

Új fotometrikus cukormeghatározási eljárás

HOLLÓ JÁNOS ÉS SZEJTLI JÓZSEF

Budapesti Műszaki Egyetem Mezőgazdasági Kémiai Technológiai Tanszék

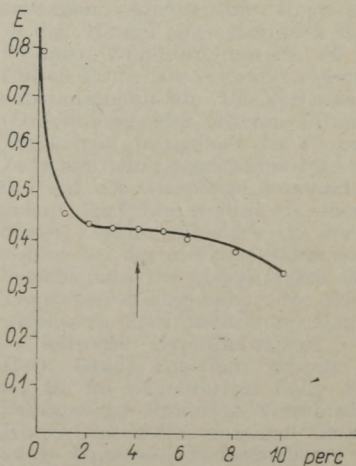
Érkezett: 1958. január 24.

A cukormeghatározás igen gyakori laboratóriumi feladat. Kísérleteink folyamán nagyszámú mérést kellett végeznünk, ezért kritikai vizsgálat tárgyává tettük a használatos módszereket. Egy-egy vizsgálandó mintában a meghatározandó glükóz mennyisége 6—20 mg volt, ezt kellett kellő pontossággal és minél kevesebb munka befektetésével meghatározni. A tradicionális módszerek (Bertrand, Schoorl stb.) optimális pontossága nagyobb glükózmennyiségek jelenlétét követeli meg, továbbá ezek elég munkaigényesek is, különösen a Bertrand-módszer. A szokásos mikro-módszerek viszont lényegesen kisebb mennyiségű glükózzal dolgoznak. Egyszerűen kivitelezhető sorozatmérésekre — különösen, ha a pontosság sem utolsó szempont — a fenti módszerek nem alkalmasak. Ezért dolgoztuk ki az alábbiakban ismertetendő eljárást.

A módszer kidolgozása

A módszer elve az, hogy a szokásos módon lúgos kuprizsulfát-oldatot redukálunk a meghatározandó cukorral, majd a feleslegben maradt kupri-komplexet fotometrikusan meghatározzuk.

Méréseinket Pulfrich-fotométerrel végeztük. A tartarát-kupri-komplex meghatározására legalkalmasabbnak az S_{57} -es (sárga) színszűrőt találtuk. Mivel a Pulfrich-fotométer optimális mérési intervalluma 15—70%-os abszorpció (0,8—0,15 E) közé esik, olyan összetételű oldattal kellett dolgoznunk, hogy a cukor teljes távollétében se lépje túl az extinkció a kielégítő pontosságú intervallum felső határát, a 0,8 E-t. Előkísérletek alapján



1. ábra

eldöntöttük, hogy 15 ml össztérfogatban célszerű végezni a meghatározásokat, mert ennyi oldat kényelmesen elfér a szokásos méretű kémcsövekben. A kémcsőnél nagy lévén a fajlagos felület, jó a hőátadás és forró vízfürdőn lehet melegíteni az oldatot. A vízfürdőn történő hevítés nagy előny a szokásos cukormeghatározási módszerekkel szemben, mert sokkal könnyebben biztosítható így a mindig azonos reakciókörülmény. A kémcsőbe 3,00 ml Schoorl A és 3,00 ml Schoorl B oldatot mérve feltöltve 15 ml-re és az oldatot az alábbiakban leírt módon kezelve, annak extinkcióját 0,795-nek találtuk, tehát céljainknak tökéletesen megfelelt. A reagensnek alkalmazandó mennyiségének megállapítása után tisztáznunk kellett még, hogy mennyi ideig kell melegíteni az oldatot ahhoz, hogy reprodukálható eredményeket kapjunk.

Mint már említettük, a méréseket általában kémcsőben végeztük 15 ml össztérfogatban. 10 kémcsövet, melyek mindegyike 3 ml Schoorl A, 3 ml Schoorl B oldatot, 5 ml glükózoldatot (2,78 mg/ml) és 4 ml desztillált vizet tartalmazott, forró vízfürdőbe helyeztük. Percenként egy-egy kémcsövet kiemelve, lehűtve és tartalmát leszűrve vagy centrifugálva, meghatároztuk a szűrlet extinkcióját. A kapott eredményeket az 1. ábrán tüntettük fel, melyről látható, hogy a 4 perces forralási idő az ajánlatos.

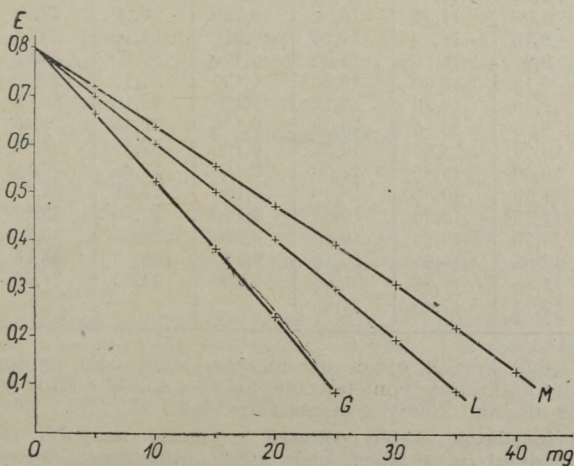
A meghatározás kivitele

Száraz kémcsőbe mérünk 3,00 ml Schoorl A, és 3,00 ml Schoorl B oldatot. (Sorozatméréseknél célszerűen előre elkészítjük ezek 1:1 arányú elegyét és ebből 6 ml-t pipettával mérünk le. Ezután hozzáadjuk a cukoroldatot, mely 0—22 mg glükózt, vagy 0—32 mg laktózt, vagy 0—38 mg maltózt tartalmaz, legfeljebb 9 ml térfogatban. (Célszerűen glükózból 6—20 mg, laktózból 8—25 mg, maltózból 10—30 mg). A kémcső tartalmát desztillált vízzel 15 ml-re egészítjük ki. Az oldatot ellaposított végű üvegbottal összekeverjük, és forró vízfürdőbe helyezzük. 4 perc múlva kivesszük, hideg vízáramban lehűtjük, majd tölesérbe helyezett redős szűrőpapíron átszűrjük úgy, hogy az első 3—4 ml-t elöntjük, a többi szűrletet pedig egy száraz kémcsőbe gyűjtjük. A kristálytisza kék színű szűrletből kb. 4,5 ml-t töltünk a Pulfrich-fotométer 1 cm-es küvetájába és S_{57} -es színszűrő alkalmazásával meghatározzuk az extinkciót. 5 leolvasás középértékét fogadjuk el mérési eredménynek, melynek segítségével a kalibrációs diagramból a glükóztartalom közvetlenül leolvasható.

A Schoorl A oldat összetétele: 69,28 g kristályos rézszulfát/1000 ml.

A Schoorl B oldat összetétele: 346 g Seignette-só (K-Na-tartarát) és 100 g NaOH/1000 ml.

A felvett kalibrációs diagram az alkalmazott oldat CuSO_4 koncentrációjának függvényében kismértékben függőleges irányban eltérhet az általunk az alábbiakban megadott diagram (lásd 2. ábra) és táblázat (lásd I. táblázat) adataiból, viszont azzal feltétlenül párhuzamos. Ezért nem egészen



2. ábra

Extinkciós táblázat fotometrikus cukormeghatározásokhoz

(Az extinkció S_{57} -es szűrőre és 1 cm-es küvetára vonatkozik, a cukor mg-adatok 15 ml oldatban levő cukorra vonatkoznak.)

Extinkció	Glükóz mg/15 ml	Laktóz mg/15 ml	Maltóz mg/15 ml	Extinkció	Glükóz mg/15 ml	Laktóz mg/15 ml	Maltóz mg/15 ml
0,795	0,00	0,00	0,00	0,440	13,15	18,30	22,25
0,790	0,20	0,30	0,35	0,430	13,50	18,85	22,85
0,780	0,55	0,80	0,95	0,420	13,85	19,35	23,45
0,770	0,95	1,35	1,60	0,410	14,20	19,85	24,05
0,760	1,35	1,90	2,20	0,400	14,55	20,30	24,70
0,750	1,75	2,40	2,85	0,390	14,95	20,85	25,30
0,740	2,15	2,95	3,45	0,380	15,30	21,35	25,95
0,730	2,55	3,50	4,05	0,370	15,65	21,85	26,55
0,720	2,90	4,00	4,75	0,360	16,00	22,30	27,15
0,710	3,25	4,55	5,35	0,350	16,35	22,85	27,75
0,700	3,64	5,05	6,00	0,340	16,70	23,30	28,40
0,690	4,00	5,60	6,60	0,330	17,05	23,85	29,00
0,680	4,40	6,10	7,25	0,320	17,45	24,30	29,65
0,670	4,80	6,65	7,90	0,310	17,75	24,80	30,25
0,660	5,15	7,15	8,50	0,300	18,10	25,25	30,85
0,650	5,50	7,65	9,15	0,290	18,45	25,75	31,45
0,640	5,85	8,20	9,80	0,280	18,75	26,20	32,00
0,630	6,25	8,70	10,40	0,270	19,15	26,70	32,60
0,620	6,60	9,20	11,05	0,260	19,50	27,15	33,20
0,610	6,95	9,70	11,70	0,250	19,80	27,70	33,80
0,600	7,30	10,20	12,30	0,240	20,15	28,10	34,30
0,590	7,70	10,75	12,95	0,230	20,45	28,65	34,90
0,580	8,05	11,25	13,60	0,220	20,80	29,05	35,45
0,570	8,45	11,80	14,25	0,210	21,10	29,55	36,00
0,560	8,80	12,25	14,90	0,200	21,45	30,00	36,55
0,550	9,15	12,80	15,50	0,190	21,75	30,50	37,10
0,540	9,50	13,30	16,10	0,180	22,10	30,95	37,70
0,530	9,90	13,85	16,75	0,170	22,45	31,40	38,30
0,520	10,20	14,35	17,35	0,160	22,75	31,85	38,85
0,510	10,60	14,85	18,00	0,150	23,05	32,35	39,40
0,500	11,00	15,35	18,60	0,140	23,35	32,80	39,90
0,490	11,35	15,35	19,20	0,130	23,70	33,25	40,40
0,480	11,70	16,35	19,85	0,120	24,00	33,70	40,90
0,470	12,05	16,85	20,45	0,110	24,25	34,15	41,35
0,460	12,45	17,35	21,05	0,100	24,60	34,60	41,80
0,450	12,75	17,85	21,65				

tiszta CuSO_4 -ból készült oldat alkalmazása, vagy nem pontos bemérés esetén néhány kalibrációs pont felvétele után az alábbi adatok segítségével a kalibrációs diagram könnyen megszerkeszthető.

Sorozatvizsgálatok esetén célszerű egyszerre nagyobb mennyiségű oldatokat készíteni (pl. 6 litert, mely 2000 meghatározáshoz elég), s így kontroll nélkül hosszú ideig használható a felvett kalibrációs diagram.

Mint ismeretes, a réz redukciójának mértéke nem lineárisan függ a cukor mennyiségétől. Viszont az általunk felvett kalibrációs diagram aránylag jól megközelíti az egyenest. Ennek oka az, hogy a tartarát-réz komplex extinkciója ugyancsak nem lineárisan függ a koncentrációtól és a két nem lineáris függvény közelítőleg egyenessé egyenliti ki egymást.

A módszer természetesen alkalmazható keményítőmeghatározásra is, ha előzőleg a savas hidrolizátumot közömbösítettük.

A mérés reprodukálhatósága

A mérés reprodukálhatóságának vizsgálatát 9 paralelméréssel végeztük. A mérési eredmények és a hibaszámítás adatai a II. táblázatban láthatók.

Középhebia: (δ) azt az értéket adja meg, amelynél a középtértéktől való összes eltérések 2/3 részének abszolút értéke kisebb, 1/3 része pedig nagyobb:

$$\delta = \pm \sqrt{\frac{\sum \varepsilon i^2}{4-1}} = \pm \sqrt{\frac{0,52}{9-1}} = \pm 0,255$$

A középtérték középbébjája: (Δ) azt jelenti, hogy a meghatározandó érték 2/3 valószínűséggel az $M + \Delta$ és a $M - \Delta$ határok közé esik:

$$\Delta = \frac{\delta}{\sqrt{4}} = \frac{\pm 0,255}{3} = \pm 0,085$$

A relatív hiba:

$$\Delta\% = \frac{\Delta \cdot 100}{M} = \pm \frac{0,085 \cdot 100}{13,70} = \pm 0,62\%$$

A helyes érték tehát: $13,7 \pm 0,085$ mg.

Mint a fentiekből látható, a módszer jól reprodukálható, pontos eredményeket ad.

A módszer előnyei

1. Kevesebb időt és
2. kevesebb vegyszert igényel, mint a titrimetrikus módszerek.
3. Pontossága ugyanakkora, sőt az alkalmazott cukorkoncentráció intervallumban (pl. glükóznál 6—20 mg) lényegesen pontosabb, mint a szokásos módszerek.

4. A módszer előnyei különösen sorozatvizsgálatoknál tűnnek ki: az oldatok bemérése után egyidejűleg 20 kémcső is forralható, hűthető, majd sorozatban szűrhető. Az oldatok pontos bemérése után (ez az aránylag legtöbb időt igénybevevő részfolyamat) óránként 15—20 meghatározás végezhető.

Végezetül köszönetünket fejezzük ki Gantner Gyulánénak a mérések kivitelezéséért. -

A mérés reprodukálhatóságának vizsgálata

Sorszám	Bemért glükóz mg	Mért extinkció	Meghatározott glükóz mg	Eltérés a közéértékektől ϵ_i	ϵ_i^2
1	13,7	41,6	14,0	-0,3	0,09
2	13,7	43,1	13,5	+0,2	0,04
3	13,7	42,5	13,7	0,0	0,00
4	13,7	43,1	13,5	+0,2	0,04
5	13,7	42,3	13,8	-0,1	0,01
6	13,7	41,1	14,2	-0,5	0,25
8	13,7	43,0	13,5	+0,2	0,04
9	13,7	41,8	13,9	-0,2	0,04
Közép- érték :	13,7	42,3	13,7	$\Sigma \epsilon_i^2 = 0,52$	

EIN NEUES PHOTOMETRISCHES ZUCKERBESTIMMUNGSVERFAHREN

J. Holló und J. Szejtli

Verfasser reduzieren alkalische Kupfertartaratkomplexe mit dem zu bestimmenden Zucker und bestimmen den überschüssigen Kuprikomplex photometrisch. Das Verfahren eignet sich wegen seiner raschen Durchführbarkeit besonders für Serienprüfungen.

A NEW PHOTOMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF SUGAR

J. Holló and J. Szejtli

The authors reduce an alkaline cupric complex with the sugar in question and determine the superfluous cupric complex photometrically. Owing to its rapidity the method is especially advantageous for serial analysis.