



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny

CHEMIA ŻYWNOSTCI



Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

**Centrum Bioimmobilizacji
i Innowacyjnych
Materiałów Opakowaniowych**

ul. Klemensa Janickiego 35

71-270 Szczecin



ĆWICZENIE 7.

Oznaczanie zawartości wody

1. Fizyczne i chemiczne właściwości wody

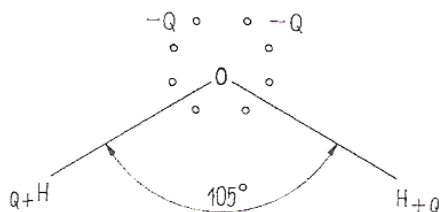
Zarówno surowce, jak i gotowe produkty żywnościowe zawierają z reguły duże ilości wody. Woda ze względu na jej ilość, jak i właściwości różniące ją od innych składników, jest ważnym czynnikiem wpływającym na zmiany fizyczne, chemiczne i biologiczne żywności, a więc decyduje w dużym stopniu o trwałości produktów spożywczych. Takie specyficzne właściwości fizyczne wody, jak krystalizacja w temp. 0°C, wrzenie w 100°C pod normalnym ciśnieniem, wzrost gęstości przy zmianie temperatury od 0 do +4°C, duże wartości parametrów fizycznych, m.in. stałej dielektrycznej, napięcia powierzchniowego, pojemności cieplnej właściwej, ciepła topnienia i parowania, zdolności rozpuszczania wielu substancji i uwadniania polimerów naturalnych, mają decydujący wpływ na konsystencję, strukturę, cechy reologiczne i wiele innych cech fizycznych i fizykochemicznych surowców, półproduktów i gotowych produktów spożywczych.

Zawartość wody decyduje o szybkości przebiegu wielu reakcji chemicznych w żywności, a w niektórych typach reakcji, np. w hydrolizie, jest ona wprost niezbędna. Bez wody jest również niemożliwe działanie enzymów i rozwój drobnoustrojów.

Specyficzne właściwości wody wynikają z jej budowy. Na szczególną uwagę zasługuje masa cząsteczkowa i jej charakter dipolowy.

Masa cząsteczkowa wody jest mała; małe rozmiary cząsteczek wody (duża objętość molowa), w porównaniu z rozmiarami cząsteczek innych związków chemicznych wchodzących w skład produktów spożywczych, powodują łatwe wnikanie wody między cząsteczki innych związków.

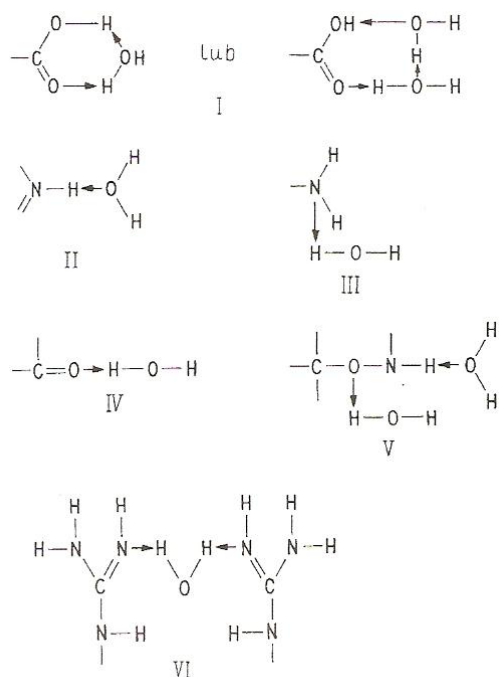
Charakter dipolowy (biegunowy, polarny) cząsteczki wody jest następstwem występowania w niej kowalencyjnych wiązań 2 atomów wodoru z 1 atomem tlenu pod kątem 104,5° oraz dodatniego (+ q) i ujemnego ładunku (- q), które są wywołane przewagą ujemnego ładunku czterech pozostałych własnych elektronów tlenu (rys. 1). Ładunki są rozmieszczone w dość dużej odległości r od siebie, dzięki czemu cząsteczka ma duży i trwały moment dipolowy $\mu = qr$.



Rys. 1. Dipolowy charakter cząsteczki wody (wskutek kowalencyjnych wiązań atomów wodoru z atomem tlenu pod kątem 104,5°) (Pijanowski i in., 2004)

Dzięki obecności ładunków dodatnich i ujemnych woda może tworzyć słabe, lecz ukierunkowane wiązania z innymi cząsteczkami wody oraz z różnymi grupami i wiązaniami chemicznymi, jak grupa karboksylowa, aminowa, amidowa, karbonylowa, guanidynowa, wiązanie peptydowe (rys. 2). Wiązania te noszą nazwę wiązania wodorowego, ich siła jest uzależniona w 90% od przyciągania elektrostatycznego, a w 10% ma charakter kowalencyjny, związany z przenikaniem chmur elektronowych otaczających połączone atomy wodoru i tlenu. Wiązanie wodorowe jest słabsze niż wiązanie zwykłe jonowe lub kowalencyjne, lecz

silniejsze niż siły międzycząsteczkowego przyciągania Van der Waalsa. Energia wiązania wodorowego wynosi ok. 21 kJ/mol, a więc ok. 5-10% w stosunku do energii wiązania chemicznego. Należy podkreślić, że tworzenie wiązań wodorowych nie jest specyficzną cechą wody, lecz atomu wodoru wykazującego powinowactwo do takich elektroujemnych atomów, jak azot lub tlen, dzielących swe elektrony z wodorem. Wiązanie wodorowe polega na oscylacji jądra atomu (jonu wodoru o ładunku +1 albo inaczej protonu) między wymienionymi wyżej grupami chemicznymi (np. karboksylową, imidową itp.). Woda jest podatna na tworzenie wiązań wodorowych, gdyż w jednej jej cząsteczce występują dwa atomy wodoru i dwie wolne pary elektronowe, może więc tworzyć cztery wiązania wodorowe. Wiązania wodorowe, występujące między cząsteczkami wody są przyczyną, dla której woda tylko w stanie pary występuje w postaci wolnych cząsteczek H₂O.



Rys. 2. Wiązanie wody z grupami chemicznymi; *I* – karboksylowymi, *II* – aminowymi, *III* – imidazolowymi, *IV* – karbonylowymi, *V* – peptydowymi, *VI* – guanidynowymi (Pijanowski i in., 2004)

W stanie ciekłym cząsteczki wody są zasocjowane: $x(\text{H}_2\text{O}) = (\text{H}_2\text{O})_x$ (zwykle $x = 6$), a w stanie stałym tworzy tetraedryczną strukturę krystaliczną. Woda w niewielkim stopniu dysocjuje na jony: $2\text{H}_2\text{O} = \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^-$, (H_3O^+ jon hydroniowy). Wiązania wodorowe, występujące między samymi cząsteczkami wody, są słabsze niż między cząsteczkami wody i cząsteczkami innych substancji o charakterze jonowym i polarnym. Siła wiązania wody przez poszczególne substancje jest także różna. Zależy ona od rodzaju i ilości występujących w nich grup jonowych i polarnych, od wielkości ładunku i objętości molowej. Cząsteczki tych związków w środowisku wodnym otaczają się warstwami (płaszczami) wodnymi, przy czym można wyróżnić tu pierwszą monomolekularną warstwę wody, najsilniej związaną przez grupy polarne i jonowe oraz dalsze warstwy związane coraz słabszymi siłami, tzw. wielocząsteczkowe warstwy wody.

Im płaszcz wodny jest większy w stosunku do masy cząsteczki, tym związek jest lepiej rozpuszczalny w wodzie. Substancje odznaczające się znacznym powinowactwem do wody są określane jako hydrofilowe. Związki nie zawierające grup polarnych i zjonizowanych, a więc obojętne w stosunku do dipolowych cząsteczek wody, jak tłuszcze, węglowodory alifatyczne, terpeny, nie przyciągają cząsteczek wody. Są one nierozpuszczalne w wodzie i

noszą nazwę hydrofobowych.

Biopolimery, takie jak białka, pektyny i skrobia, o skomplikowanej strukturze, olbrzymiej powierzchni i zawierające różne grupy funkcyjne tak hydrofilowe jak i hydrofobowe, wykazują szczególnie złożone interakcje z wodą. Energia interakcji między wodą i niepolarnymi grupami, jak np. węglowodorowy łańcuch boczny białek, pochodzi z działania sił dyspersyjnych. Hydrofobowa interakcja niepolarnych grup w roztworach wodnych jest szczególnie interesująca ze względu na zmiany konformacji i agregację niektórych substancji rozpuszczonych w wodzie. W miarę zwiększenia stężenia substancji rozpuszczalnych w wodzie wzrastają siły międzycząsteczkowe wiążące cząsteczki wody i zmieniają się fizyczne właściwości wody, a mianowicie obniża się prężność pary wodnej nad roztworem, obniża się punkt zamarzania, powstaje i zwiększa się ciśnienie osmotyczne roztworu.

Z przedstawionego obrazu wynika, że woda pod względem fizycznym nie stanowi jednorodnej substancji, ale zmienia się głównie na skutek interakcji tak między drobinami wody, jak i drobinami substancji kontaktujących się z wodą.

2. Zawartość wody i zawartość suchej substancji

Zawartość wody w środkach spożywczych waha się od kilku procent do ponad 90% i podlega zmianom w wyniku obróbki technologicznej produktu bądź w czasie jego przechowywania (Tabela 1).

Tabela 1. Zawartość wody w różnych produktach spożywczych (Klepacka, 2005)

Rodzaj produktu	Zawartość wody [%]
Oleje	Śladowe ilości
Masło	16
Produkty zbożowe, mąki	10-20
Pieczyno	30-50
Mięso i produkty mięsne	60-75
Ryby (świeże)	70-80
Owoce i warzywa	80-96
Mleko	85-90
Grzyby (świeże)	90-95

Zawartość wody w produkcie żywnościowym definiowana jest taką ilością wody, którą można w nim oznaczyć przy pomocy dostępnych i właściwych dla danego produktu metod analitycznych.

W surowcach i produktach żywnościowych woda może występować w różnych postaciach, rozróżnia się tzw. wodę wolną i związaną.

- **Woda wolna** stanowi rozpuszczalnik substancji organicznych i mineralnych, wypełnia wolne przestrzenie w materiale i nie podlega zjawiskom kapilarnym, bierze bezpośredni udział w przemianach fizykochemicznych.
- **Woda związana** (wg definicji Femenna) jest to ta część wody, która jest stosunkowo trwale połączona z produktem; zlokalizowana jest w bezpośrednim sąsiedztwie substancji

rozpuszczonych lub zawieszonych, ma zmniejszoną aktywność, odmienne właściwości od pozostałej masy wody zawartej w danym materiale i nie zamarza do temp. -40°C . Woda związana może występować w produkcji jako:

- a. woda higroskopijna (zaadsorbowana), powlekająca cienką warstwą powierzchniowo wolne produktu,
- b. woda kapilarna, występująca w naczyniach włoskowatych i podlegająca zjawiskom kapilarnym,
- c. woda krystalizacyjna,
- d. woda konstytucyjna (związana chemicznie np. koordynacyjnie poprzez grupy polarne koloidów).

Z pojęciem zawartości wody wiąże się nieodłącznie pojęcie suchej substancji (suchej masy). Przez **suchą substancję** danego produktu spożywczego rozumie się pozostałość po usunięciu z niego wody. Pojęcie to jest umowne, gdyż podczas oznaczania suchej substancji powszechnie stosowaną metodą suszenia termicznego usunięte zostają wraz z wodą inne substancje lotne (alkohole, niektóre kwasy, estry itp.) związki termolabilne ulegają rozkładowi (sacharydy), a woda nie jest usuwana w całości.

W praktyce analitycznej często przyjmuje się, że zawartość wody i zawartość suchej substancji wzajemnie się uzupełniają, co można przedstawić za pomocą następujących równań:

- a) zawartość suchej substancji [%] = $100 - \text{zawartość wody w \%}$,
- b) zawartość wody [%] = $100 - \text{zawartość suchej substancji w \%}$.

W analityce rozróżnia się dwa pojęcia dotyczące suchej substancji, a mianowicie suchą substancję całkowitą, otrzymywaną przez suszenie produktów w określonych warunkach oraz suchą substancję rozpuszczalną w wodzie czyli ekstrakt. Natomiast dla **ekstraktu** stosuje się różne określenia:

- a) **Ekstrakt ogólny** – jest to suma rozpuszczalnych w wodzie i nielotnych do temperatury 100°C składników suchej substancji (monosacharydy, oligosacharydy, kwasy organiczne, barwniki, garbniki itp.).
- b) **Ekstrakt pozorny** – odnosi się do produktu zawierającego oprócz ekstraktu ogólnego związki lotne (alkohol etylowy, kwasy lotne) wpływające na wynik pomiaru (np. wino).
- c) **Ekstrakt rzeczywisty** – jest to ekstrakt produktu zawierającego związki lotne mierzony po oddestylowaniu tych związków.
- d) **Ekstrakt bezcukrowy** – stanowi różnicę pomiędzy zawartością ekstraktu ogólnego i sumą cukrów redukujących oraz sacharozy zawartymi w produkcie. Ekstrakt bezcukrowy to przede wszystkim alkohole wyższe (glicerol), kwasy nielotne, garbniki i barwniki.

W skład suchej substancji oprócz ekstraktu wchodzi również **substancje nierozpuszczalne w wodzie**, m.in. celuloza, błonnik, część pektyn, białek i skrobi, stąd po oznaczeniu ekstraktu i części nierozpuszczalnych oblicza się dopiero zawartość suchej substancji i wody w produkcie.

3. Metody oznaczania zawartości wody

Istnieje kilka typów metod oznaczania zawartości wody i suchej substancji w produktach spożywczych:

- a) metody suszenia termicznego w różnych warunkach temperatury i ciśnienia,
- b) metoda destylacji azeotropowej,
- c) metody densymetryczne,
- d) metody refraktometryczne,
- e) metody chemiczne (określenie ilości wydzielonego gazu w reakcji chemicznej lub obliczenie stechiometryczne na podstawie reakcji z określonym odczynnikiem),
- f) pomiar stałej dielektrycznej,
- g) pomiar rezonansu jądrowo-magnetycznego (NMR).

a) Metody suszenia termicznego polegają na usunięciu wody z próbki za pomocą suszenia w podwyższonej temperaturze, pod normalnym lub zmniejszonym ciśnieniem.

W odniesieniu do wielu produktów spożywczych stosuje się suszenie do stałej masy w temp. 100-105°C pod ciśnieniem normalnym. W przypadku niektórych produktów (np. zbóż i przetworów zbożowych) lepszą dokładność i powtarzalność wyników daje suszenie w temp. 130°C w ciągu 60 min. Stosowanie tych ostatnich warunków jest dopuszczalne w odniesieniu do produktów niezawierających związków wrażliwych na podwyższoną temperaturę lub zawierających je w niewielkiej ilości (dotyczy to przede wszystkim monosacharydów). W stosunku do produktów o dużej zawartości związków termolabilnych stosuje się suszenie w warunkach obniżonego ciśnienia w odpowiednio niższej temperaturze lub w temperaturze otoczenia przy jednoczesnym zastosowaniu związków pochłaniających wodę, takich jak np. chlorek wapnia, stężony kwas siarkowy (VI) czy bezwodnik kwasu fosforowego (V).

Pewne produkty zawierające dużą ilość białek, cukrów i dekstryn (np. sery czy mięsa), tworzą w początkowym etapie suszenia błonkę na powierzchni, co może utrudniać, a czasami wręcz uniemożliwiać dalsze odparowanie wody. W takich przypadkach zwiększa się powierzchnię parowania próbki przez zmieszanie jej z odpowiednim sypkim materiałem (najczęściej jest to piasek morski przemyty wodą, kwasem solnym i wyprażony).

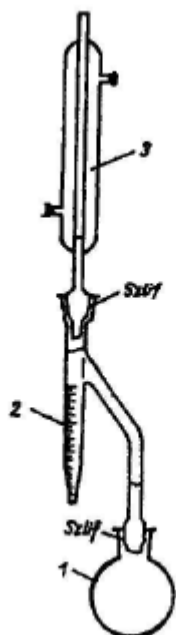
Produkty półpłynne, np. przeciery owocowe i warzywne, suszy się dwustopniowo: wstępnie próbkę podsusza się na wrzącej łaźni wodnej, a następnie umieszcza ją w suszarce w temp. 100°C na 1 godzinę. Oznaczenie daje wyniki zbliżone do suszenia w próżni, która to metoda uważana jest za najbardziej dokładną.

Suszenie produktów płynnych, np. mleka, prowadzi się na zwiniętych paskach bibuły filtracyjnej, celem zwiększenia powierzchni parowania. W tym przypadku suszenie przeprowadza się w ciągu 6 godzin w temp. 60°C, a następnie w 102°C.

W czasie suszenia termicznego z produktu usuwana jest woda wolna i słabo związana, nie usuwa się natomiast wody krystalicznej i związanej chemicznie.

b) Metoda destylacji azeotropowej należy do bezpośrednich metod oznaczania zawartości wody. Polega ona na wydzieleniu wody z badanego materiału na drodze destylacji z cieczami niemieszającymi się z wodą, lecz tworzącymi z nią mieszaniny azeotropowe o punkcie

wrzenia powyżej temperatury 100°C. Oznaczenie przeprowadza się w specjalnych aparatach (Rys. 3), gdzie skroplony w chłodnicy destylat jest odbierany w kalibrowanej probówce, stąd objętość warstwy wodnej odczytuje się bezpośrednio na skali probówki (po rozdzieleniu się destylatu na dwie warstwy).



Rys. 3. Aparat do oznaczania zawartości wody metodą destylacyjną: 1 – kolba destylacyjna, 2 – odbieralnik, 3 – chłodnica zwrotna (Klepacka, 2005)

W metodzie tej stosowane są rozpuszczalniki o gęstości mniejszej od gęstości wody (po skropleniu tworzą warstwę znajdującą się nad warstwą wody) takie jak: toluen $C_6H_5CH_3$ (temp. wrz. 111°C, $d - 0,867 \text{ g/cm}^3$) czy ksylen $CH_3C_6H_4CH_3$ (temp. wrzenia 140°C, $d - 0,862 \text{ g/cm}^3$).

Metoda destylacji azeotropowej jest najbardziej przydatna do oznaczania zawartości wody w produktach nieulegających rozkładowi w temperaturze wrzenia danego rozpuszczalnika oraz niezawierających składników lotnych rozpuszczalnych w wodzie po oddestylowaniu. Badany produkt powinien zawierać nie mniej niż 0,5% i nie więcej niż 40% wody (np. produkty przemiału ziarna zbóż).

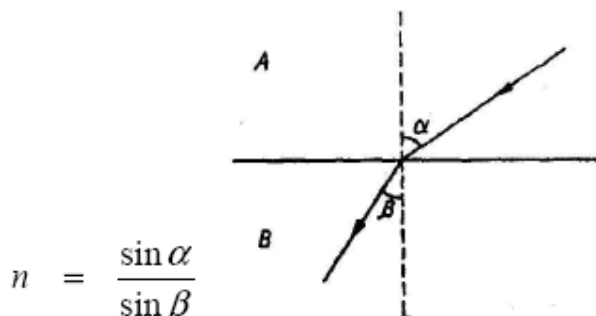
Źródłem błędów w tej metodzie może być niedokładne odczytanie objętości wody w odbieralniku na skutek tworzenia się emulsji rozpuszczalnika z wodą, bądź zatrzymywanie się kropelek wody w górnej części aparatury.

c) Metody densymetryczne polegają na przygotowaniu roztworu podstawowego i oznaczeniu jego gęstości, którą na podstawie specjalnych tablic przelicza się na zawartość ekstraktu. Po oznaczeniu części nierozpuszczalnych w wodzie oblicza się zawartość wody i suchej substancji.

Metody te są stosowane przede wszystkim do tych produktów spożywczych, w których jeden składnik (np. sacharydy) może występować w różnych ilościach (np. dżemy, marmolady, miody itp.).

d) Metody refraktometryczne opierają się na pomiarze współczynnika załamania światła (refrakcji). Współczynnik załamania światła stanowi stosunek prędkości światła w dwóch środowiskach o różnych właściwościach optycznych i jest równy liczbowo stosunkowi sinusów kątów, które tworzą promienie padający i załamany z normalną do powierzchni granicznej tych środowisk (Rys. 4). Wartość współczynnika załamania światła zależy od długości fali padającego światła, rodzaju substancji i jej stężenia w badanym roztworze.

Odczytu ekstraktu dokonuje się na skali „cukrowej” refraktometru (jako procentowa zawartość ekstraktu) lub na skali podającej wartości współczynnika załamania światła. Pomiar przeprowadza się w określonej temperaturze lub uwzględnia odpowiednią poprawkę.



Rys. 4. Załamanie promienia świetlnego na granicy dwóch ośrodków: n – współczynnik refrakcji, α – kąt padania, β – kąt załamania, A – środowisko optycznie rzadsze, B – środowisko optycznie gęstsze; (Klepcka, 2005).

Metody refraktometryczne są stosowane głównie do oznaczania zawartości ekstraktu w przetworach owocowych (soki, marmolady, dżemy) i warzywnych (soki i koncentraty). Niektóre typy refraktometrów mają dwie skale, z których jedna podaje wartości współczynnika załamania światła, a druga, tzw. skala cukrowa, procentową zawartość ekstraktu. W takich przypadkach można dokonać odczytu współczynnika refrakcji, który za pomocą odpowiednich wzorów lub tabel zamienia się na suchą masę.

e) Metody chemiczne umożliwiają oznaczenie całkowitej ilości wody, zarówno wolnej jak i związanej. Do oznaczeń w produktach żywnościowych stosowane są głównie dwie metody: metodę Karla-Fishera oraz metodę z węglikiem wapnia.

- **Metoda Karla-Fischera** – oznaczenie polega na bezpośrednim miareczkowaniu metanolowego roztworu próbki badanego produktu odczynnikiem Fischera (metanolowy roztwór jodu, tlenku siarki (IV) i pirydyny) i obliczeniu procentowej zawartości wody na podstawie objętości odczynnika Fischera zużytego w trakcie miareczkowania. Warunkiem uzyskania prawidłowego wyniku jest nieobecność w produkcie innych substancji mogących reagować ze składnikami odczynnika Fischera adsorbującymi jod. Metoda Fischera należy do bardzo dokładnych metod i nadaje się do oznaczania zawartości wody w produktach zawierających jej stosunkowo niewiele, np. w suszach.
- **Metoda z węglikiem wapnia** – polega na pomiarze ilości wydzielonego acetyleny w reakcji węgliku wapnia (CaC_2) z wodą: $\text{CaC}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca(OH)}_2 + \text{C}_2\text{H}_2$

f) Metoda dielektryczna oznaczania zawartości wody wykorzystuje zależność istniejącą między stałą dielektryczną substancji (pojemnością elektryczną kondensatora) a zawartością wody w badanym produkcie. Polega ona na pomiarze pojemności elektrycznej kondensatora z badaną próbką umieszczoną między jego okładkami.

g) Metoda rezonansu jądrowo-magnetycznego (NMR) wykorzystuje zjawisko pochłaniania energii pola elektromagnetycznego z zakresu fal radiowych przez jądra atomów wodoru wody znajdującej się w badanym materiale.

Metoda charakteryzuje się dużą dokładnością i powtarzalnością wyników, nadaje się do oznaczeń w zakresie od 3 do 100% zawartości wody.

Zadanie 1. Oznaczanie wilgotności mąki metodą suszenia w temperaturze 130°C.

Zasada metody

Metoda polega na odparowaniu wody z próbki produktu w procesie suszenia i wagowym określeniu pozostałości (suchej substancji).

Wykonanie oznaczenia

Szalkę wykonaną z folii aluminiowej zważyć na wadze technicznej z dokładnością do 0,01 g. Następnie w szalce tej odważyć 5 g próbki mąki (zważonej z dokładnością do 0,01 g). Całość zważyć ponownie, a następnie umieścić w suszarce o temp. 130°C. Łączny czas oznaczenia powinien wynosić 60 minut, natomiast co 10 minut należy wyjmować próbkę z suszarki i ważyć ją (wraz z szalką) z dokładnością 0,01 g (próbkę należy zważyć po 10, 20, 30, 40, 50 i 60 minutach).

Opracowanie wyników

1. Obliczyć procentową zawartość suchej substancji (suchej masy) i wody (wilgotności) w badanej mące po 10, 20, 30, 40, 50 i 60 minutach suszenia.

Wilgotność oblicza się w procentach według wzoru:

$$W = \frac{(b - c) \cdot 100}{b - a}$$

gdzie: a – masa szalki (w g),

b – masa szalki z naważką mąki (w g),

c – masa szalki z naważką mąki po wysuszeniu (w g).

2. Sporządzić wykres zmian zawartości wody w badanym produkcie w czasie suszenia.

Interpretacja wyników

Uzyskany wynik odnieść do norm. Górna granica wilgotności dla wszystkich typów mąki wynosi 15%; wyjątek stanowi mąka krupczatka, która może zawierać do 15,3% wody.

Zadanie 2. Oznaczanie wilgotności pieczywa metodą suszenia w temperaturze 130°C.

Zasada metody

Oznaczenie polega na określeniu masy próbki przed suszeniem i po suszeniu w suszarce w temperaturze 130 °C.

Wykonanie oznaczenia

Pobrać miękisz ze środkowej części pieczywa (oddalonej o ok. 1 cm od skórki). Miękisz pokroić w kostkę. Szalkę wykonaną z folii aluminiowej zważyć na wadze technicznej z dokładnością do 0,001 g, a następnie w szalce tej odważyć 5 g miękiszu (z tą samą dokładnością). Całość zważyć ponownie, a następnie umieścić w suszarce o temp. 130°C. Łączny czas oznaczenia powinien wynosić 60 minut, natomiast co 10 minut należy wyjmować próbkę z suszarki i ważyć ją (wraz z szalką) z dokładnością 0,001 g (próbkę należy zważyć po 10, 20, 30, 40, 50 i 60 minutach).

Opracowanie wyników należy przeprowadzić analogicznie jak w Zadaniu nr 1.