Varem se tento proces, který má pro získání reprodukovatelných hodnot sedimentace zásadní význam, urychluje.*


## 4 Přístroje a pomůcky

- 1 Laboratorní mlýnek Brabender-Sedimat.
- 2 Odměrné válce s plochým dnem o objemu 100 ml, s dělenou stupnicí v mililitrech, se značkou pro 100 ml vzdálenou ode dna mezi 180 mm a 185 mm, opatřené plastovými nebo skleněnými zátkami.
- 3 Třepačka na válce s frekvencí 40 kmitů/min, vybavená časovým spínačem. Každý kmit musí vychýlit válec o 60 ° (30 ° nad a pod vodorovnou polohu).
- 4 Varná baňka se zábrusem, 2000 ml.
- 5 Zpětný chladič.
- 6 Elektrický vařič.
- 7 Analytické váhy s přesností 0,001g.
- 8 Byreta, 50 ml, dělená po 0,1 ml.
- 9 Stopky.
- 10 Plastové krabičky s víčkem, 200 ml.

## 5 Postup

### 5.1 Příprava zkušební mouky

Mouka pro stanovení sedimentačního indexu se připraví mletím na laboratorním mlýnku Brabender-Sedimat. Podrobný popis hydrotermické úpravy zrna a následného mletí je uveden

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	<b>Jednotné pracovní postupy – testování odrůd</b>  50150.1 – Stanovení sedimentačního indexu – Zelenyho test	Vydání	1
		Revize	1

v JPP Úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu – kap. 5.5 postup 60110.1 Úprava vzorků obilovin.

## 5.2 Postup

Zkoušky se provádí za normálních světelných podmínek, mimo přímé sluneční světlo.

Naváží se  $(3,2 \pm 0,05)$  g vzorku. Do 100ml odměrného válce se odměří 50 ml roztoku bromfenolové modři (9) a pomocí násypky se k roztoku přidá vzorek. Válec se uzavře zátkou a ve vodorovné poloze se třepe horizontálně do vzdálenosti přibližně (18 – 20) cm, dvanáctkrát v každém směru po dobu přibližně 5 s. Poté se válec vloží do třepačky, spustí se stopky a třepačka. Po 5 min se válec z třepačky vyjme a k jeho obsahu se přidá pomocí odměrného válce 25 ml zkušebního roztoku kyseliny mléčné (8). Válec se opět vloží do třepačky a pokračuje se v třepání dalších 5 min. Po uplynutí uvedené doby se válec vyjme a postaví do vzpřímené polohy. Obsah válce se ponechá stát po dobu 5 min, potom se odečte objem sedimentu s přesností na 1 ml.

## 6 Výpočet a vyjádření výsledků

Číslo, udávající objem sedimentu, vyjádřené v mililitrech a zaznamenané v souladu se stanovením, se označuje jako sedimentační index.

Výsledná hodnota se získá jako aritmetický průměr dvou stanovení, pokud je splněn požadavek na mez opakovatelnosti. Jestliže rozdíl přesahuje mez opakovatelnosti, stanovení se opakuje.

Výsledek se uvádí v celých číslech.

## 7 Literatura

- 1 ČSN EN ISO 5529 Pšenice – Stanovení sedimentačního indexu – Zelenyho test.