



CALITATEA NUTRIȚIONALĂ A PRODUSELOR HORTICOLE

Metode de laborator pentru analiza
calității nutriționale.

Modul de formare practică.



UNIVERSITY
OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE
OF BUCHAREST



ЛЕСОТЕХНИЧЕСКИ
УНИВЕРСИТЕТ

MATE



CONTRIBUTORS

USAMV

Liliana BĂDULESCU

Violeta Alexandra ION

Oana-Crina BUJOR

Andreea BARBU

Aurora DOBRIN

Ioana CĂTUNEANU

Monica BADEA



UNIVERSITY
OF AGRONOMIC SCIENCES
AND VETERINARY MEDICINE
OF BUCHAREST

Traducere

Oana VENAT

Editare:

Oana VENAT

Alexandra CORNEA



“The European Commission support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents which reflects the views only of the authors, and the National Agency and Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein”



"Enhancing practical skills of horticulture specialists to better address the demands of the European Green Deal"

Cuprins

Metode de laborator pentru analiza calității nutriționale.
Modul de formare practică.



.....			
Cuprins	6		
Descriptori ai rezultatelor învățării	7		
.....			
Unitatea 1.1: Determinarea substanței uscate	7		
.....			
Unitatea 1.2: Determinarea parametrilor fiziologici ai frunzelor cu ajutorul echipamentului portabil multiparametru LC Pro-SD	13		
.....			
Unitatea 1.3: Determinarea intensității respirației pentru fructe și legume	16		
.....			
Unitatea 1.4: Determinarea intensității transpirației prin metoda cântăririi	19		
.....			
Unitatea 1.5: Determinarea concentrației de pigmenți asimilatori (clorofile și carotenoizi)	21		
.....			
Unitatea 1.6: Determinarea conținutului total de polifenoli folosind metoda Folin - Ciocâlțu	25	•	•
.....		•	•
Unitatea 1.7: Determinarea vitaminei C prin HPLC-DAD	29	•	•
.....		•	•
Unitatea 1.8: Determinarea zaharurilor prin HPLC-RID	34	•	•
.....			
Unitatea 1.9: Determinarea compușilor volatili prin GC-MS	38		
.....			
Unitatea 1.10: Determinarea acizilor grași (saturați și nesaturați) prin GC-MS	42		
.....			
Resurse validate științific	47		
Referințe video	50		

Metode de laborator pentru analiza calității nutriționale

Modul de formare practică

Rezumat



-
-
-
-
-

Modulul de instruire practică este menit să ofere principiile de bază și pregătirea practică necesară realizării analizelor chimice, fizice și fiziologice a probelor de legume și fructe, precum și a unor produse agroalimentare. Modulul va consta din aplicații practice și tehnici de laborator pentru pregătirea probelor, a extracției și analizei acestora, precum și prelucrarea datelor analitice obținute. Acest modul de formare practică cuprinde metode analitice uzuale, dar și metode avansate, care vor completa cunoștințele teoretice ale studenților, masteranzilor și doctoranzilor și totodată le va dezvolta abilitățile practice necesare pentru cercetarea în domeniu.

Descriptori ai rezultatelor învățării

La finalul modulului, cursantul ar trebui să fie capabil să:

- •
- •
- •
- •

Competențe generale și transferabile

1	Pregătirea unui post de lucru pentru o metodă analitică specifică
2	Lucrul în laborator în mod independent sau cu îndrumare minimă, atunci când este necesar
3	Lucrul în echipă cu îndrumare minimă, atunci când este necesar
4	Demonstrarea unor abilități bune de laborator
5	Demonstrarea capacității de a înțelege rezultatele obținute pentru a interpreta informațiile provenite dintr-o varietate de metode analitice

Cunoștințe, înțelegere și competențe profesionale

1	Selectarea metodei analitice adecvate pentru determinarea calității nutriționale la diferite tipuri de fructe
2	Dobândirea cunoștințelor practice privind abordările de laborator utilizând diferite metode de caracterizare
3	Interpretarea unui rezultat pe baza datelor obținute

Unitatea 1. Determinarea substanței uscate

Ioana Cătuneanu,
Andreea Barbu

1.1. Principiul metodei

Această metodă determină umiditatea unei probe, ca procent de pierdere de masă, prin încălzire în anumite condiții, în funcție de natura matricei. Diferența de masă a probei înainte și după procesul de uscare reprezintă cantitatea de apă eliminată, respectiv substanța uscată.

. .
. .
. .
. .

Metoda 1

1.2. Aparatură și reactivi

- ➔ Moară de laborator;
- ➔ Etuvă cu termostat și ventilație, capabilă să mențină o temperatură între 70 °C și 130 °C ± 5 °C;
- ➔ Exsicator cu agent desicant activ;
- ➔ Balanță analitică, cu precizie de ± 1 mg;
- ➔ Tăvițe de sticlă cu capac etanș, astfel încât proba să nu absoarbă umiditate, cu o capacitate între 25 mL și 100 mL;

. .
. .
. .
. .

Metoda 2

- ➔ Moară de laborator;
- ➔ Termobalanță;
- ➔ Tăvi de uscare realizate dintr-un material neabsorbant, precum sticla sau aluminiul.

1.3 Pregătirea probei

• •
• •
• •
• •



- Evitați lăsarea probei în contact prelungit cu atmosfera înconjurătoare;
- Îndepărtați corpurile străine de dimensiuni mari din probă;
- Omogenizați bine proba de laborator înainte de a preleva proba de lucru.



Probe care **nu** necesită măcinare:

Nu este necesară măcinarea produsele care au o distribuție a dimensiunii particulelor similară cu cea prezentată în **Tabelul 1**.

Dimensiunea particulei (mm)	Procent %
< 1.7	100
< 1.0	70
< 0.5	20

Tabel 1. Distribuția dimensiunii particulelor pentru produsele care nu necesită măcinare.

Probe care **necesită** măcinare:

Dacă probele nu respectă caracteristicile dimensiunii particulelor indicate în **Tabelul 1**, acestea trebuie măcinate.

Măcinare

Măcinați rapid o cantitate din probă de laborator, ajustând moara astfel încât să obțineți particule cu dimensiunile indicate în **Tabelul 1**.

1.4. Analiza probei

• •
• •
• •
• •

Condiționarea tăviței de cântărire

Înainte de uscare, tăvița, împreună cu capacul, se aduce la masă constantă. Ulterior, se introduce proba pentru care se determină umiditatea. Acest lucru se realizează prin menținerea tăviței în etuvă la 105 °C (pentru fructe și legume) sau 130 °C (pentru cereale și produse alimentare) timp de 1 oră, urmată de păstrare în exsicator timp de 30 de minute și cântărire ulterioară cu o precizie de 0,001 g.

Se notează masa tăviței goale, împreună cu capacul. Procedura se repetă până la obținerea unei mase constante, considerată atinsă atunci când diferența dintre două cântăriri succesive apare doar la a treia zecimală. Toate valorile de masă se consemnează în registrul de cântărire.

Metoda 1 - Metodă folosind uscarea în etuvă



Cântăriți rapid o cantitate de $5 \pm 0,001$ g din proba de laborator în tăvița de cântărire condiționată (care a fost cântărită anterior).

Notați masa probei de lucru și a tăviței cu capac.

Tăvița deschisă, care conține proba de lucru, se introduce în etuvă, iar capacul se așază alături.

→ Uscarea se realizează prin menținerea probei timp de 2 ore la 105 °C (pentru fructe și legume) sau la 130 °C (pentru cereale și produse alimentare), până la eliminarea umidității. . .

→ Îndepărtați rapid tăvița din etuvă folosind o pensetă sau mănuși din bumbac, puneți capacul și introduceți-l în exsicator. Se va aștepta atingerea temperaturii camerei (aproximativ 30–45 minute).

→ După răcire, cântăriți tăvița care conține proba, împreună cu capacul, cu o precizie de $\pm 0,001$ g. Notați masa probei uscate și masa tăviței cu capac.

→ Procedura se repetă, iar masa este considerată constantă dacă diferența dintre două cântăriri succesive diferă doar la a treia zecimală.



Notă: Nu deschideți ușa etuvei în timpul uscării și nu introduceți produse umede în etuvă înainte de a scoate probele deja uscate, deoarece acest lucru poate duce la rehidratarea parțială a probelor.

Umiditatea (M%) este exprimată ca g/100 g probă și este dată de ecuația:

$$M\% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad (1)$$

unde:

M% – umiditate;

m_i – masa inițială a probei umede (g);

m_f – masa finală a probei uscate (g);

Metoda 2 - Metodă folosind termobalanța

- Porniți termobalanța folosind butonul de pornire/oprire;
- Setati temperatura de uscare la 105 °C (pentru fructe și legume) sau 130 °C (pentru cereale și produse alimentare);
- Așezați tăvița de aluminiu condiționată în locul special prevăzut și apăsați tară pe aparat;
- Așezați cel puțin 1 g de probă măcinată cât mai dispersat posibil în tăvița de aluminiu, notați masa cântărită și porniți analiza (timpul de analiză va fi determinat automat de termobalanță, în funcție de umiditatea probei);
- La finalul analizei, rezultatele (masa probei uscate exprimată în grame, umiditatea exprimată procentual și conținutul de substanță uscată exprimat procentual) vor fi afișate automat. Notați rezultatele în registre.

Unitatea 1.2. Determinarea parametrilor fiziologici ai frunzelor folosind echipamentul portabil multiparametru LC Pro-SD

Liliana BĂDULESCU,
Monica BADEA

2.1. Principiul metodei

a. Intensitatea fotosintezei se determină pe baza cantității de CO_2 consumate de o frunză dată în timpul analizei, utilizând un analizor de gaz nedispersiv în infraroșu.

b. Intensitatea transpirației se determină pe baza cantității de H_2O eliminate de o frunză dată, utilizând un analizor de gaz nedispersiv în infraroșu.

c. Intensitatea respirației se determină pe baza cantității de CO_2 produse de o frunză dată, în condiții de întuneric, utilizând un analizor de gaz nedispersiv în infraroșu.

2.2. Aparatură și reactivi

- Cameră de analiză cu suprafață cunoscută (de obicei $6,25 \text{ cm}^2$);
- Echipament portabil multiparametru LC Pro-SD;

LC Pro-SD este portabil și se recomandă pentru determinări directe în câmp ale diferiților indicatori fiziologici. Rezultatele sunt stocate în computerul echipamentului și, de asemenea, pe un disc flexibil de 256 KB.

La analizor pot fi conectate camere de analiză diferite, în funcție de dimensiunea frunzei. Pentru frunzele mari, se utilizează camera cu suprafața de 6,25 cm². Camera de analiză delimitează un spațiu astfel încât aerul să fie aspirat de pe ambele părți ale frunzei, fiind apoi dirijat printr-o bază către analizor.

Analizorul este echipat cu senzori pentru intensitatea luminii, temperatură și umiditate. Software-ul multiparametru LC Pro-SD calculează și afișează peste 18 parametri, iar măsurătorile pot fi citite direct sau salvate pe disc.

2.3 Analiza probei

• •
• •
• •
• •

Pentru a determina parametrii fiziologici ai frunzelor, verificați dacă echipamentul este conectat la camera de analiză corespunzătoare și lăsați-l să se stabilizeze timp de aproximativ 5 minute (va semnaliza când este stabil). Aparatul este setat cu anumiți coeficienți care permit calcularea automată a parametrilor fiziologici

(A = intensitatea fotosintezei; E = intensitatea transpirației).

Porniți aparatul și lăsați-l să se încălzească aproximativ 5 minute (până se aude un semnal sonor). Alegeți o frunză nedetașată de pe plantă și introduceți-o în camera de citire.

Temperatura frunzei ($T_{\text{leaf}} = ^\circ\text{C}$), fluxul de aer (ml/min), precum și intensitatea luminii ($Q_{\text{leaf}} = \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sunt măsurate instantaneu. Așteptați câteva minute pentru ca frunza să se adapteze la intensitatea luminii dorite înainte de a colecta datele.

De asemenea, pe ecranul aparatului, pe lângă aceste valori, sunt afișate:

- intensitatea procesului de transpirație ($E = \text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$);
- intensitatea procesului de fotosinteză ($A = \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$);
- conductanța stomatală (g_s).

Valoarea negativă pentru fotosinteză înseamnă că se consumă mai puțin CO_2 în fotosinteză comparativ cu cantitatea de CO_2 eliberată în respirație.

Pentru a determina intensitatea respirației, camera de analiză cu frunza nedetașată este introdusă într-un înveliș negru pentru a împiedica pătrunderea luminii și, astfel, pentru a suprima fotosinteza.

Valoarea caracteristică este afișată pe ecran ca valoare negativă.



Unitatea 1.3. Determinarea intensității respirației pentru fructe și legume

Liliana BĂDULESCU, Monica BADEA,
Ioana CĂTUNEANU



3.1. Principiul metodei

Intensitatea respirației pentru fructe și legume este determinată pe baza măsurării cantității de dioxid de carbon eliberat într-o oră de materialul vegetal, într-un recipient cu volum cunoscut, utilizând tehnologie în infraroșu.

3.2. Aparatură și reactivi

- ➔ Recipiente etanșe cu volum cunoscut;
- ➔ Cleme;
- ➔ Tăvițe de cântărire;
- ➔ Cilindru gradat, 1000 mL;
- ➔ Echipament de monitorizare a CO₂ – Lambda T NDIR;
- ➔ Balanță analitică – Radwag AS60/220.R2;



3.3 Analiza probei

Pregătirea echipamentului

Verificați dacă dispozitivul funcționează și dacă înregistrează valoarea inițială a CO₂ între 400–600 ppm.

- • **Pregătirea probelor pentru analiză (materie primă)**

- • Alegeți 3 fructe / legume din aceeași probă și plasați-le în recipiente etanșe, în întuneric. Pentru fructe de pădure și prune, intensitatea respirației se măsoară după 10 minute; pentru mere intensitatea respirației se măsoară după 30 de minute.

După ce timpul menționat a trecut, măsurați mai întâi concentrația de CO₂ din aer (CO_{2i}), iar apoi măsurați concentrația de CO₂ din interiorul recipientului etanș care conține fructele/legumele (CO_{2f}).

După măsurarea concentrației de CO₂ a fructelor/legumelor, cântăriți proba folosind balanța analitică, iar apoi măsurați volumul probei într-un cilindru gradat de 1000 mL, folosind apă.

Calculul rezultatelor

Valorile citite cu echipamentul Lambda T NDIR Monitor sunt introduse într-un fișier Excel și calculate conform următoarelor formule:

$$R_{rate} = \frac{\frac{CO_{2f} - CO_{2i}}{10000} \times V \times 18.4 \times 60}{m} / t \quad (2)$$

R_{rate} – intensitatea respirației (mg CO₂/kg/oră)

V (mL) – volumul probei (mL)

CO_{2f} – concentrația de CO₂ a probei la sfârșitul experimentului

CO₂ – concentrația de CO₂ a aerului la începutul experimentului

m – masa probei (g)

t_i – timpul de analiză (min)

Unitatea 1.4. Determinarea intensității transpirației prin metoda cântăririi

Liliana BĂDULESCU, Monica BADEA,
Ioana CĂTUNEANU

4.1. Princiul metodei

Scopul acestei metode este de a determina intensitatea transpirației a fructelor și legumelor. Metoda se bazează pe cântărirea probei după un interval de timp prestabilit (de exemplu, după 10 minute). Pe baza diferențelor de masă se calculează intensitatea transpirației.

4.2. Aparatură și reactivi

- ➔ Tăvițe de cântărire;
- ➔ Balanță analitică;
- ➔ Cronometru;

4.3 Analiza probei

Alegeți 3 fructe / legume din aceeași probă și plasați-le pe tăvițele de cântărire. Pentru fructe de pădure și prune alegeți o probă mai mare (6 - 10 fructe). Notați masa inițială (w_i), porniți cronometrul pentru 10 minute, iar după trecerea timpului cântăriți din nou probele (w_f).

Calculul rezultatelor

$$T_{rate} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100/t \quad (3)$$

where:

T_{rate} = intensitatea transpirației (g H₂O/100 g probă/h).

w_i - masă inițială (g)

w_f - masă finală (g)

t – timpul (h)

Unitatea 1.5. Determinarea concentrației pigmentilor asimilatori (clorofile și carotenoizi)

Aurora Dobrin, Monica Badea, Liliana Bădulescu

5.1. Principiul metodei

Această metodă se bazează pe extracția pigmentilor într-un solvent organic, de exemplu acetonă 80%, iar apoi pe măsurarea absorbției extractului folosind un spectrofotometru, la lungimile de undă de 470 nm, 646 nm și 663 nm.

5.2. Aparatură și reactivi

Reactivi

- Apă ultrapură;
- Acetonă;
- Nisip de cuarț;

Aparatura

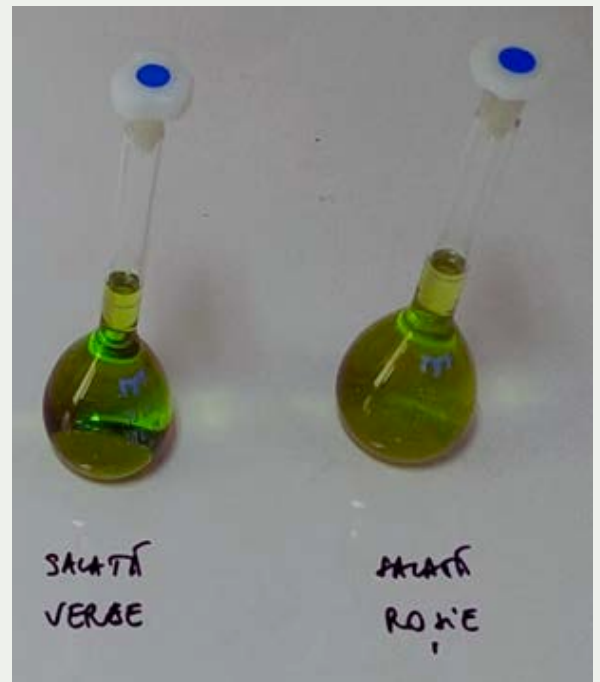
- Mojar cu pistil;
- Balon volumetric, 50 ml;
- Unitate de filtrare în vid;
- Hârtie de filtru;
- Pâlnie;
- Balanță analitică

5.3 Prepararea probei

Cântăriți 1 g de material proaspăt de fructe sau legume și mojarăți-l în prezența nisipului de cuarț până se obține o pastă omogenă.

- Adăugați 5 mL de acetonă și
- continuați mojararea, apoi treceți
- extractul printr-o unitate de filtrare
- în vid, echipată cu hârtie de filtru.

Spălați mojarul de mai multe ori cu acetonă până la preluarea completă a probei, apoi transferați extractul filtrat în balonul cotat de 50 mL, care conține deja 10 mL de apă ultrapură. Completați balonul până la semn cu acetonă.



5.4. Analiza probei

După ce spectrofotometrul a atins parametrii de utilizare, extractul filtrat este transferat într-o cuvă de cuarț cu lungimea drumului optic de 1 cm. Folosiți ca referință acetonă 80%. Setati lungimile de undă la 470 nm, 646 nm și 663 nm și citiți proba utilizând software-ul echipamentului.

Calculul rezultatelor

Cunoscând absorbția probei la toate lungimile de undă, puteți calcula cantitatea de pigmenți utilizând formulele lui Lichtenthaler și Wellburn (1983):

$$C_a = 12.21A_{663} - 2.81A_{646} \text{ } \mu\text{g/mL (4)}$$

$$C_b = 20.13A_{646} - 5.03A_{663} \text{ } \mu\text{g/mL (5)}$$

$$C_{x+c} = \frac{1000 A_{470} - 3.27C_a - 104 C_b}{229} \text{ } \mu\text{g/mL (6)}$$

Rezultatele pot fi apoi calculate în funcție de masă și volumul final de extracție, iar rezultatele finale se exprimă în mg/g.

BIBLIOGRAFIE

Lichtenthaler, H. K., & Wellburn A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b in leaf extracts in different solvents. Biochem.Soc. Trans. 11, 591-592.

Delian, E., Burzo, I., Voican, A., Dobrescu, A., Bădulescu, L. & Mihailescu, D. (2003). Fiziologia plantelor, Lucrări Practice, Atelierul de multiplicat cursuri.

Ion, V.A., Nicolau, F., Petre, A., Bujor, O.C. & Bădulescu, L. (2020). Variation of bioactive compounds in organic *Ocimum basilicum* L. during freeze-drying processing, Scientific Papers. Series B, Horticulture. Vol. LXIV, No. 1, 397 – 404.

Unitatea 1.6. Determinarea conținutului total de polifenoli folosind metoda Folin - Ciocâlțeu

Oana-Crina Bujor, Violeta
Alexandra Ion, Aurora Dobrin

6.1 Principiul metodei

Metoda Folin–Ciocâlțeu este utilizată pe scară largă pentru determinarea conținutului total de compuși fenolici din plante și extracte alimentare. Principiul metodei se bazează pe reducerea reactivului în prezența fenolilor, ceea ce conduce la formarea unui complex molibden–tungsten de culoare albastră. Acesta se măsoară spectrofotometric la 760 nm, iar intensitatea culorii crește liniar odată cu concentrația fenolilor din mediul de reacție.

6.2. Aparatura și reactivi

- Tuburi de centrifugă 15, 50 mL;
- Eprubete de sticlă de 10 mL;
- Balanță analitică;
- Centrifugă cu răcire;
- Agitator orbital;
- Reagent Folin–Ciocâlțeu 0,2 N;
- Soluție de carbonat de sodiu 7,5%;
- Baie de apă;
- Cronometru;
- Spectrofotometru;

6.3 Prepararea probei

Extracția polifenolilor din probe proaspete se realizează conform metodei descrise de Stan et al. (2021). La 1 g de probă proaspătă se adaugă 10 mL de metanol 70% și se lasă la incubat în întuneric, peste noapte, la temperatura camerei. În ziua următoare, extractele se agită la 500 rpm timp de 1 oră, apoi se centrifughează la 5000 rpm și 4 °C, timp de 10 minute. Supernatantul se colectează într-un tub de centrifugă de 50 mL, iar reziduul se re-extrage de două ori suplimentar cu câte 10 mL de metanol apos 70%. Toate cele trei supernatante se combină, iar volumul fiecărei probe se ajustează la 30 mL cu metanol apos 70%.

6.4. Analiza probei

Conținutul total de polifenoli din extracte se determină prin metoda spectrofotometrică Folin–Ciocalteu, conform lui George et al. (2005). Se pipetează 0,5 mL de extract de probă într-o eprubeta de 10 mL, se adaugă 2,5 mL de reactiv Folin–Ciocalteu și se incubează timp de 2 minute la temperatura camerei.

După incubare, se adaugă 2 mL de soluție de carbonat de sodiu (7,5%) și eprubeta se plasează într-o baie de apă încălzită la 50 °C timp de 15 minute. La finalul încălzirii, eprubeta se răcește într-o baie cu apă și gheață.

După ce spectrofotometrul ajunge la parametrii de funcționare, extractul răcit se transferă într-o cuvetă de cuarț cu lungimea traseului optic de 1 cm. Ca referință se utilizează metanol 70%. Se setează lungimea de undă la 760 nm, iar absorbția probei se înregistrează cu ajutorul software-ului echipamentului.

Calcularea rezultatelor

Concentrația extractului (μg/mL) se calculează pe baza unei curbe de calibrare, utilizând acid galic ca standard analitic. După determinarea concentrației extractului, se calculează concentrația totală de polifenoli conform formulei următoare:

$$C_{\text{(mg GAE/100g)}} = \frac{C_{\text{(μg/mL)}} * V_{\text{(mL)}} * D}{m_{\text{(g)}} * 10} \quad (7)$$

unde:

C (mg GAE/100 g) – concentrația totală de polifenoli raportată la mg Gallic acid equivalents (GAE) la 100 g de probă;

C (μg/mL) – concentrația extractului;

V (mL) – volumul final al extractului;

m (g)- masa probei;

D - diluția extractului



BIBLIOGRAFIE



Stan, A., Frîncu, M., Ion, V.A., & Bădulescu, L. (2021). Modified Atmosphere Influence In Organic 'Tita' Plums Quality, Scientific Papers. Series B, Horticulture. 65(2), 77-82.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P. & Amiot, J.M. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 1370–1373.



Unitatea 1.7. Determinarea vitaminei C utilizând HPLC-DAD

Andreea Barbu, Oana-Crina Bujor,
Violeta Alexandra Ion, Liliana
Bădulescu

7.1. Principiul metodei

Metoda determină acidul ascorbic (vitamina C) din fructe sau legume proaspete prin extracția analitului cu acid o-fosforic. Vitamina C este identificată și cuantificată utilizând HPLC-DAD. Principiul separării prin HPLC se bazează pe distribuția analitului între faza mobilă (eluent) și faza staționară (materialul de umplere al coloanei). În funcție de structura chimică a analitului, moleculele sunt reținute diferit în timpul trecerii prin faza staționară.

7.2. Aparatură și reactivi

Reactivi

- ➔ Apă ultrapură;
- ➔ Acid orto-fosforic;
- ➔ Acid formic;
- ➔ Acid ascorbic;
- ➔ Acetonitril;

7.2. Aparatură și reactivi

Aparatură

- | | |
|---------------------------------|--|
| → Apă ultrapură; | → Filtre de seringă RC; |
| → Cilindru gradat de 20 mL; | → Seringă de 2 mL; |
| → Balon cotat de 10 mL; | → Plită magnetică; |
| → Balon cotat de 1000 mL; | → Vortex; |
| → Tuburi de centrifugă de 15 mL | → Balanță analitică; |
| → Flacoane de 1,5 mL; | → Centrifugă; |
| → Capace pentru flacoane; | → HPLC-DAD; |
| → Micropipete 10-100 μ L; | → Coloană C18 (4,6 $\times$ 50 : :
mm, 1,8 μ m d.i.); : : |
| → Micropipete 100-1000 μ L; | → Coloană de gardă C18
(4,6 $\times$ 12,5 mm, 5 μ m
d.i.); |

7.3. Pregătirea probei

La 1 g de probă se adaugă 2 mL de acid o-fosforic (2 %, v/v) și se mojarează timp de 1 minut la temperatura camerei. Amestecul este trecut cantitativ în tuburi de centrifugare de 15 mL și se aduce la un volum final de 10 mL cu acid o-fosforic (2 %, v/v).

După extracție, toate probele se centrifughează timp de 5 minute la 7000 rpm și 4 °C, se filtrează și se analizează imediat utilizând HPLC-DAD.

7.4. Analiza probei

Identificarea și cuantificarea acidului ascorbic se realizează prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC), utilizând un detector DAD, pe baza metodei descrise de Stan et al. (2020). Separarea cromatografică a compușilor se va efectua utilizând o coloană C18 și o coloană de gardă C18. Temperatura coloanei în timpul analizei va fi menținută la 30 °C. Volumul de injecție va fi de 2 μ L, cu recomandarea ca probele să fie păstrate în autosampler la temperatură scăzută, din cauza degradării rapide a acidului ascorbic. Faza mobilă constă din 0,05 % acid formic în apă, v/v, utilizând o eluție izocratică la un debit de 0,5 mL/min. Acidul ascorbic este determinat la o lungime de undă de 244 nm.

Calcularea rezultatelor

Concentrația de acid ascorbic a extractului (μ g/mL) este calculată pe baza unei curbe de calibrare (de obicei 0–200 μ g/mL, cu excepția kiwi 0–400 μ g/mL).

După ce concentrația din extract a fost determinată, următorul pas este utilizat pentru a calcula concentrația de acid ascorbic din probă, după cum urmează:

$$C_{\text{(mg GAE/100 g)}} = \frac{C_{\text{(\mu g/mL)}} * V_{\text{(mL)}} * D}{m_{\text{(g)}} * 10} \quad (8)$$

unde:

C (mg GAE/100 g) – concentrația totală de polifenoli raportată la mg Gallic acid equivalents (GAE) la 100 g de probă;

C (μg/mL) – concentrația extractului;

V (mL) – volumul final al extractului;

m (g)- masa probei;

D - diluția extractului

• •
• •
• •
• •

BIBLIOGRAFIE

Stan, A., Bujor, O.C, Dobrin, A., Haida, G., Bădulescu, L. & Asănică, A. (2020). Monitoring the quality parameters for organic raspberries in order to determine the optimal storage method by packaging. Acta Hortic. 1277: 461-468, Proc. XII International Rubus and Ribes Symposium: Innovative Rubus and Ribes Production for High Quality Berries in Changing Environments, DOI 10.17660/ActaHortic.2020.1277.66

Unitatea 1.8. Determinarea zaharurilor utilizând HPLC-RID

Andreea Barbu, Liliana Bădulescu

8.1. Principiul metodei

Zaharurile din fructe și legume proaspete sunt determinate prin extracție cu soluție de etanol 80%, urmată de concentrare și filtrare. Identificarea și cuantificarea zaharurilor se realizează prin tehnica HPLC-RID. Principiul separării în HPLC se bazează pe distribuția analitului (probe) între o fază mobilă (eluant) și o fază staționară (materialul de umplere al coloanei). În funcție de structura chimică a analitului, moleculele sunt reținute diferit în timpul trecerii prin faza staționară.

8.2. Aparatură și reactivi

Reactivi

- Apă ultrapură;
- Etanol;
- Acetonitril;
- Zaharuri (glucoză, fructoză, zaharoză, altele);

Aparatura

- | | |
|---------------------------------|---|
| → Filtre RC pentru seringi; | → Tăvi pentru cântărire; |
| → Seringă de 2 mL; | → Tuburi de centrifugă 15 și 50 mL; |
| → Pahar Erlenmeyer; | → Balanță analitică; |
| → Balon cotat de 10 mL; | → Evaporator rotativ; |
| → Baloane cu fund rotund 50 mL; | → HPLC-RID ; |
| → Pipete Pasteur; | → Coloană NH ₂ , 4,6 × 250 mm, 5 μm; |
| → Flacoane de 1,5 mL; | → Coloana de gardă NH ₂ , 4,6 × 12,5 mm, 5 μm; |
| → Capace pentru flacoane; | → |

8.3. Pregătirea probei

Se cântărește 1 g de material brut, se adaugă 2 mL de etanol (80%, v/v) și se mojarează timp de 1 minut la temperatura camerei. Amestecul este transferat cantitativ într-un pahar Erlenmeyer și adus la un volum de 10 mL, apoi extras într-o baie ultrasonică timp de 15 minute la 80 °C. Supernatantul este colectat într-un tub de centrifugă de 50 mL, iar reziduurile sunt reextrase cu 10 mL de etanol (50%, v/v) într-o baie ultrasonică timp de 15 minute la 80 °C.

Al doilea supernatant va fi colectat în același tub de centrifugă de 50 mL, iar reziduurile vor fi reextrase cu 10 mL de apă într-o baie ultrasonică timp de 15 minute la 80 °C. Al treilea supernatant va fi reunit cu cele două supernatante anterioare, atingând un volum final al extractului de 30 mL. Extractul obținut (30 mL) va fi transferat într-un balon cu fund rotund de 50 mL și evaporat la un evaporator rotativ până la un volum sub 10 mL.

După evaporare, extractul va fi transferat într-un balon cotat de 10 mL și adus la semn cu apă ultrapura. Extractul va fi filtrat cu o seringă de 2 mL și un filtru RC de 0,45 μm, într-un flacon de 1,5 mL și analizat imediat prin HPLC-RID.

8.4. Analiza probei

Faza mobilă trebuie supusă ultrasunetelor timp de 5 minute înainte de condiționarea sistemului și analiză. Faza mobilă apoasă nu trebuie utilizată mai mult de 2 - 3 zile. Proba trebuie preparată cât mai rapid posibil pentru a evita denaturarea/oxidarea compușilor.

Separarea cromatografică se realizează utilizând metoda HPLC, un detector RID și o coloană NH₂ (4,6 × 250 mm, 5 μm i.d.). Faza mobilă este un amestec de ACN cu H₂O (85:15), utilizând o eluție izocratică la un debit de 1,8 mL/min. Temperatura coloanei termostatare și a detectorului va fi setată la 30 °C, iar volumul de injecție al probei va fi de 30 μL.

Calcularea rezultatelor

Concentrația de zaharuri din extract (mg/mL) este calculată pe baza unei curbe de calibrare (0–10 mg/mL). După determinarea concentrației în extract, următorul pas este utilizat pentru calcularea concentrației de zaharuri din probă, după cum urmează:

$$C_{\text{(mgGAE/100g)}} = \frac{C_{\text{(μg/mL)}} * V_{\text{(mL)}} * D}{m_{\text{(g)}} * 10} \quad (9)$$

unde:

C (mg GAE/100 g) – concentrația totală de polifenoli raportată la mg Gallic acid equivalents (GAE) la 100 g de probă;

C (μg/mL) – concentrația extractului;

V (mL) – volumul final al extractului;

m (g)- masa probei;

D - diluția extractului

Unitatea 1.9. Determinarea compușilor volatili utilizând GC-MS

Violeta Alexandra Ion,
Oana-Crina Bujor

9.1. Principiul metodei

Uleiurile volatile sunt extrase prin hidrodistilare utilizând un aparat NeoClevenger. Uleiurile volatile obținute sunt diluate în hexan și analizate prin cromatografie de gaze cuplată cu spectrometrie de masă (GC-MS). Rezultatele sunt exprimate ca procent din compuși identificați.

9.2. Aparatură și reactivi

Reactivi

- Hexan;
- Sulfat de sodiu anhidru;
- Apă;

Aparatura

- Cilindru gradat de 10 mL;
- Flacoane;
- Micropipete 10-100 μ L;
- Micropipete 100-1000 μ L;
- Filtru de seringă PTFE 0,45 μ m;
- Sistem NeoClevenger pentru extracția uleiurilor volatile;
- Balanță analitică;
- Sistem de încălzire LabHeat;
- Congelator;
- Sistem GC- MS;
- Coloană cromatografică DB-5 MS, lungime 30 m, 0,25 $\times$ 0,25 $\times$ 0,25 mm.

9.3. Pregătirea probei

O cantitate suficientă de probă (aproximativ 300 g de material proaspăt) se întinde pe hârtie de filtru curată, iar orice alt material vegetal care nu aparține probei este îndepărtat.

Cu ajutorul unei balanțe tehnice se cântărește cantitatea necesară pentru efectuarea analizei, în funcție de tipul matricei. Materialul vegetal cântărit se introduce într-un balon rotund de 4 L, care se plasează în cuibul de încălzire. Se adaugă apă peste probă din balonul de 4 L până când nivelul acesteia depășește ușor nivelul cuibului de încălzire.

Sistemul NeoClevenger se poziționează deasupra balonului și se fixează pe stativ. Se deschide fluxul de apă de răcire pentru a menține sistemul rece. Robinetul NeoClevengerului se închide, iar sistemul se umple cu apă distilată, având grijă ca pâlnia să conțină permanent apă.

Se conectează cuibul de încălzire și se setează inițial la putere maximă (încălzire completă a cuibului). La început, se setează o treaptă de încălzire de 10 și se apasă butonul ON, iar după ce apa cu proba începe să fiarbă, se reduce treapta de încălzire la 5.

Extracția se desfășoară timp de 3 ore de la începutul fierberii (timpul se notează în caietul de laborator). La final, volumul total de ulei din sistemul NeoClevenger se măsoară, iar apa și uleiul se transferă într-un flacon. Uleiul se colectează apoi cu o micropipetă într-un tub Eppendorf de 1,5 mL și se congelează la -20°C până la analiză.

Balonul de 4 L se golește și se lasă să se răcească. Reziduurile vegetale din balon se elimină, iar balonul se clătește de mai multe ori cu apă, etanol și apă distilată. Sistemul NeoClevenger se clătește cu apă de la robinet, etanol și apă distilată.



BIBLIOGRAFIE

Ion, V.A., Nicolau, F., Petre, A., Bujor, O.C. & Bădulescu, L. (2020). Variation of bioactive compounds in organic *Ocimum basilicum* L. during freeze-drying processing, Scientific Papers. Series B, Horticulture. Vol. LXIV, No. 1, 397 – 404.



Unitatea 1.10. Determinarea acizilor grași (saturați și nesaturați) prin GC-MS

Violeta Alexandra Ion,
Oana-Crina Bujor

10.1. Principiul metodei

Grăsimile sunt supuse procesului de saponificare, prin care acizii grași sunt eliberați din trigliceride, fosfolipide etc., rezultând acizi grași liberi. Aceștia sunt ulterior transesterificați pentru a forma esteri metilici ai acizilor grași. Matricele care nu sunt uleiuri sau grăsimi pure necesită o etapă de extracție pentru eliberarea fracției lipidice în vederea analizei. Acizii grași sunt analizați prin cromatografie gazoasă cuplată cu spectrometrie de masă (GC-MS), după conversia lor în esteri metilici ai acizilor grași (FAME).

10.2. Aparatură și reactivi

Reactivi

- Amestec standard de 37 de esteri metilici ai acizilor grași (FAME);
- Apă ultrapură;
- Hexan;
- Metoxid de potasiu;
- Sulfat de sodiu anhidru;

Reactivi

- Metanol;
- Acid clorhidric;
- Soluție de metoxid de potasiu 2 mol/L în metanol: se dizolvă 7,8 g metoxid de potasiu în 100 mL metanol anhidru; se prepară proaspăt în ziua utilizării; se poate utiliza și metoxid de sodiu de aceeași concentrație;
- Metanol anhidru (cu sită moleculară): la 1 L metanol HPLC se adaugă două „degete” de sită moleculară; se agită și se lasă minimum 24 h înainte de utilizare;
- Soluție de acid clorhidric în metanol (~20%, fracție masică): se cântăresc 80 g metanol anhidru și se adaugă 54 g HCl 37%, sub hotă.

∴ ∴
∴ ∴

Aparatură

- Cilindru gradat 10 mL;
- Tuburi de reacție 20 mL cu sept și capac;
- Balon Erlenmeyer 250 mL;
- Micropipete 10-100 μ L;

- Micropipete 100-1000 μL ;
- Filtre de seringă PTFE;
- Plită magnetică IKA RH B2;
- Vortex Bio-Rad BR-2000;
- Frigider Bosch;
- Balanță analitică Radwag AS60/220.R2;
- Sistem GC Agilent 6890N;
- Detector MS Agilent 5973N;
- Autosampler Agilent 7683;
- Coloană cromatografică HP-5MS, lungime 30 m, diametru 0,250 mm, grosime film 0,25 μm .

• •
• •
• •
• •

10.3. Pregătirea probei

Se cântăresc între $50 \pm 0,1$ mg și $75 \pm 0,1$ mg din probă în fiecare fiolă de reacție. Toate fiolele sunt tratate simultan, după cum urmează:

- se adaugă 4 mL n-hexan;

- se adaugă aproximativ 75 mg sulfat de sodiu anhidru și se dizolvă proba prin agitare;
- se adaugă 4 mL metoxid de potasiu, se închide ermetic fiola și se agită timp de 20–50 s; soluția devine imediat opalescentă datorită formării glicerinei, care se separă rapid;
- se adaugă 2 mL soluție de acid clorhidric 20% și un agitator magnetic;
- fiola se închide și se introduce în blocul de încălzire, preîncălzit la 50 ± 3 °C, timp de 20 minute, sub agitare constantă; amestecul se agită manual de mai multe ori în acest interval; această etapă se poate realiza și la temperatura camerei. Fiola se răcește sub jet de apă rece și se agită energic; stratul superior, care conține esterii metilici, se separă prin decantare și se transferă într-o fiolă pentru injecție GC. Dacă masa probei este cuprinsă între 50 și 75 mg, concentrația esterilor metilici este de aproximativ 2% (fracție masică)

Soluția este pregătită pentru analiza GC-MS. Dacă se utilizează injector split, se recomandă diluții de până la 1%. Soluțiile de esteri metilici sunt adecvate pentru analiză cromatografică imediată; dacă este necesar, pot fi păstrate câteva săptămâni sub gaz inert, la 4–8 °C.

10.4. Analiza probei

Metoda de analiză pentru verificarea condițiilor cromatografice este descrisă mai jos:

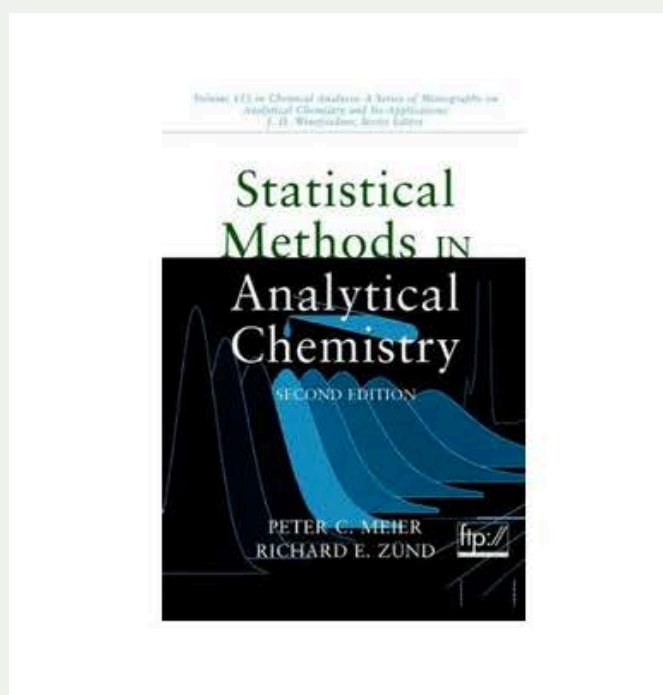
- coloană capilară Ultra-inert HP-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm grosimea filmului).
- program de temperatură al cuptorului coloanei: staționar la 50 °C timp de 4 min, creștere de la 50 °C la 150 °C cu 4°C/min, creștere de la 150 °C la 192 °C cu 2 °C/min, staționar la 192 °C timp de 10 min, creștere de la 192 °C la 300 °C cu 2 °C/min.
- heliu ca gaz purtător, cu debit de 0,5 mL/min.
- volum de injecție 2 μL, splitless.
- energie de ionizare 70 eV, interval de masă 40–450 m/z la 2 scanări/s.
- temperaturile pentru injector, linia de transfer MS și sursa de ioni au fost de 250 °C, 280 °C și respectiv 300 °C.

Rezultate

Compușii vor fi identificați pe baza timpului de retenție și a comparației spectrelor de masă cu standarde analitice. Fiecare compus va fi raportat ca procent din totalul compușilor.

Resurse științifice validate

Această nouă ediție a unei cărți de succes, cu vânzări ridicate, continuă să ofere informații practice privind utilizarea metodelor statistice pentru rezolvarea problemelor reale din medii industriale complexe. Completată cu exemple din laboratoarele și din procesele de fabricație din domeniul chimic și farmaceutic, această ediție, substanțial actualizată, demonstrează clar modul în care se pot obține rezultate fiabile prin alegerea celui mai adecvat design experimental și a metodelor de evaluare a datelor.



Titlu: Statistical Methods in Analytical Chemistry

Autori:

Peter C. Meier, Richard E. Zünd

Prima ediție: 30 March 2000

Print ISBN: 9780471293637

Online ISBN: 9780471728412

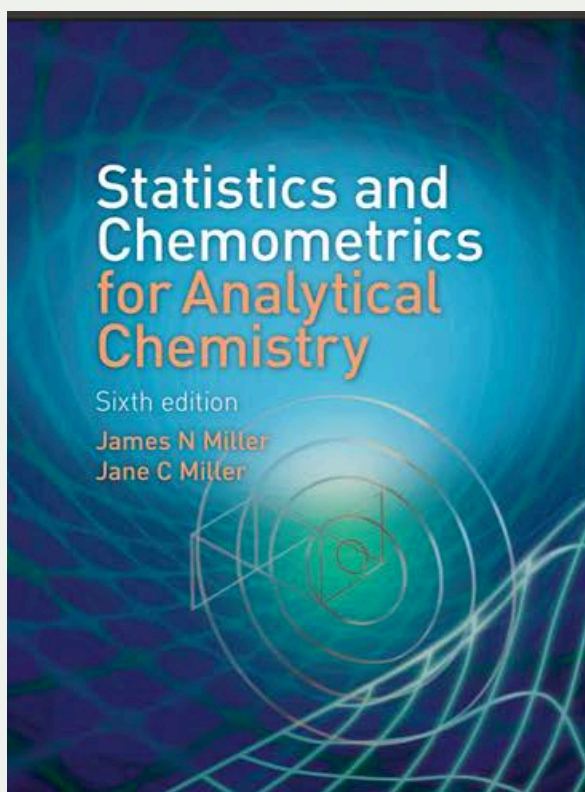
DOI: 10.1002/0471728411

Copyright © 2000 John Wiley & Sons, Inc.

All rights reserved.

Sursa aici

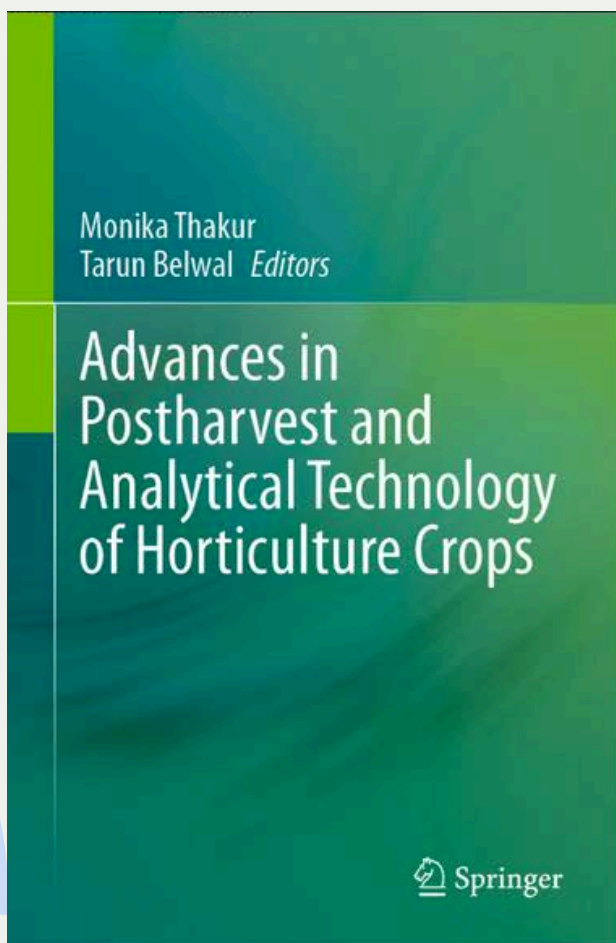
Acest manual foarte utilizat prezintă în mod clar principiile principalelor metode statistice folosite în laboratoarele analitice moderne. Astfel de metode stau la baza analizelor de înaltă calitate în domenii precum siguranța alimentelor, apei și medicamentelor, monitorizarea mediului și analiza chimică.



Title: Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry
Authors: James N. Miller, Jane Charlotte Miller
Publisher: Pearson Education, 2005
ISBN: 0131291920, 9780131291928

Sursa aici

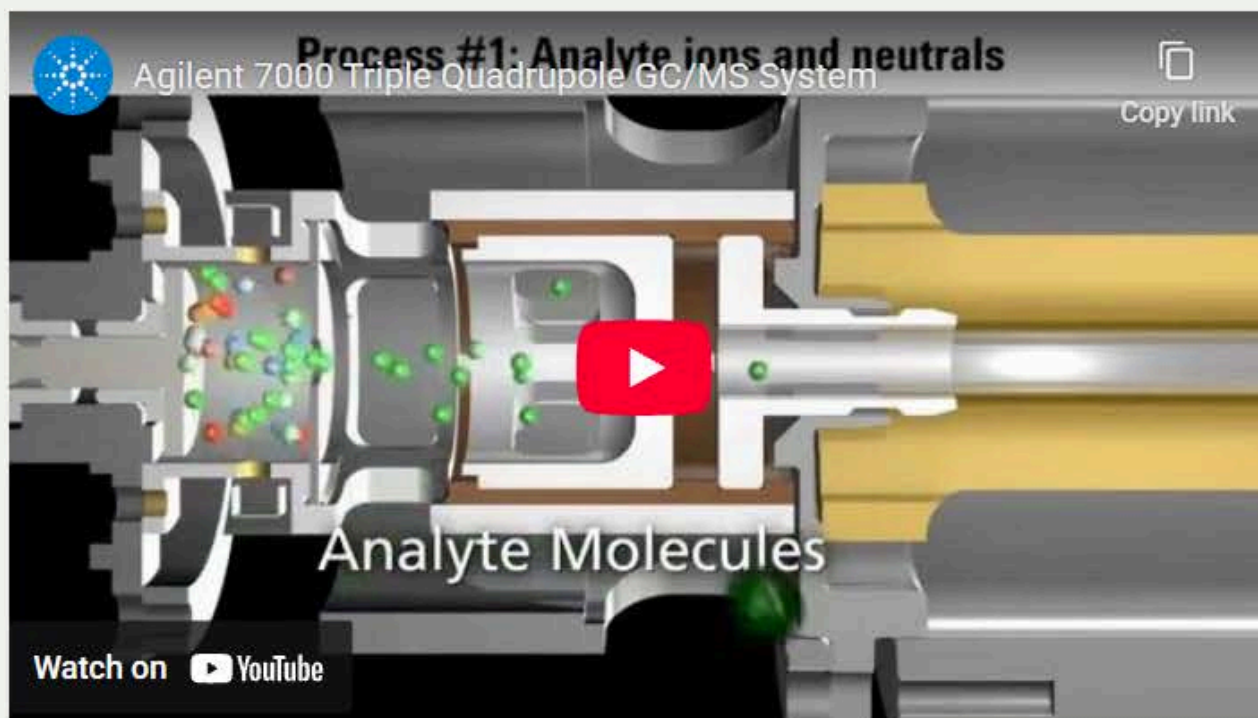
This book discusses advances in postharvest and analytical technology for horticulture crops and challenges to meet future needs. The horticulture crops (fruits and vegetables) need a systematic and scientific postharvest handling and management system for securing both physical and chemical attributes while prolonging their shelf life. Postharvest technologies include storage, drying, packaging, extraction of components, and preparation of juice and wine from the collected fruits and vegetables. Parallel development of analytical techniques has also evolved to monitor the quality of fruits and vegetables during postharvest processing and thus provide a rapid and efficient method for delivering safer food products.



Book Title: Advances in Postharvest and Analytical Technology of Horticulture Crops
Editors: Monika Thakur, Tarun Belwal
DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-97-7247-6>
Publisher: Springer Singapore
ISBN 978-981-97-7246-9
eBook ISBN 978-981-97-7247-6



[Source here](#)



[Source here](#)



Statistics in Analytical Chemistry Part 1

Calculation: Mean and Median

- What are the mean and median of these measurements? (19.4, 19.5, 19.6, 19.8, 20.1 ppm (parts per million))

median = 19.6

$$\bar{x} = \frac{984}{5} = 19.7$$

standard deviation =

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$



$(x_i - \bar{x})^2$



Copy link



Search



Descriptive Statistics

- Measures of Frequency:
Count, Percent, Frequency
- Measures of Central Tendency
Mean, Median, and Mode
- Measures of Dispersion or Variation:
Range, Variance, Standard Deviation
- Measure of Position:
Percentile Ranks, Quartile Ranks



Statistics in Analytical Chemistry Part 1



Chem Pinoy
366 subscribers

Subscribe



[Source here](#)



Statistics in Analytical Chemistry Part 2

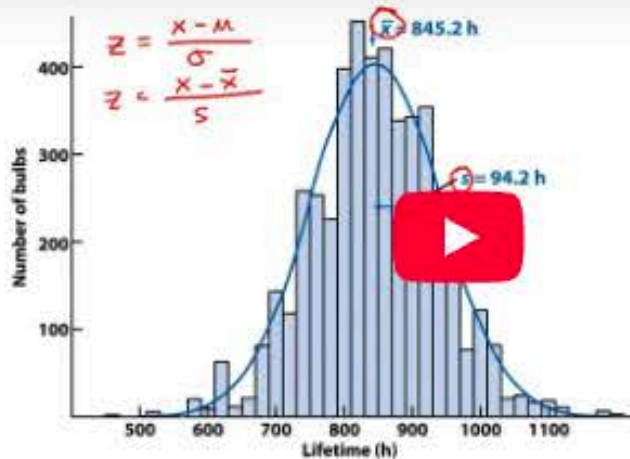


Figure 4-1
Quantitative Chemical Analysis, Seventh Edition
© 2005 W. H. Freeman and Company



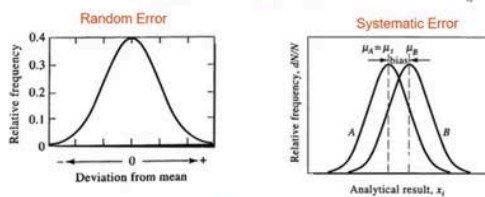
Copy link



Gaussian Curve

Random Error: results in a scatter of results centered on the true value for repeated measurements on a single sample.

Systematic Error: results in all measurements exhibiting a definite difference from the true value



plot of the number of occurrences or population of each measurement (Gaussian curve)

Statistics in Analytical Chemistry Part 2

Chem Pinoy
306 subscribers

Subscribe

2 Share Save Clip Download

Source here



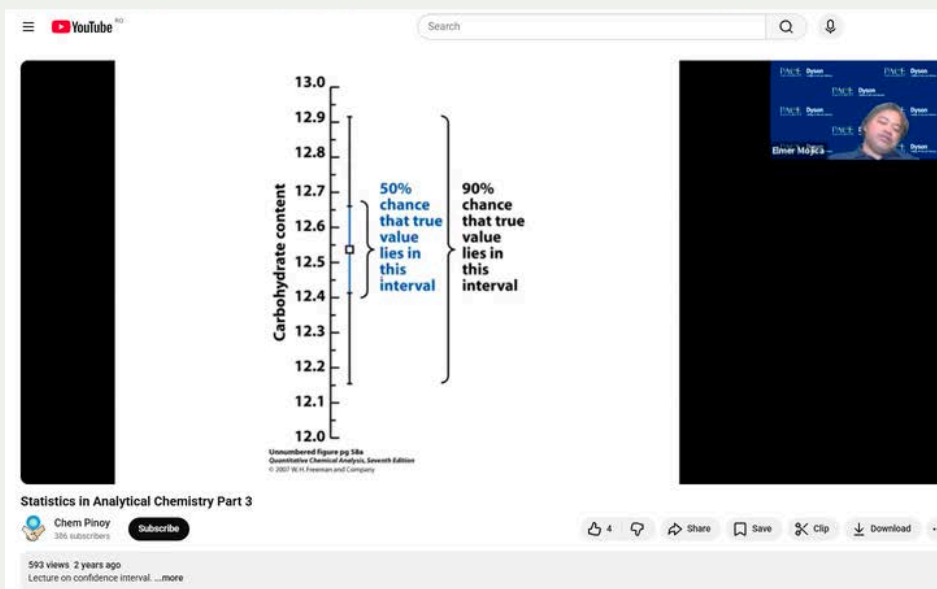
Statistics in Analytical Chemistry Part 3

Confidence Interval

The carbohydrate content of a glycoprotein is 12.6, 11.9, 13.0, 12.7 and 12.5 of carbohydrate per 100 mg protein. Find the 50% and 90% confidence intervals for the carbohydrate content.

$$50\% = 12.54 \pm \frac{(0.741)(0.40)}{\sqrt{5}} = 12.54 \pm 0.13$$

$$90\% = 12.54 \pm \frac{(2.132)(0.40)}{\sqrt{5}} = 12.54 \pm 0.38$$



[Source here](#)



Statistics in Analytical Chemistry Part 4

T-test

- The average mass of gas from air in Table 4-3 is $x_1 = 2.31011$ g, with a standard deviation of $s_1 = 0.00014$ (for $n_1 = 7$ measurements). The mass from chemical sources is $x_2 = 2.29917$ g with $s_2 = 0.00138$ ($n_2 = 8$ measurements).



Copy link



YouTube

Search

T-test

- A sample was certified by NIST to contain 3.19 wt% sulfur. The measurements obtained using the sample are 3.29, 3.22, 3.30 and 3.23 wt % sulfur. Does this agree with the reference?

Statistics in Analytical Chemistry Part 4

Chem Pinoy
386 subscribers

368 views · 2 years ago
Lecture about t-test, F-test and Q-test. ...more

1 · Share · Save · Clip · Download

[Source here](#)

Remain in Touch



☎ 021 318 2266

🌐 <https://hortgreen.com/>

📍 Address: Bulevardul Mărăști 59, București 011464

