

A
6
B
50

Stamboeknr: 3304

6403 + 6410 + 6415: 53

STICHTING PROEFSTATION VOOR TUINBOUW ONDER GLAS te NAALDWIJK

DE ANALYSE VAN SUIKER EN ZUUR IN TOMATEN

STICHTING
PROEFSTATION VOOR TUINBOUW
ONDER GLAS te NAALDWIJK

S.S. de Bes

Internverslag nr. 22

juni 1982

224 3756

Inhoud

	pagina
1.0 Inleiding	1
2.0 Onderzoek	1
2.1 suiker	1
2.2 titreerbaar zuur	2
3.0 Samenvatting	4
4.0 Nabeschouwing	4
Literatuur	5
Bijlage 1 t/m 3	

1.0 Inleiding:

In het kader van het kwaliteitsonderzoek dat bij het Proefstation door de afdeling Teelt en kasklimaat wordt verricht is er belangstelling voor de analyse van suiker en zuur in tomaten.

Het is gebleken dat een hoog suiker- en zuurgehalte samen gaan met een betere smaak van de tomaten. (Proefstation, 1980) Thans wordt onderzoek verricht naar factoren welke het suiker- en zuurgehalte kunnen beïnvloeden. De invloed van het bemestingsniveau, kasklimaat en pluk- en bewaarmethoden worden hierbij nagegaan. Voorheen zijn de analyses van suiker en zuur verricht door het Sprenger Instituut te Wageningen. Uit een oogpunt van kosten- en tijdbesparing is het researchlaboratorium verzocht om deze analyses te gaan verzorgen. Het laboratorium beschikt over voorschriften volgens welke in het verleden suiker is bepaald (v.d. Ende, 1965). Deze suikerbepaling vindt plaats volgens de methode "Luff" en is zeer tijdrovend. Bij het Sprenger Instituut gebruikt men een refraktometrische methode (Schijvens, 1982). Het gehalte aan titreerbaar zuur wordt bepaald door middel van titratie met NaOH 0,1 M tot pH=8,1. Zowel voor de refraktometrische suikerbepaling (NEN 2838 en ISO-2173) alsmede voor de zuurbepaling (ISO 750) zijn normvoorschriften opgesteld.

In dit verslag zijn de door het researchlaboratorium opgedane ervaringen beschreven welke volgens de methoden van het Sprenger Instituut zijn verkregen. De aangebrachte aanpassingen aan de omstandigheden op het researchlaboratorium zijn opgenomen in de bijgevoegde analysevoorschriften.

2.0 Onderzoek

Het onderzoek is gezien het feit dat er normvoorschriften bestaan, beperkt tot het nawerken van de methoden zoals deze door het Sprenger Instituut worden toegepast. (Schijvens, 1982) De voorbereiding is uiterst eenvoudig. De te analyseren monsters worden in een mixer-blender vermalen tot moes. De analyses op suiker en zuur worden direkt in het moes verricht. Deze voorbereiding is eenvoudig en snel uit te voeren. Er kan worden volstaan met het mixen van de verse vruchten (de grotere vruchten eerst in stukken snijden) gedurende ongeveer ½ minuut.

2.1 Suiker

De refraktometermethode is eenvoudig uitvoerbaar en vindt zijn toepassing bij het onderzoek van opgeloste produkten uit groente of fruit, mits er uitsluitend water en/of alcohol als oplosmiddelen zijn gebruikt. De brekingsindex van het te analyseren produkt wordt via een tabel vergeleken met die saccharosekoncentratie in gewichtspercenten welke dezelfde brekingsindex zou hebben als deze uitsluitend in water zou zijn opgelost. Aangezien het denkbaar is dat de te onderzoeken produkten meerdere stoffen bevatten welke een bijdrage aan de brekingsindex zou kunnen leveren, spreekt men van de bepaling van opgeloste vaste stof uitgedrukt als het gewichtspercentage aan saccharose (NEN 2838, 1973).

De meeste refraktometers hebben naast een brekingsindexschaal eveneens een suikerschaal. Hierop zijn de percentages aan opgeloste vaste stof (suiker) direkt af te lezen, mits er bij $20 \pm 0,5$ °C wordt gemeten. De Abbe-refraktometer, model G bevat eveneens deze schaal (Jenoptik, 1967). Instelling van de refraktometer op brekingsindex $n_D^{20} = 1,3330$ voor gedestilleerd water, dient als ijking van het instrument. Vervolgens is het uit een oogpunt van efficiëntie, voor de hand liggend om te meten bij een konstante temperatuur van $20 \pm 0,5$ °C, door middel van aansluiting van de

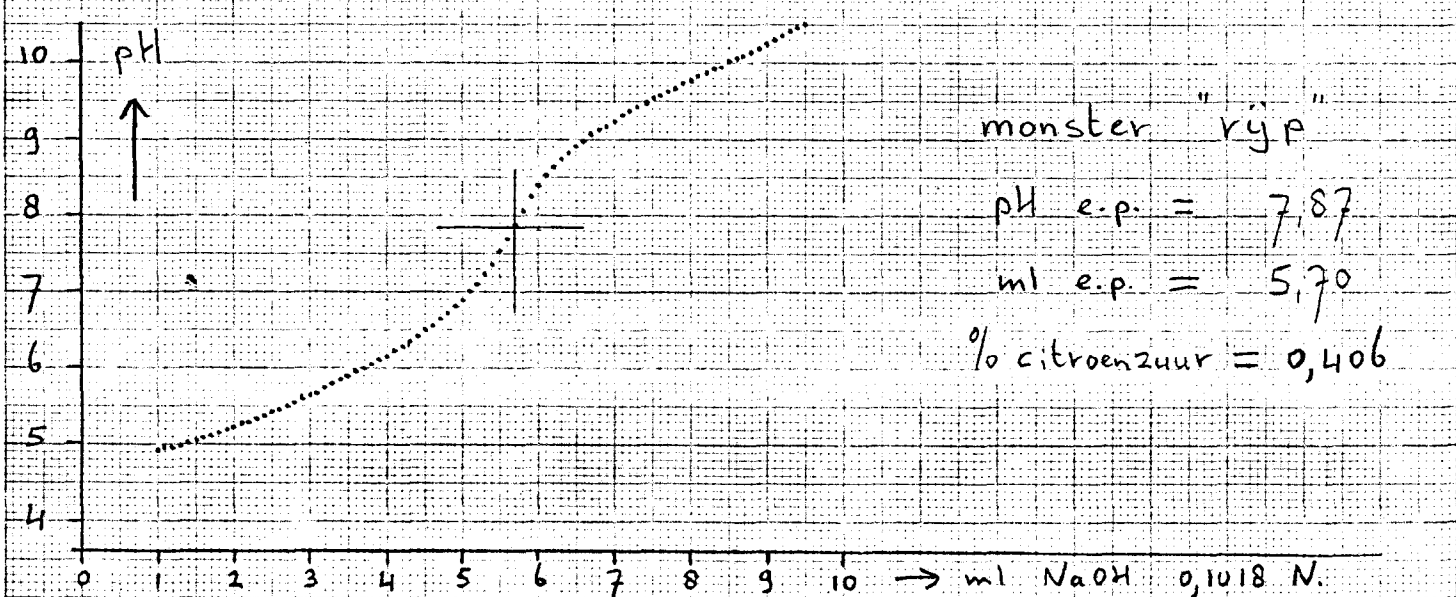
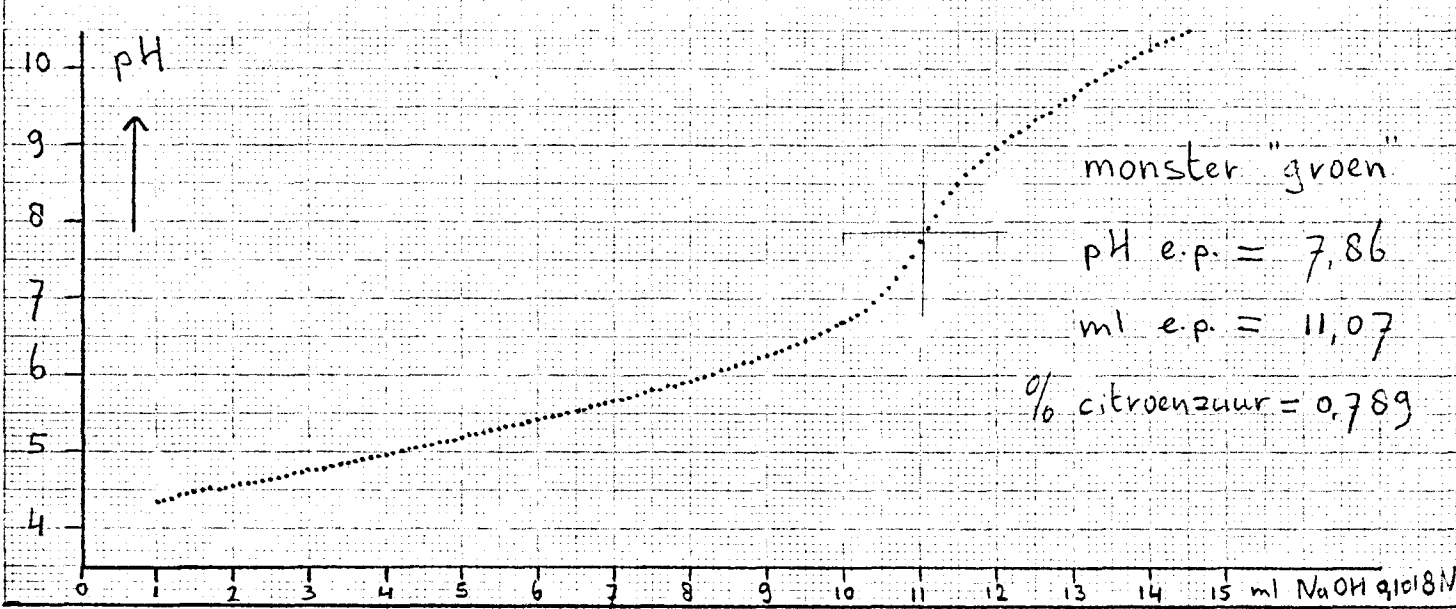
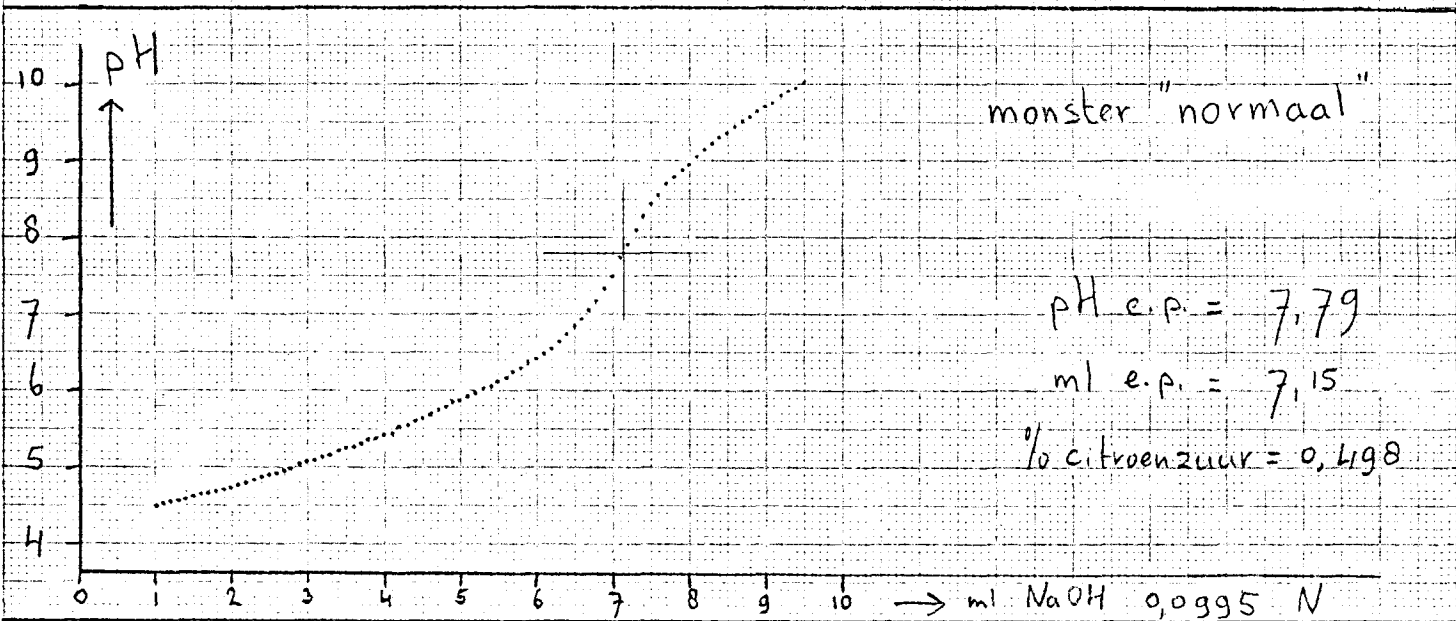
refraktometer op een thermostaatbad. Indien deze voorziening niet kan worden aangetroffen is het verrichten van een manuele temperatuurcorrectie noodzakelijk. Bij meettemperaturen < 20 °C moet er op de gevonden gewichtspercentages een correctiewaarde in mindering worden gebracht welke afhankelijk is van de temperatuur en het gemeten gewichtspercentage. Bij meettemperaturen > 20 °C moet er een gelijksoortige correctiewaarde worden opgeteld. Hiertoe is een internationaal aanvaarde correctiebabel aan het analysevoorschrift toegevoegd.

Uit ervaringen is gebleken dat direkt meten in het moes weliswaar mogelijk is, maar aanleiding geeft tot onnodig grote variaties in de uitkomsten. Na filtreren onder afzuiging met behulp van büchnertrechters wordt een helder filtraat verkregen. De instelling van de refraktometer (op de kruisdraden) is bij gebruik van filtraat veel scherper dan bij meting van het moes. De resultaten van de metingen in het extrakt stemden in voldoende mate overeen met de resultaten van de metingen in het moes. Het filtreren is in het normvoorschrift zelfs voorgeschreven. De afleesnauwkeurigheid van de refraktometer is volgens de fabrikant niet beter dan $\pm 0,2\%$ suiker. Uit een steekproef van 28 duplowaarnemingen is als standaardafwijking geworden $\pm 0,225\%$ suiker. In het normvoorschrift wordt als duplicerbaarheid $< 0,5\%$ suiker geeist. Na heranalyse van de waarnemingen uit de steekproef met een duploverschil $\geq 0,5\%$ suiker is als standaardafwijking gevonden $\pm 0,142\%$ suiker. Het niveau van de suikergehalten in de onderzochte monsters varieerde van 4,0% tot 5,5% suiker. De analysefout is vastgesteld met in achtneming van de meetprocedure, welke in het analysevoorschrift is vastgesteld, zonder gebruikmaking van thermostering. Bij de interpretatie van de resultaten dienen aan onderlinge concentratieverschillen $< 0,5\%$ suiker geen betekenis te worden gehecht. Het voorschrift voor de refraktometrische suikerbepaling is als bijlage 2 in dit verslag opgenomen.

2.2 Titreerbaar Zuur

De bepaling van het zuurgehalte vindt plaats door titratie met natriumhydroxide. Deze titratie kan volgens het internationale normvoorschrift (ISO, 1981) potentiometrisch of met behulp van fenolftaleïne als in dikator worden uitgevoerd. De potentiometrische werkwijze verdient de voorkeur vooral in die gevallen waarin de te onderzoeken produkten meer of minder rood gekleurd zijn. Als eindpunt van de titratie wordt een pH-waarde = $8,1 \pm 0,2$ in het normvoorschrift gehanteerd. Vaststelling van een dergelijk eindpunt kan snel en nauwkeurig worden bereikt met behulp van een eindpuntstimator. Een pH = 8,1 als eindpunt van de titratie blijkt in de praktijk niet vaak overeen te stemmen met de pH in het equivalentiepunt van de titratie. In 1965 zijn door het researchlaboratorium zuurtitraties verricht in het perssap van tomatenvruchten. In bijlage 1 zijn hiervan enkele voorbeelden opgenomen. Het blijkt dat de pH-waarden in de equivalentiepunten destijds varieerden van pH = 7,65 tot pH = 8,10. In figuur 1 zijn een drietal gedetailleerde titratiecurven opgenomen van zuurtitraties in het moes van tomatenvruchten welke verschilden in rijpheid. De gevonden pH-waarden in de equivalentiepunten, vastgesteld met behulp van de tweede afgeleide, blijken niet afhankelijk van de zuurconcentratie. Als gemiddelde pH-waarde van de drie equivalentiepunten is gevonden pH = 7,84, hetgeen ook weer lager is dan het vastgestelde eindpunt pH = 8,1. Uit een steekproef van 28 titraties, waarbij iets minder gedetailleerde titratiecurven zijn opgenomen, is als gemiddelde pH-waarde van het equivalentiepunt een pH = $7,92 \pm 0,11$ gevonden. Als uiterste waarden zijn hierbij gevonden pH = 7,60 en pH = 8,14. De variatie in equivalentiepunten van de verschillende monsters ligt in dezelfde orde van grootte als de variatie in equivalentiepunten van duplotitraties. Steeds blijkt het gemiddelde equivalentiepunt bij een lagere pH te worden gevonden dan pH = 8,1.

Figuur 1: Titratiekurven van de zuurbepaling in tomaten vruchten. (10 gram moes in 25 ml H₂O)



Waarschijnlijk is er daarom een marge in de eindpuntvaststelling van 0,2 pH-eenheden in het normvoorschrift toegestaan.

Voorts gaat het normvoorschrift uit van titraties welke worden verricht nadat het te analyseren produkt gedurende 30 minuten op een kokende waterbad onder reflux is verwarmd. Vervolgens wordt na verdunning en filtratie de titratie verricht. Het Sprenger Instituut titreert direkt in het moes zonder vooraf te koken. Uit oogpunt van efficiëntie en daardoor ook uit kostenoverweging is deze handelwijze goed te verdedigen. Mede gezien de aard van de te onderzoeken produkten kan met het verdunnen alleen worden volstaan, teneinde een goed werkbaar (titreer)-medium te verkrijgen. In het verleden is reeds vastgesteld dat het centrifugeren van het perssap geen enkele invloed op de analyseresultaten veroorzaakt. Het filtreren, zoals in het normvoorschrift wordt beschreven, kan derhalve achterwege blijven. Deze geringe afwijkingen van het normvoorschrift besparen relatief veel tijd en zullen bij konsekwentie toepassing op het resultaat van de onderzoeken nauwelijks invloed kunnen hebben omdat er steeds dezelfde werkwijze op één soort van produkt wordt toegepast.

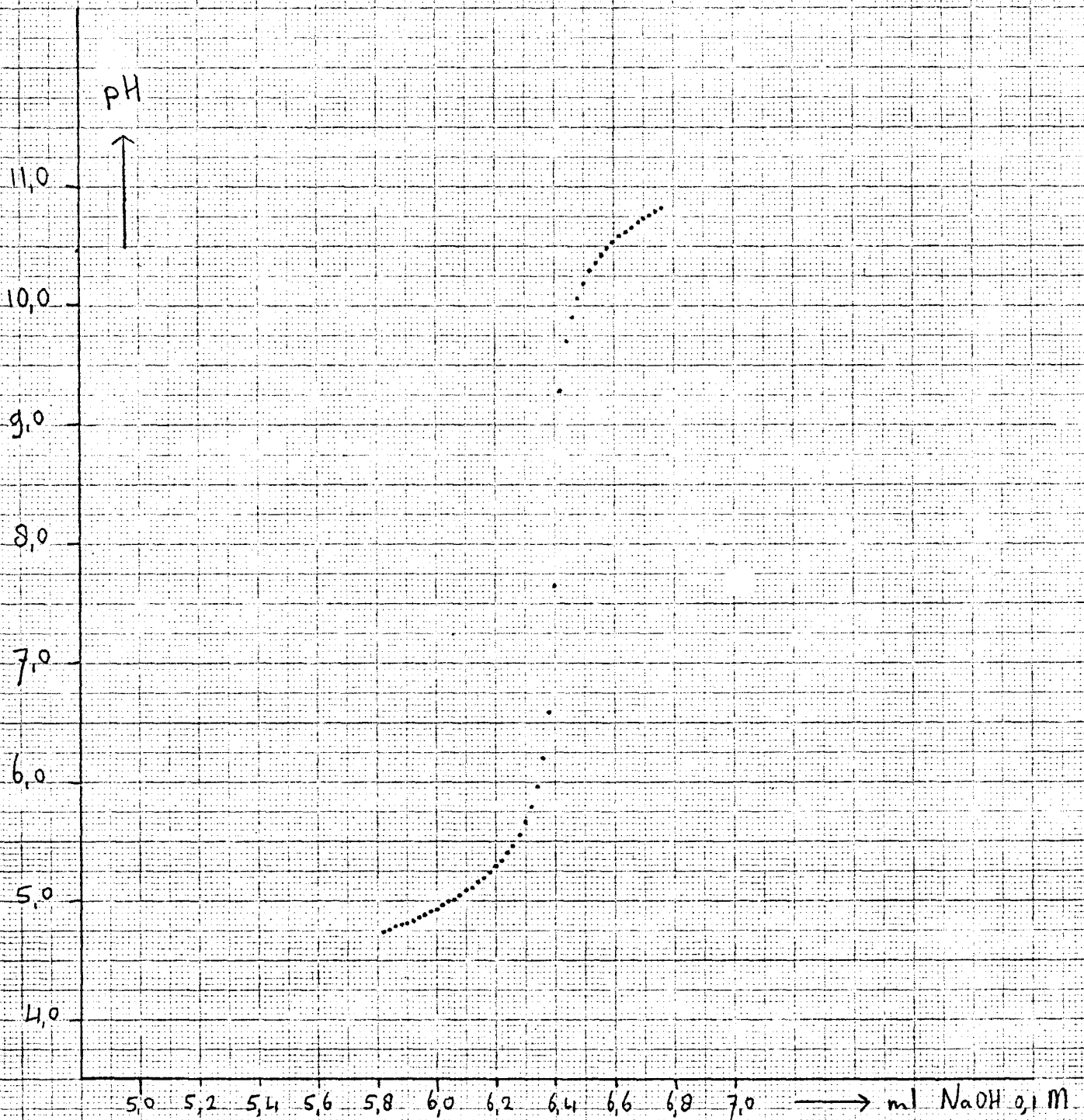
Teneinde routinematig zuur te bepalen in tomatenvruchten kan er direkt een hoeveelheid vers moes worden afgewogen en potentiometrisch worden getitreerd tot pH = 8,10 na aanlenging met gedemineraliseerd water. De titratie dient wel zo snel mogelijk na het bereiden van het moes te worden verricht. Het bewaren van het moes moet worden gezien als het verlengen van de rijpingstijd, waarvan de gevolgen juist door middel van het onderzoek zullen worden vastgesteld. Het ligt voor de hand dat er tijdig overleg moet worden gevoerd tussen de onderzoeker en het laboratorium als er in het kader van het kwaliteitsonderzoek op een bepaald tijdstip moet worden geanalyseerd. Evenzo is het van belang om het analysetijdstip bij het weergeven van de resultaten te vermelden.

De concentraties aan titreerbaar zuur kunnen op diverse wijzen worden uitgedrukt. Het normvoorschrift vermeldt als uitdrukkingswijzen; mmol H⁺ per 100 gram produkt of percentage zuur, waarbij een keuzemogelijkheid wordt aangeboden welk zuur er bij de uitdrukking van de resultaten wordt gebruikt. Door de desbetreffende onderzoekers is de voorkeur gegeven aan het uitdrukken van het titreerbaar zuur in procenten citroenzuurmonohydraat.

De duplicieerbaarheid van de methode is nagegaan door 64 monsters kort achtereenvolgens in duplo te analyseren. Na heranalyse van de uitschieters is als gemiddelde 0,564 % citroenzuur gevonden. De standaardafwijking berekend uit de duplowaarnemingen is 0,0050% citroenzuur (v.c. = 0,89%). Hieruit valt af te leiden dat het toegestane verschil tussen duplowaarnemingen maximaal 0,015% citroenzuur mag bedragen. Dit stemt in redelijke mate overeen met hetgeen in het normvoorschrift over de duplicieerbaarheid is opgenomen. De norm stelt een maximaal toelaatbaar verschil tussen twee duplo's vast, welke gelijk is aan 2% van het gemiddelde van deze duplowaarnemingen. De praktische toepassing van een 3 s-grens betekent dat, er globaal een analysefout van ongeveer 3% (relatief) wordt gemaakt. Het opgeven van de gemiddelde analyseresultaten in twee decimalen blijkt om deze reden voldoende nauwkeurig.

De te gebruiken NaOH-oplossing heeft als concentratie ongeveer 0,1 mol NaOH per liter. De titer van deze oplossing wordt bepaald door titratie van oxaalzuur. Van der Linden (1963) gebruikt hierbij fenolftaleïne als indikator. Een potentiometrische titratie is eveneens mogelijk. In figuur 2 is een titratiecurve gekonstrueerd. Het equivalentiepunt wordt bepaald met behulp van de tweede afgeleide. Door 40 mg (COOH)₂·2H₂O te titreren wordt er ongeveer 6,4 ml NaOH ± 0,1 M verbruikt. Voorschriften voor het bepalen van de concentratie aan titreerbaar zuur en het stellen van de NaOH-oplossing zijn in bijlage 3 in dit verslag opgenomen.

Figuur 2: Titratiecurve van 40,0 mg $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
met $\text{NaOH} \pm 0,1 \text{ M}$.



ml NaOH in equivalentie punt: 6,41 ml

gevonden titer NaOH = 0,0991

3.0 Samenvatting

In het kader van het kwaliteitsonderzoek zoals dit door de afdeling Teelt en kasklimaat wordt verricht is de behoefte ontstaan aan de analyse van suiker en titreerbaar zuur in tomatenvruchten. Voorschriften voor deze analyses zijn opgesteld aan de hand van bestaande normvoorschriften. De refraktometrische suikerbepaling en de potentiometrische zuurbepaling zijn met ingang van 1 juni 1982 aan het analysepakket van het researchlaboratorium toegevoegd.

4.0 Nabeschuwing

Uit de resultaten van het kwaliteitsonderzoek zal moeten blijken in hoeverre de in dit verslag vermelde analysemethoden blijken te voldoen. De suikerbepaling is weinig specifiek. Het is niet ondenkbaar dat in de toekomst de verkregen resultaten als te summier zullen worden beschouwd. In dit verband zou kunnen worden verondersteld dat de behoefte aan een meer gedifferentieerde suikerbepaling zal toenemen. Het is daarom van belang om het bestaan van andere analysemethoden te noemen. Bekend is de chemische suikerbepaling volgens Luff. Daarnaast is het mogelijk om diverse suikers te bepalen door middel van HPLC. Ook voor het eventueel afzonderlijk bepalen van organische zuren biedt de HPLC-techniek perspectief. Aangezien er bij het researchlaboratorium geen ervaring hiermee is, zal er eventueel te zijner tijd in ruime mate onderzoek naar de toepassingsmogelijkheden moeten worden verricht.

De in dit verslag beschreven voorschriften zijn weliswaar gebaseerd op het analyseren van tomatenvruchten, maar het principe van de methoden is dermate algemeen dat toepassing op andere produkten nauwelijks problemen behoeft te geven. Hierbij kan worden gedacht aan het onderzoek van bijvoorbeeld meloen e.d. Zowel de potentiometrische zuurbepaling alsmede de daarbij behorende titerstelling van het te gebruiken NaOH, kunnen in redelijke mate worden geautomatiseerd, indien de omvang van het onderzoek belangrijke vormen gaat aannemen. Het researchlaboratorium beschikt hiertoe over een mikro-computer-gestuurd titratiesysteem. Te zijner tijd zullen er voorschriften worden opgesteld waarin deze automatisering zal zijn bewerkstelligd.

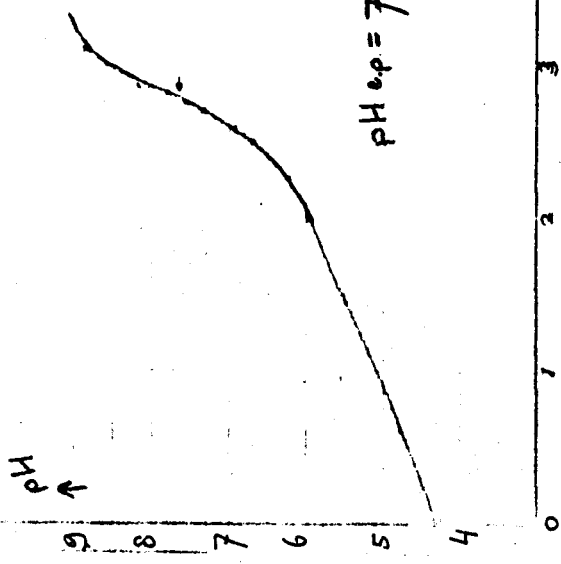
Literatuur

- Ende, M.v.d., 1965
Suikerbepaling in sap van tomaten-stengels. Proefstation voor Tuinbouw onder Glas. Voorlopig rapport.
- Proefstation voor Tuinbouw onder Glas, 1980 Jaarverslag.
- Jenoptik Jena, 1967
Gebrauchanleitung Abbe-Refraktometer Modell G.
- Schijvens, Ir. L.P.H.M., 1982
mondelijke informatie
- NEN 2838, september 1973
Bepaling van het gehalte aan in water opgeloste vaste stof volgens de refractometermethode.
Nederlands Normalisatie-instituut, normcommissie 37003.
- ISO 750 - 1981 (E)
Fruit and vegetable products - Determination of titratable acidity.
- Linden, P.C. van der - en J. Visser, 1963
Handboek voor de opleiding van leerling-analist 3e druk.

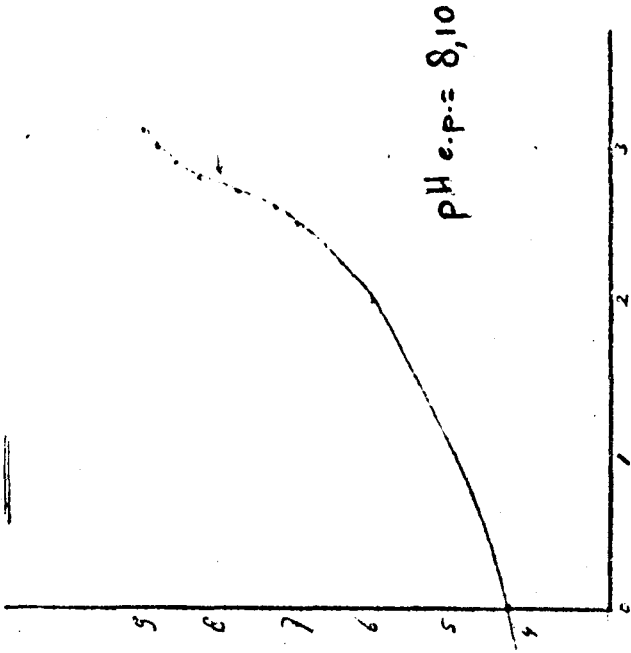
Bijlage 1

nr 1.

pH ↑



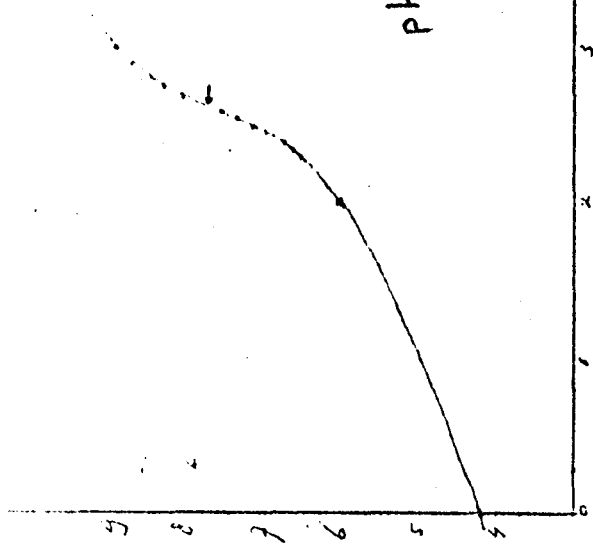
nr 2



pH e.p. = 8,10

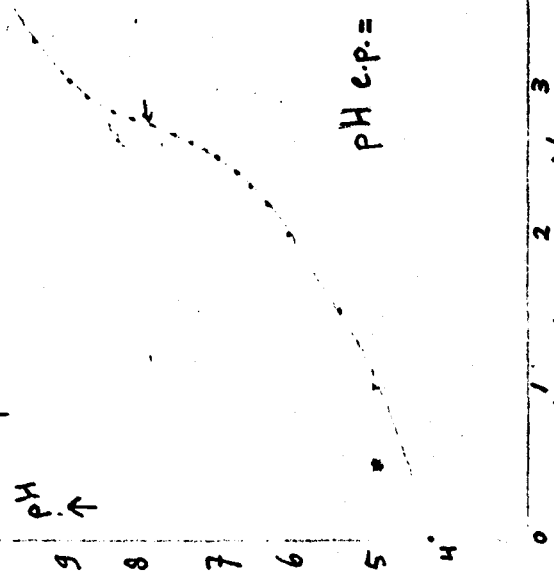
pH e.p. = 7,7

nr 3



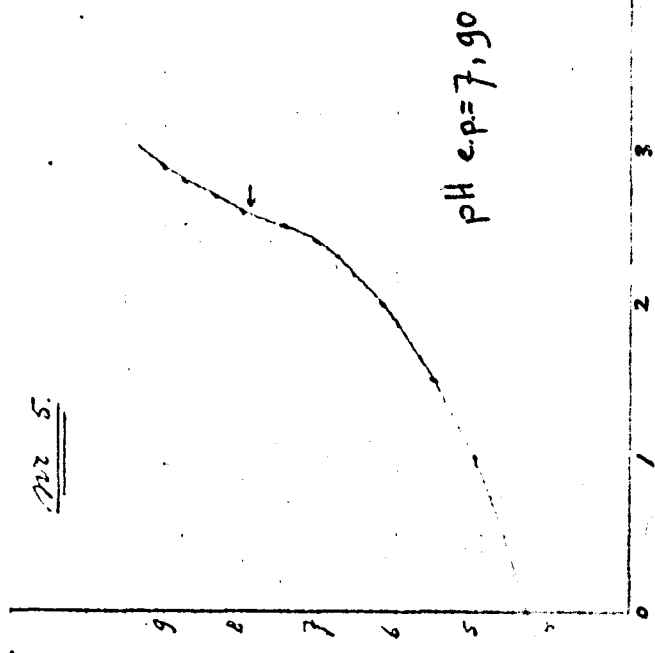
nr 4

pH ↑



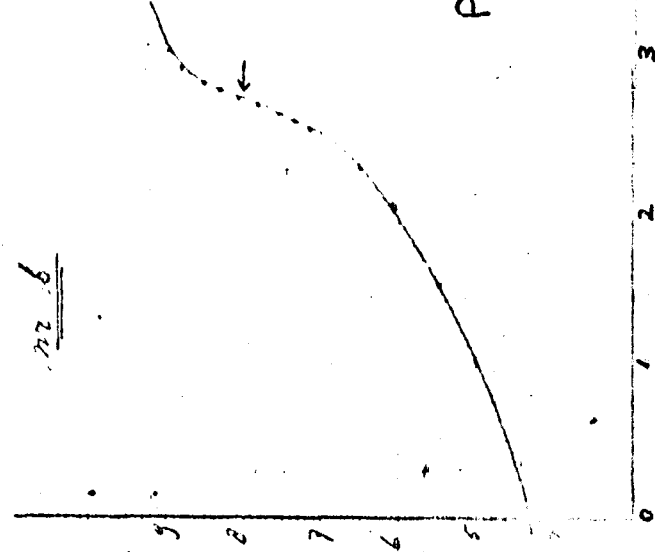
pH e.p. = 7,90

nr 5.



pH e.p. = 7,90

nr 6



pH e.p. = 8,00

→ ml NaOH 0,1 N

REFRAKTOMERISCHE SUIKERBEPALING (in tomaat)Apparatuur:

Mixer-blender: fabriekaat Moulinex. Büchner trechters en Afzuigerlenmeijers; filterpapier; Schut RF/VF 215 of Whatman 540. Refraktometer; Jenoptik modell G; volgens Abbe Thermostaatbad; instelbaar op $20 \pm 0,5$ °C.

Reagentia:

Ethanol; 96% gedenatureerd.

Uitvoering van de bepaling:

Snij de te analyseren tomaten in partjes en mix deze gedurende ongeveer 15 à 30 seconden in de blender totdat er een homogeen moes is ontstaan. Filtreer een zodanige hoeveelheid van het moes over filterpapier in een büchnertrechter dat er ongeveer 20 ml helder sap wordt verkregen. Bepaal in het sap de concentratie aan opgeloste vaste stof met behulp van de refraktometer welke is gekoppeld aan een thermostaatbad welke is ingesteld op 20 °C. Maak de prisma's voor elke meting goed schoon met ethanol en met ged. H₂O. Drogen met een tissue en stofvrij maken met lenzenpapier. IJk de refraktometer door deze in te stellen met ged. H₂O op $n_D = 1,3330$ of 0 % suiker. Breng enkele druppels van het te onderzoeken sap op het meetprisma. Lees het percentage suiker, in 1 decimaal af op de afleesschaal. Noteer de temperatuur wanneer deze afwijkt van 20 °C herhaal de ijking na elk monster.

Berekening:

De aflezing van de refraktometer in % bij 20 °C geeft direkt het percentage suiker weer.

Bij afwijkende temperaturen moet worden gecorrigeerd volgens onderstaande tabel.

temperatuur in °C	korrektie in % - suiker bij een drogestofgehalte van:				
	0%	5%	10%	15%	20%
15	- 0,27	- 0,29	- 0,31	- 0,33	- 0,34
16	- 0,22	- 0,24	- 0,25	- 0,26	- 0,27
17	- 0,17	- 0,18	- 0,19	- 0,20	- 0,21
18	- 0,12	- 0,13	- 0,13	- 0,14	- 0,14
19	- 0,06	- 0,06	- 0,06	- 0,07	- 0,07
20	0	0	0	0	0
21	+ 0,06	+ 0,07	+ 0,07	+ 0,07	+ 0,07
22	+ 0,13	+ 0,13	+ 0,14	+ 0,14	+ 0,15
23	+ 0,19	+ 0,20	+ 0,21	+ 0,22	+ 0,22
24	+ 0,26	+ 0,27	+ 0,28	+ 0,29	+ 0,30
25	+ 0,33	+ 0,35	+ 0,36	+ 0,37	+ 0,38
26	+ 0,40	+ 0,42	+ 0,43	+ 0,44	+ 0,45
27	+ 0,48	+ 0,50	+ 0,52	+ 0,53	+ 0,54
28	+ 0,56	+ 0,57	+ 0,60	+ 0,61	+ 0,62
29	+ 0,64	+ 0,66	+ 0,68	+ 0,69	+ 0,71
30	+ 0,72	+ 0,74	+ 0,77	+ 0,78	+ 0,79

Maximaal toelaatbaar verschil tussen duploaarnemingen: 0,50 % suiker.
De gemiddelde resultaten opgeven op 0,1 % suiker nauwkeurig.

TITRIMETRISCHE ZUURBEPALING (in tomaat)Apparatuur

Mixer-blender; fabrikaat Moulinex

Bekerglazen ; 100 ml

Eindpunttitrator; fabrikaat Metrohm; type E 526 waaraan gekoppeld een
automatische motorburet fabrikaat Metrohm type E 538/3Reagentia

Natriumhydroxyde; 0,1 M

Los 40 gram NaOH op in 1,0 liter ged. H₂O. Stel de titer van deze oplossing
volgens het voorschrift "Titerstelling NaOH 0,1 M" t.o.v. oxaalzuur.Uitvoering van de bepaling:Snij de te onderzoeken tomaten in partjes en mix deze gedurende ongeveer
15 à 30 seconden in de blender totdat er een homogeen moes is ontstaanWeeg 10,0 gram moes af in een bekersglas van 100 ml en voeg 40 ml ged. H₂O toe.

Titreer het verdunde moes met NaOH 0,1 M tot pH = 8,10 m.b.v. eindpunttitrator.

Berekening:

De gemiddelde analyseresultaten opgeven op 0,01 % citroenzuur nauwkeurig.

Vermenigvuldiging van de getitreerde ml's NaOH 0,1 M met:

titer NaOH x 0,70 = % citroenzuur.

N.B. Vermeld bij de analyseresultaten altijd de analysedatum .

Titerstelling NaOH 0,1 M

t.o.v. oxaalzuur - potentiometrisch via titratiekurve.

Weeg ca. 1,0 gram (COOH)₂ · 2 H₂O p.a. nauwkeurig afLos op tot 250,0 ml in ged. H₂O Pipetteer 10,0 ml hiervan in bekersglas
van 100 ml en vul aan met ged. H₂O tot ca. 50 ml.

Titreer met de te stellen NaOH- oplossing onder permanente pH-meting.

Konstrueer een titratiekurve (in duplo).

Bepaal het getitreerde volume in het equivalentiepunt volgens de methode van
de tweede afgeleide. Titreer tussen 0,5 ml voor en 0,5 ml na het equivalentie-
punt in stapjes van maximaal 0,02 ml. Het equivalentiepunt ligt bij ongeveer
6,4 ml NaOH ± 0,1 M.Berekening

$$\text{titer NaOH} = \frac{40 \times A}{V \times 63,0}$$

waarin: A = grammen oxaalzuur afgewogen

V = ml NaOH getitreerd.

Geef de gemiddelde titer op tot 0,0001 mol per liter nauwkeurig.