

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**USPOREDBA KONVENCIONALNIH
ANALITIČKIH METODA ZA ODREĐIVANJE
UDJELA SOLI U HRANI**

ZAVRŠNI RAD

LUKA IVANDIĆ

Matični broj: 1257

Split, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
KEMIJSKO INŽENJERSTVO

USPOREDBA KONVENCIONALNIH
ANALITIČKIH METODA ZA ODREĐIVANJE
UDJELA SOLI U HRANI

ZAVRŠNI RAD

LUKA IVANDIĆ

Matični broj: 1257

Split, rujan 2019.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL
TECHNOLOGY
CHEMICAL ENGINEERING

COMPARISON OF CONVENTIONAL
ANALYTICAL METHODS FOR THE
DETERMINATION OF SALT IN FOODS

BACHELOR THESIS

LUKA IVANDIĆ

Parent number: 1257

Split, September 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemijske tehnologije; smjer Kemijsko inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćena na 19. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta
Mentor: Doc. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić
Pomoć pri izradi: Izv. prof. dr. sc. Vida Šimat

USPOREDBA KONVENCIONALNIH ANALITIČKIH METODA ZA ODREĐIVANJE UDJELA SOLI U HRANI

Luka Ivandić, 1257

Sažetak:

Postupci konzerviranja namirnica se koriste od davnina kako bi se sačuvale namirnice i spriječilo njihovo kvarenje kao rezultat različitih bioloških, kemijskih i mikrobioloških promjena. Jedna od najstarijih, ali može se reći i najjednostavnijih te izrazito učinkovitih metoda je konzerviranje namirnica postupkom soljenja. Sol je jedan od najčešće korištenih aditiva u industriji prerade mesa i ribe, uglavnom zbog svoje niske cijene i dostupnosti, ali i brojnih pozitivnih učinaka u postupcima prerade i konzerviranja. Zadatak ovog rada bio je odrediti količinu soli u mesu svježe kozice te u mesu kozice namakane u salamuri tijekom različitih vremenskih intervala, korištenjem dviju konvencionalnih analitičkih metoda; metode po Mohru i metode po Volhardu.

Ključne riječi: jadranska kozica, salamura, NaCl, metoda po Mohru, metoda po Volhardu

Rad sadrži: 24 stranica, 11 slika, 11 tablica, 21 literaturnu referencu

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek
2. Doc. dr. sc. Danijela Skroza
3. Doc. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić

Datum obrane: 17. rujna 2019.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate Study of Chemical Technology; Course: Chemical Engineering

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food Technology
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session No. 19.
Mentor: Ph. D. Ivana Generalić Mekinić, Assistant Professor
Technical assistance: Ph. D. Vida Šimat, Associate Professor

COMPARISON OF CONVENTIONAL ANALYTICAL METHODS FOR THE DETERMINATION OF SALT IN FOODS

Luka Ivandić, 1257

Abstract:

Food preservation methods have been used since ancient times to preserve foods and prevent their deteriorations which are result of various biological, chemical and microbiological changes. One of the oldest, but also the simplest and most effective methods is to conserve food by salting. Salt is one of the most commonly used additives in the meat and fish processing industry, mainly because of its low cost and high availability, but also due to number of positive effects during food processing and canning. The aim of this paper was to determine the amount of salt in fresh shrimps and shrimps soaked in brine at different time intervals, using two conventional analytical methods; by Mohr method and Volhard method.

Keywords: Adriatic shrimp, brine, NaCl, Mohr method, Volhard method

Thesis contains: 24 pages, 11 figures, 11 tables, 21 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Ph. D. Mario Nikola Mužek, Assistant Professor
2. Ph. D. Danijela Skroza, Assistant Professor
3. Ph. D. Ivana Generalić Mekinić, Assistant Professor

Defence date: September 17. 2019.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

*Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju,
Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Ivane Generalić
Mekinić, u razdoblju od travnja do rujna 2019. godine.*

ZAHVALA

Prvenstveno se zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Ivani Generalić Mekinić na stručnim savjetima, uloženom trudu, vremenu, strpljenju i pomoći bez čega ovaj rad ne bi bio moguć. Zahvaljujem joj se na podršci tijekom izrade ovog rada, kao i tijekom cijelog studija. Također, zahvaljujem se i izv. prof. dr. sc. Vidi Šimat na pomoći u izvođenju eksperimentalnog dijela rada.

Posebno zahvaljujem svojoj obitelji, prijateljima i kolegama na pomoći, razumijevanju i potpori koju su mi pružili tijekom studiranja.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak ovog završnog rada bio je odrediti udio soli u uzorku jadranske kozice (*Lysmata seticaudata*) korištenjem dviju konvencionalnih analitičkih metoda za određivanje udjela soli u hrani, točnije, metodom po Mohru i metodom po Volhardu te usporediti dobivene rezultate. Osim određivanja udjela soli, zadatak je bio pratiti i kinetiku apsorpcije soli od strane mesa kozice tijekom namakanja istog u salamuri (zasićenoj vodenoj otopini soli) tijekom 15, 30, 45 i 60 minuta.

SAŽETAK

Postupci konzerviranja namirnica se koriste od davnina kako bi se sačuvale namirnice i spriječilo njihovo kvarenje kao rezultat različitih bioloških, kemijskih i mikrobioloških promjena. Jedna od najstarijih, ali može se reći i najjednostavnijih te izrazito učinkovitih metoda je konzerviranje namirnica postupkom soljenja. Sol je jedan od najčešće korištenih aditiva u industriji prerade mesa i ribe, uglavnom zbog svoje niske cijene i dostupnosti, ali i brojnih pozitivnih učinaka u postupcima prerade i konzerviranja. Zadatak ovog rada bio je odrediti količinu soli u mesu svježe kozice te u mesu kozice namakane u salamuri tijekom različitih vremenskih intervala korištenjem dviju konvencionalnih analitičkih metoda; metode po Mohru i metode po Volhardu.

Ključne riječi: jadranska kozica, salamura, NaCl, metoda po Mohru, metoda po Volhardu

SUMMARY

Food preservation methods have been used since ancient times to preserve foods and prevent their deteriorations which are result of various biological, chemical and microbiological changes. One of the oldest, but also the simplest and most effective methods is to conserve food by salting. Salt is one of the most commonly used additives in the meat and fish processing industry, mainly because of its low cost and high availability, but also due to number of positive effects during food processing and canning. The aim of this paper was to determine the amount of salt in fresh shrimps and shrimps soaked in brine at different time intervals, using two conventional analytical methods; by Mohr method and Volhard method.

Keywords: Adriatic shrimp, brine, NaCl, Mohr method, Volhard method

SADRŽAJ

UVOD	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. Procesi konzerviranja	2
1.2. Postupci, podjela i načela postupaka konzerviranja.....	2
1.3. Konzerviranje dodacima	3
1.3.1. Soljenje i mehanizam djelovanja soli	4
1.3.2. Difuzija, osmoza i osmotski tlak	5
1.3.3. Osmotska dehidracija	6
1.3.4. Primjena soli u preradi ribe i ostalih proizvoda ribarstva.....	7
1.3.4.1. Soljenje ribe u domaćinstvu	8
2. EKSPERIMENTALNI DIO	10
2.1. Sirovina i postupak pripreme uzoraka.....	10
2.2. Određivanje udjela soli metodom po Mohru	10
2.3. Određivanje udjela soli metodom po Volhardu	12
2.4. Testiranje čistih otopina soli	14
3. REZULTATI I RASPRAVA	15
3.1. Određivanje udjela soli u referentnom uzorku kozice	15
3.2. Određivanje udjela soli u salamurenoj kozici	16
3.2.1. Mohr metoda	16
3.2.2. Volhard metoda	18
3.3. Određivanje udjela soli u otopini	20
4. ZAKLJUČAK	22
5. LITERATURA	23

UVOD

Konzerviranje namirnica je zajednički naziv za različite postupke koji se primjenjuju tijekom prerade namirnica sa svrhom da im se u što većoj mjeri i kroz što dulji period očuva izvorna kvaliteta, te da se spriječi njihovo kvarenje ili degradacija. Postoji velik broj postupaka konzerviranja koji se najčešće dijele na kemijske, biološke i fizikalno-kemijske te na postupke konzerviranja dodatcima. Jedni od najčešćih i najpoznatijih metoda konzerviranja su postupci konzerviranja dodatcima, u koje spada i postupak konzerviranja dodatkom soli, odnosno soljenje.

Kuhinjska sol, ili natrijev klorid, je vjerojatno jedna od prvih tvari koje su se koristile za produljenje roka trajanja hrane. Konzervirajući učinak soli je rezultat njene antimikrobne aktivnosti, a korištenje u tu svrhu je značajnije nego li ono zbog čega se sol uglavnom danas koristi, tj. kao regulator i pojačivač okusa. Soljenje je tradicionalna metoda konzerviranja, koja se vrlo često primjenjuje u kombinaciji s drugim postupcima kao što su sušenje i dimljenje. Iako su napretkom tehnologije razvijene nove metode u kojima se sol koristi u konzerviranju hrane, princip samog ulaska soli u namirnicu i osnovne značajke njenog konzervirajućeg učinka su ostale nepromijenjene.

1. OPĆI DIO

1.1. Procesi konzerviranja

Konzerviranje podrazumijeva postupke očuvanja namirnica od kvarenja (lat. *conservo*= održavati, čuvati)¹, a smatra se da je konzerviranje hrane staro kao i njezino kvarenje. Iako je teško točno utvrditi povijesni slijed postupaka konzerviranja jer su se svi pojavljivali i smjenjivali ovisno o kulturi života i načinu prehrane ljudi, brojni zapisi upućuju na to da su postupci soljenja i mliječno-kisela fermentacija, uz sušenje, jedan od najstarijih načina konzerviranja hrane.²

1.2. Postupci, podjela i načela postupaka konzerviranja

Konzerviranje namirnica je zajednički naziv za različite procese, odnosno postupke, kojima je cilj da se u što većoj mjeri i kroz što duži period očuva izvorna kvaliteta neke namirnice, tj. da se spriječi njezino kvarenje. Svi postupci konzerviranja nisu jednako djelotvorni te se kod svih namirnica ne postižu željeni učinci.² Postupci konzerviranja uključuju skupine različitih fizikalnih, fizikalno-kemijskih, bioloških i kemijskih metoda, a unutar svake skupine postoje i dodatne podjele.

Fizikalne metode konzerviranja:³

- ❖ utjecaj visokih temperatura (pasterizacija, sterilizacija)
- ❖ utjecaj niskih temperatura (hlađenje, smrzavanje)
- ❖ elektromagnetsko zračenje.

Kemijske metode:³

- ❖ utjecaj dodatka različitih konzervansa.

Biološke metode:³

- ❖ fermentacije.

Fizikalno-kemijske metode:³

- ❖ sušenje, soljenje, šećerenje, koncentriranje.

Kombinirane i ostale metode:³

- ❖ soljenje + sušenje + dimljenje.

Dva osnovna principa (načela) na kojima se zasnivaju postupci konzerviranja, a koji proizlaze iz činjenice da su mikroorganizmi najznačajniji uzročnici kvarenja, su princip abioze i princip anabioze. Princip abioze karakterističan je za metode kod kojih se učinak konzerviranja postiže eliminacijom (izdvajanjem) mikroorganizama iz namirnice ili njihovim uništenjem uz istovremenu zaštitu od naknadne kontaminacije, dok je princip anabioze značajan za metode kod kojih se potiskuje ili ograničava aktivnost mikroorganizama stvaranjem nepovoljnih uvjeta za njihov rast i razvoj.^{2,3}

1.3. Konzerviranje dodacima

Ako se hrani dodaje neka tvar, u cilju sprječavanja njezinog kvarenja i produljenja roka trajanja, ta hrana je podvrgnuta metodi konzerviranja koja se naziva konzerviranje dodacima.³ Razlikuju se dvije skupine tvari, često nazvanih i konzervansi, koje se koriste kako bi se proveo sam postupak. Jednu skupinu čine tvari koje su same po sebi hrana (npr. šećer) ili se upotrebljavaju kao sastojak u pripremi hrane i/ili prehrani (npr. kuhinjska sol, alkohol, vinski ocat) te se nazivaju prirodnim konzervansima, dok drugu skupinu čine različite kemijske tvari, tj. kemijski konzervansi, koji se dodaju hrani u određenim količinama isključivo kad je to nužno (npr. askorbinska kiselina, benzojeva kiselina, itd.).^{2,3}



Slika 1. Mariniranje uz dodatak konzervansa⁴

1.3.1. Soljenje i mehanizam djelovanja soli

Soljenje je jedan od najstarijih i najjednostavnijih načina konzerviranja hrane za što je značajno izuzetno rano otkriće konzervirajućeg učinka soli još u mlađem kamenom dobu. Stoljećima je soljenje, uz sušenje, bilo gotovo jedini način čuvanja hrane duži period. Sol je jedan od najčešće korištenih aditiva u industriji prerade mesa i ribe, uglavnom zbog svoje niske cijene i dostupnosti, ali i konzervirajućeg učinka i antimikrobnih svojstva koja su rezultat direktne sposobnosti da smanji aktivitet vode neke namirnice.^{3, 5-7}

Postupci soljenja se mogu provoditi na više načina pa se razlikuju:⁵

- ❖ suho soljenje
- ❖ mokro soljenje (salamurenje)
- ❖ kombinirano soljenje.



Slika 2. Postupak suhog soljenja⁴

Postupak suhog soljenja se provodi direktnim tretiranjem hrane natrijevim kloridom te se uglavnom primjenjuje za malu ribu (srdela, inćun i sl.) i to cijelu, bez rezanja, ili za veliku ribu prethodno razrezanu na komade. Dodatkom soli, a pod utjecajem osmoze i hidroskopskih sila, sol izvlači vodu iz namirnice i to čak do 40 % od ukupne količine vode koja se nalazi u svježoj sirovini. Postupak suhog soljenja se može provoditi ručno ili strojno. Mokro soljenje (salamurenje) provodi se potapanjem sirovine tijekom određenog vremena u otopinu soli, kojoj mogu biti dodane različite tvari (nitrati, nitriti, šećer, začini itd.). Kod ovog postupka važno je da se održava koncentracija salamure. Kod posljednjeg načina kombiniranog soljenja istodobno na namirnicu djeluju i sol i salamura pa se sam proces soljenja odvija znatno brže.^{3, 5}

Kod postupka soljenja je važno znati da što je veća koncentracija soli, to je sigurniji učinak konzerviranja, ali je i nepovoljnije djelovanje na organoleptička svojstva namirnice. Koncentracija iznad 10 % inhibira razvoj truležnih i proteolitičkih mikroorganizama, uključujući i patogene vrste, a visoke koncentracije izazivaju i denaturaciju bjelančevina. U procesu soljenja, sol je konzervans čije se djelovanje opisuje na dva načina. Prvi je da se sol smatra kemijskim sredstvom koje utječe na mikroorganizme i sirovinu, a drugi način je da se na sol gleda kao na higroskopnu tvar koja ima sposobnost upijanja vode. Smatra se da se kemijsko djelovanje soli temelji na vezivanju iona Na^+ i Cl^- na peptidne veze u molekulama bjelančevina na koje se, u slučaju odsutnosti soli, vežu enzimi proteolitičkih mikroorganizama. Dakle, svojim prisustvom, ioni Na^+ i Cl^- „blokiraju“ ili „štite“ peptidne veze sprječavajući pristup i djelovanje bakterijskih enzima koji izazivaju kvarenje.

Izdvajanje vode iz tkiva namirnice djelovanjem soli zasniva se na načelima osmoze, difuzije i djelovanja osmotskog tlaka, a sam proces se može katalizirati primjenom umjereno povišene temperature. Kod ovog postupka voda se istiskuje iz tkiva u koje potom prodire sol. Identičan proces zbiva se i u stanicama mikroorganizama pri čemu se bakterije različito ponašaju, ili ugibaju ili sporuliraju, dok tek relativno mali broj vrsta mikroorganizama može preživjeti u uvjetima visoke koncentracije soli (halofili). Primjerice, kritične koncentracije soli za *Clostridium saccharobutyricum* su 3-6 %, za *Clostridium botulinum* 6,5 %, za pojedine vrste *E. coli* 8-9 %, a dok neke plijesni i površinski kvasci podnose koncentracije i iznad 20 %.^{2, 5, 6, 8}

1.3.2. Difuzija, osmoza i osmotski tlak

Difuzija je spontani proces raspršivanja ili difundiranja čestica (molekula, atoma, iona) iz otopine gdje je njihova brojnost (koncentracija) veća u otopinu gdje je ista manja pri čemu difundiraju i otopljeni tvar i otapalo. Proces difuzije otapala kroz polupropusnu (semipermeabilnu) membranu naziva se osmoza. Obzirom da je membrana polupropusna, tj. propušta molekule otapala, ono neprestano difundira iz izvanstaničnog prostora u stanicu i obrnuto, a pri prolasku kroz membranu nastaje pritisak, koji se naziva osmotskim tlakom.⁹

Osmotski tlak je mjerilo težnje nekog sustava da difuzijom uspostavi koncentracijsku ravnotežu na svim mjestima na kojima je ista poremećena, dok su osmotske sile pogonske sile procesa difuzije.¹⁰ Upravo je razlika osmotskih tlakova između dvaju sustava koja su razdvojena polupropusnom membranom pogonska sila za prijenos mase.¹¹ Otapalo će iz izvanstaničnog prostora ulaziti u stanicu (i obrnuto) sve dok se ne izjednači njezina koncentracija između stanice i izvanstaničnog prostora, odnosno dok se ne uspostavi ravnoteža između osmotskog i hidrostatskog tlaka.⁹

Kod postupaka konzerviranja hrane osmozom najčešće korištene otopine su otopine saharoze koje se koriste za osmotsku dehidraciju voća te otopine natrijevog klorida koje se koriste za dehidraciju povrća i proizvoda životinjskog podrijetla. Također, učestalo je korištenje i drugih otopina kao što su otopine laktoze, maltodekstrina, etanola, glukoze, glicerina i kukuruznog sirupa.^{12, 13}

1.3.3. Osmotska dehidracija

Osmotska dehidracija je energetski nisko zahtjevan proces, jer se zasniva na uklanjanju vode iz dehidrirajućeg materijala bez fazne transformacije te stoga i bez utroška energije za zagrijavanje sirovine i latentne topline isparavanja vode.¹⁴ Osmotska dehidracija je kombinacija dehidracijskog i impregnacijskog procesa, koji mogu minimizirati negativne promjene sastojaka svježih sirovina. Nakon potapanja svježe sirovine koja ima visok sadržaj vode u hipertoničnu osmotsku otopinu, pogonska sila za uklanjanje vode je gradijent koncentracije između otopine i unutar stanične tekućine. Zbog nesavršenog svojstva polupropusnosti membrana stanica, proces osmotske dehidracije omogućava prijenos materijala u dva suprotna pravca, između stanice i osmotske otopine, te obrnuto. Pri tome čvrste tvari otopljene u osmotskoj otopini ulaze u stanicu dehidratirane sirovine, dok plin koji ispunjava međustanični prostor izlazi iz sirovine u osmotsku otopinu. Korištenjem osmotskih otopina visokih koncentracija, voda intenzivno izlazi iz sirovine u osmotsku otopinu što uvijek prati i transport topljivih tvari, dok s druge strane, topljiva tvar prisutna u osmotskoj otopini ulazi u tkivo dehidratirajuće sirovine.

Ukoliko se namirnica koja se obrađuje potopi u osmotsku otopinu niske koncentracije, prijenos tvari je veći u smjeru unošenja topljivih tvari u sirovinu, nego li u smjeru uklanjanja vode iz nje. U tom slučaju javlja se proces tzv. „natapanje uz impregnaciju” (ili rehidriranje) pri čemu je gradijent koncentracije vode veći u otopini što dovodi do ulaska osmotske otopine u proizvod, a gradijent koncentracije topljivih tvari „izvlači” ih iz sirovine prema osmotskoj otopini. Stoga, neki pigmenti, aromatične tvari i nutrijenti izlaze iz proizvoda tijekom potapanja i rehidratacije.¹⁵ Na prijenos mase tijekom procesa osmotske dehidratacije utječu brojni čimbenici od kojih su najvažniji temperatura procesa, vrijeme trajanja procesa i koncentracija osmotske otopine obzirom da oni direktno utječu na prijenos mase.¹⁶

1.3.4. Primjena soli u preradi ribe i ostalih proizvoda ribarstva

Ideja očuvanja ribe za kasniju konzumaciju je također vrlo stara, a u svrhu postizanja tog cilja, čovjek je koristio različite prirodne fenomene, vjetar, dim, sol i sl., iz čega su poslije razvijeni razni tehnološki procesi konzerviranja kao što su hlađenje, sušenje, dimljenje i soljenje.⁵

Također, već su u Starom vijeku, u želji da sačuvaju svježinu ribe, ljudi koristili rashladni lanac potapajući ribu u hladnu vodu. Podatci govore da se tek u 13. stoljeću pojavila industrijska proizvodnja sušene i soljene ribe, dok prvi zapis fizikalnih metoda konzerviranja, koji potvrđuje prijevoz i trgovinu ribom u rashladnom lancu, datira iz 1786. godine. Za same početke razvoja postupaka konzerviranja zaslužan je francuski industrijalac, pivničar i vinar Nicolas Appert, koji je toplinski obradio hranu u staklenki zatvorenoj plutenim čepom kojeg je pričvrstio žicom. Zaključak Apperta o primjenjenom postupku je bio da staklenka mora ostati zatvorena jer će se u protivnom sadržaj u njoj pokvariti ne znajući u tom trenutku razloge njena kvarenja. Tek 50 godina poslije Louis Pasteur je utvrdio i doveo u uzročnu vezu kvarenje namirnica s prisutnošću i djelovanjem mikroorganizama. Ovisno o potrebama i sredini, tehnologija konzerviranja se postepeno usavršavala, a svoj vrhunac je dosegla početkom 19. stoljeća, kada je izumljena prva konzerva. Na temelju Appertova otkrića u Nantesu je 1824. godine podignuta prva tvornica za preradu ribe sterilizacijom.^{3,5}



Slika 3. Termička obrada konzervirane ribe⁴

1.3.4.1. Soljenje ribe u domaćinstvu

Grci i ostali narodi Sredozemlja razvijali su tehnike soljenja u malim posudama, tzv. barilama, koje su u pravilu male bačvice, drvene građe, bačvastog ili konusnog oblika. Napunjene ribom mogu težiti i do 60 kg. Soljenje ribe u barilama je diskontinuirani, ručni postupak koji se koristi od davnina, ali se na taj način soli riba u domaćinstvima i danas.⁵

Ako se soli cjelovita riba, dno čiste i namočene posude se prekrije solju ili jakom salamurum te se uredno složi prvi red čiste i oprane ribe, i to ukoso s utrobnim dijelom prema dnu. Naslagani red ribe se potom jednolično prekrije solju te se pristupa slaganju sljedećeg reda na način da se riba postavlja okomito na prethodni red. Postupak se ponavlja do vrha barila na način da se posljednji red slaže opet ukoso, utrobnim dijelom prema otvoru.

Glava ribe je uvijek okrenuta prema stijenci posude, a rep prema sredini. Zadnji red treba bogato posoliti, pritisnuti drvenim poklopcem i postaviti uteg. Tako napunjene barile se skladište u posebne prostorije za zrenje. Pod pritiskom utega zaostali zrak između ribe nestaje, a iz ribe se istiskuje voda i masnoća u kojima se, potom, otapa sol i stvara zasićenu salamuru. Kontrola zrenja se odvija svakodnevno pa se provjerava koncentracija salamure, način na koji je riba složena (je li natopljena salamurum), skida nakupljeno ulje s površine salamure i kontrolira propusnost barile (da ne bi došlo do gubitka salamure).⁵



Slika 4. Barile s posloženom i posoljenom ribom⁴

1.3.4.2. Industrijski način soljenja ribe

Nakon dopreme ribe u industrijski pogon ista se sprema u bazene ili bačve te dosoljava. Prihvatne rampe su uglavnom mehanizirane pa riba prolazi kroz stroj gdje se miješa sa soli nakon čega se odlaže u veće spremnike gdje se skladišti oko deset dana pri čemu dolazi do penetracije soli u meso ribe. U tehnološkom smislu ovo je najvažniji dio procesa, pri čemu je važno da je riba dobro izmiješana kako bi soljenje bilo ravnomjerno i potpuno. Nakon desetak dana, ribi se uklanjaju nejestivi dijelovi (glava, utroba i rep) te se prebacuje u ambalažu za zrenje (najčešće bačve zapremnine 10 kg). Tijekom zrenja je bitno preslagivati i nadopunjavati bačvice, a sam proces zrenja traje različito za različite vrste, odnosno ovisi o veličini same ribe. Tijekom procesa se provode kontrole kod kojih je potrebno s vrha uklanjati višak soli.⁵



Slika 5. Tradicionalni način soljenja ribe u tvornici⁴

2. EKSPERIMENTALNI DIO

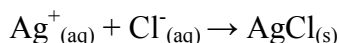
2.1. Sirovina i postupak pripreme uzoraka

Kao materijal i sirovina za pripremu uzoraka, u ovom radu, korišteni su očišćeni i smrznuti repovi jadranske kozice (*Lysmata seticaudata*). Kao kontrolni uzorak ispitano je ne tretirano meso kozice, dok su ostali uzorci pripremljeni uranjanjem repova kozica u zasićenu otopinu kuhinjske soli tijekom različitih vremenskih intervala: 15, 30, 45 i 60 minuta. Po završetku procesa namakanja kozica u salamuri iste su ocijedene, nakon čega im je meso usitnjeno korištenjem miksera kako bi se moglo koristiti za daljnja ispitivanja.

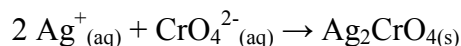
Za pripremu testnih otopina izvaže se $4 \pm 0,01$ g usitnjenog uzorka mesa kozice koje se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 200 mL. Uzorku se doda mala količina destilirane vode (15-20 mL), sadržaj se promiješa te se stavi zagrijati u vodenu kupelj na temperaturu 100 °C tijekom 15 minuta. Nakon toga se tikвица izvadi iz kupelji i ostavi da se sadržaj u njoj potpuno ohladi nakon čega se sadržaj tikvice nadopuni destiliranom vodom do oznake, snažno promiješa i filtrira. Dobiveni filtrat je korišten za određivanje soli u uzorku primjenom obje nadalje opisane metode.

2.2. Određivanje udjela soli metodom po Mohru

Metodom po Mohru određuje se koncentracija kloridnih iona u otopini titracijom sa srebrovim nitratom (AgNO_3). Kod ove metode postepenim dodavanjem otopine srebrovog nitrata u ispitivanu otopinu, nastaje bijeli talog srebrovog klorida (AgCl) prema jednadžbi:



Završna točka titracije očitava se kada se istalože svi kloridni ioni, a detektira se na način da naknadno dodani ioni srebra reagiraju s kromatnim ionima iz indikatora, kalijevog kromata (K_2CrO_4), pri čemu nastaje crveno-smeđi talog srebrovog kromata (Ag_2CrO_4) prema jednadžbi:



Ova metoda određivanja soli se učestalo koristi za određivanje koncentracije kloridnih iona u različitim uzorcima vode (npr. slatka voda, morska voda, voda na ušću, itd.).¹⁷

Priprema otopina:

- Otopina srebrovog nitrata (AgNO_3), $c = 0,1 \text{ mol/L}$: izvagati 4,25 g prethodno osušenog AgNO_3 i otopiti u 250 mL destilirane vode. Pripravljenu otopinu čuvati u tamnoj boci.
- Otopina kalijevog kromata (K_2CrO_4), $w = 5 \%$: izvagati 2 g K_2CrO_4 i otopiti u 40 mL destilirane vode.
- Otopina natrijevog hidroksida (NaOH), $c = 0,1 \text{ mol/L}$: 3,9997 g soli NaOH se otopi u destiliranoj vodi u volumenu od 1 L.

Postupak:

Za početak je kod ove metode potrebno ispitati pH filtrata univerzalnim indikator papirom, te se ukoliko je filtrat kiseo, isti neutralizira dodatkom 0,1 M otopine natrijevog hidroksida. Kod određivanja soli u uzorku metodom po Mohru se 25 mL filtrata pipetom prenese u Erlenmayer tikvicu, doda se nekoliko kapi indikatora (K_2CrO_4) te se otopina titrira 0,1 M otopinom AgNO_3 do pojave postojane crvenkaste boje koja ukazuje na postizanje završne točke titracije.



Slika 6. Prikaz završne točke titracije kod Mohr metode

Udio soli se računa prema sljedećoj jednadžbi:¹⁸

$$\text{Udio NaCl (\%)} = V (\text{AgNO}_3) \times f (\text{AgNO}_3) \times 0,00585 \times 4 \times 100/m$$

Gdje je:

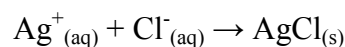
V- utrošak otopine AgNO₃ korištene za titraciju (mL)

f- faktor otopine AgNO₃ korištene za titraciju (1)

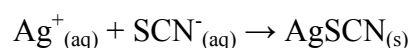
m- odvaga uzorka (g).

2.3. Određivanje udjela soli metodom po Volhardu

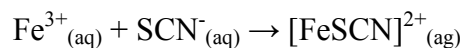
Za određivanje kloridnih iona u otopini, metoda po Volhardu koristi titraciju s kalijevim tiocijanatom (KSCN). Prije same titracije, otopini kloridnih iona se doda srebrov nitrat u suvišku (dodani molovi nitrata premašuju molove natrijeva klorida u uzorku) kako bi bili sigurni da će svi kloridni ioni iz otopine izreagirati, a pri tome nastaje talog srebrovog klorida prema jednadžbi:



Potom se u otopinu doda indikator, ioni Fe³⁺ odnosno otopina amonijevog željezova sulfata (NH₄Fe(SO₄)₂ × 12H₂O) te se otopina titrira s amonijevim tiocijanatom. Titrat ostaje blijedožute boje sve dok višak srebrovih iona ne izreagira s tiocijanatnim ionima tvoreći pri tome talog srebrovog tiocijanata (AgSCN):



Kada su svi ioni srebra izreagirali, suvišak tiocijanata reagira s Fe³⁺ pri čemu nastaje kompleks tamno crvene boje:



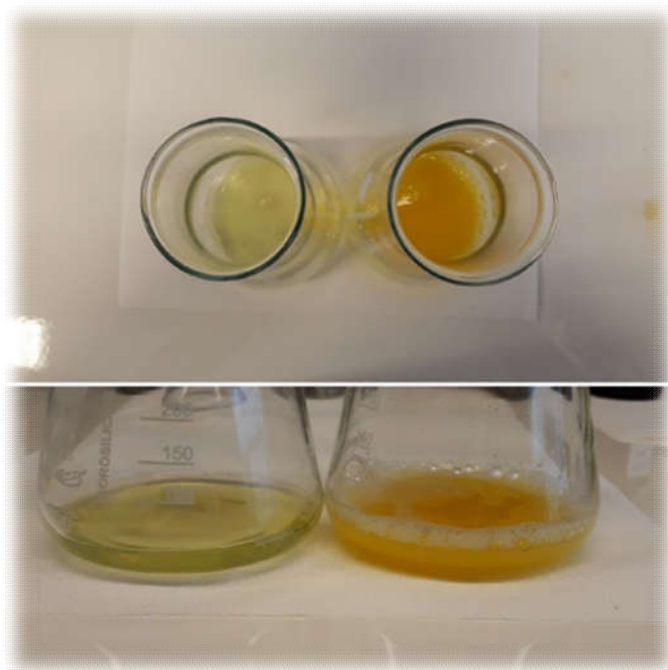
Koncentracija kloridnih iona se odredi na način da se izračuna razlika između molova srebra utrošenih za reakciju s tiocijanatom i molova srebra ukupno dodanih u otopinu. Ova metoda se koristi kada je pH ispitivane otopine niži od 3.^{19, 20}

Priprema otopina:

- Otopina srebrovog nitrata (AgNO_3), $c = 0,1 \text{ mol/L}$: izvagati 4,25 g prethodno osušenog AgNO_3 , otopiti u 250 mL destilirane vode. Pripravljenu otopinu čuvati u tamnoj boci.
- Otopina amonijevog tiocijanata (NH_4SCN), $c = 0,1 \text{ mol/L}$: izvagati 1,9 g NH_4SCN i otopiti ga u 250 mL destilirane vode.
- Otopina amonijevog željezova sulfata [$\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \times 12\text{H}_2\text{O}$]: otopiti 40 g $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \times 12\text{H}_2\text{O}$ u 100 mL destilirane vode uz dodatak par kapi koncentrirane dušične kiseline (HNO_3 , $c = 6 \text{ mol/L}$).

Postupak:

U Erlenmayer tikvicu se otpipetira 25 mL filtrata te mu se doda poznati volumen srebrovog nitrata u količini koja je dovoljna da se svi kloridi istalože (10 mL) u vidu srebrovog klorida (AgCl). Potom se otopini doda 20 mL HNO_3 , nakon čega se uzorak zagrijava u vodenoj kupelji dok se sve krutine, osim srebrovog klorida, ne otope. Nakon hlađenja sadržaju u tikvici se doda 50 mL destilirane vode i 5 mL indikatora te se titrira sa 0,1 M otopinom amonijevog tiocijanata do pojave svijetlosmeđe boje.



Slika 7. Završna točka titracije kod Volhard metode

Udio soli se računa prema sljedećoj jednadžbi ²¹:

$$\text{Udio NaCl (\%)} = V (\text{AgNO}_3) - V (\text{NH}_4\text{SCN})$$

Gdje je:

V- utrošak otopine AgNO₃/NH₄SCN korištene za titraciju (mL).

2.4. Testiranje čistih otopina soli

Primjenom metode po Mohru i metode po Volhardu određen je udio soli u otopinama pripremljenim otapanjem određene količine kuhinjske sitne, jodirane, morske soli (Solana Pag, Svilno, Pag) u destiliranoj vodi. U tu svrhu su pripremljene otopine soli (1, 2, 5 i 10 %) direktnim otapanjem određene mase (0,5, 1, 2,5 i 5,0 g) u 50 mL destilirane vode u odmjernim tikvicama.

Postupak određivanja metodom po Mohru:

Na 10 mL uzorka doda se 50 mL destilirane vode. Nakon toga se doda 1 mL kromatnog indikatora te titrira s otopinom srebrovog nitrata. Titracija je gotova kada boja otopine prijeđe iz žute u crveno-smeđu boju.

Postupak određivanja metodom po Volhardu:

U 10 mL uzorka dodaje se poznati volumen srebrovog nitrata i 20 mL dušične kiseline te zagrijava 15 minuta. Nakon zagrijavanja i hlađenja na sobnu temperaturu dodaje se 50 mL destilirane vode i 5 ml indikatora i titrira sa 0,1 M amonijevim tiocijanatom do pojave svijetlosmeđe boje.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Određivanje udjela soli u referentnom uzorku kozice

U tablici 1. prikazani su rezultati određivanja udjela soli u referentnom uzorku kozice metodom po Mohru.

Tablica 1. Određivanje udjela soli u referentnom uzorku kozice Mohrovom metodom

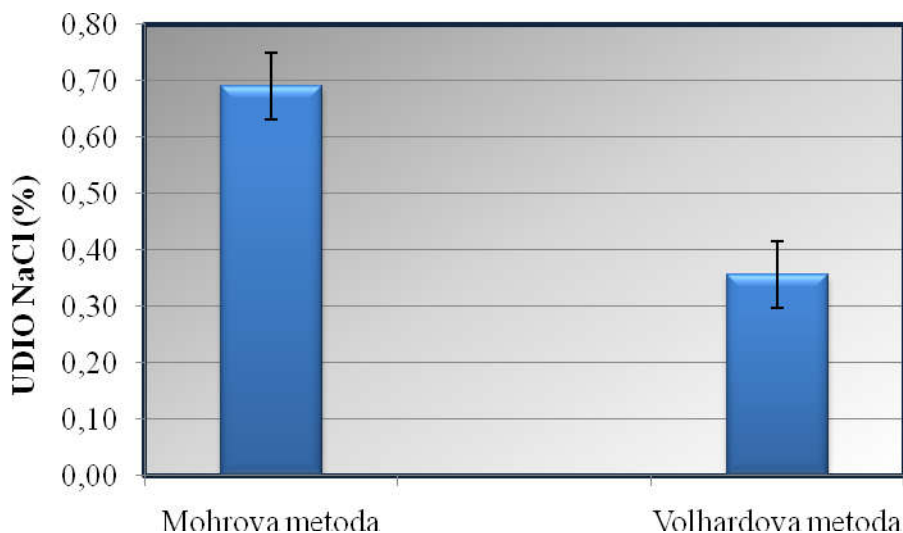
Masa uzorka (g)	Utrošak AgNO ₃ (mL)			Udio NaCl (%)
4,0783	1,3	1,1	1,1	0,69 ± 0,06
4,0818	1,4	1,2	1,2	
4,0737	1,2	1,2	1,1	

Kao što je vidljivo iz tablice, ispitivanje je urađeno na tri odvage reprezentativnog uzorka mesa kozice ($m \approx 4,0$ g) i na način da su dobiveni filtrati od pojedinog uzorka titrirani u tri ponavljanja, a kao konačan rezultat izračunata je srednja vrijednost svih devet određivanja.

Tablica 2 sadrži podatke određivanja udjela soli u uzorku mesa kozice koji su dobiveni korištenjem Volhard metode. Ispitivanje je vršeno na jednak način kao i kod prethodne metode, a kao konačan rezultat je prikazana srednja vrijednost svih mjerenja.

Tablica 2. Određivanje udjela soli u referentnom uzorku kozice Volhardovom metodom

Masa uzorka (g)	Utrošak NH ₄ SCN (mL)			Udio NaCl (%)
4,0783	10,1	10,1	10,2	0,36±0,06
4,0818	10,2	10,2	10,1	
4,0737	10,1	10,2	10,1	



Slika 8. Usporedni prikaz udjela soli u kozici određen Mohrovom i Volhardovom metodom

Na slici 8 vidljiv je usporedni prikaz rezultata određivanja udjela soli u svježoj kozici, određen metodama po Volhardu i Mohru. Kao što je vidljivo, metoda određivanja soli metodom po Mohru rezultirala je s nešto višim udjelom soli u svježoj kozici nego li je onaj dobiven metodom po Volhardu.

3.2. Određivanje udjela soli u salamurenoj kozici

3.2.1. Mohrova metoda

U tablicama 3-6. prikazani su rezultati određivanja udjela soli u uzorcima kozice koja je namakana u salamuri određeni vremenski period metodom po Mohru.

Tablica 3. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 15 minuta namakanja u salamuri metodom po Mohru

Utrošak AgNO ₃ (mL)			Udio NaCl (%)
6,5	6,3	6,3	3,71±0,04
6,4	6,4	6,3	
6,3	6,4	6,4	

Tablica 4. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 30 minuta namakanja u salamuri metodom po Mohru

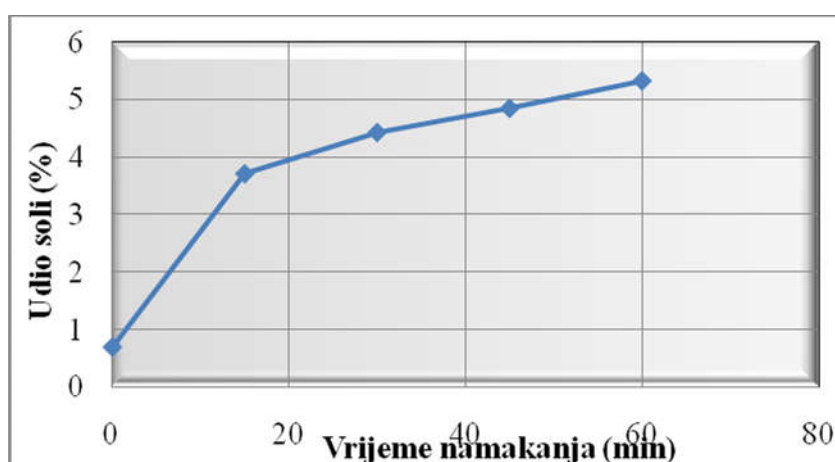
Utrošak AgNO ₃ (mL)			Udio NaCl (%)
7,7	7,6	7,5	4,43±0,04
7,6	7,7	7,6	
7,6	7,5	7,5	

Tablica 5. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 45 minuta namakanja u salamuri metodom po Mohru

Utrošak AgNO ₃ (mL)			Udio NaCl (%)
8,2	8,2	8,3	4,85±0,03
8,3	8,4	8,4	
8,3	8,4	8,3	

Tablica 6. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 60 minuta namakanja u salamuri metodom po Mohru

Utrošak AgNO ₃ (mL)			Udio NaCl (%)
9,1	9,2	9,1	5,33±0,03
9,3	9,2	9,2	
9,3	9,3	9,2	



Slika 9. Prikaz kinetike porasta udjela soli određen metodom po Mohru tijekom namakanja kozice u salamuri

Iz gore prikazanih tablica 3-6 te na slici 9 se može vidjeti porast udjela soli u kozici s vremenom namakanja iste u salamuri. Najznačajniji porast udjela soli u mesu kozice vidljiv je već nakon prvih 15 minuta namakanja, gdje se udio soli povećao za čak 3 %, dok je u sljedećih 45 minuta porast bio postepen. U konačnici nakon 60 minuta namakanja, udio soli u mesu kozice iznosi 5,33 %, a obzirom na trend porasta može se pretpostaviti da ukoliko bi se namakanje nastavilo još neko vrijeme, udio soli bi još malo porastao sve do točke kada bi došlo do potpunog zasićenja uzorka (maksimalnog udjela soli u mesu) te konstantne vrijednosti.

3.2.2. Volhardova metoda

U tablicama 7-10 prikazani su rezultati određivanja udjela soli u uzorcima kozice koja je namakana u salamuri određeni vremenski period metodom po Volhardu.

Tablica 7. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 15 minuta namakanja u salamuri metodom po Volhardu

Utrošak NH ₄ SCN (mL)			Udio NaCl (%)
4,4	4,4	4,1	5,92±0,08
3,9	3,9	3,9	
4,0	4,0	4,1	

Tablica 8. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 30 minuta namakanja u salamuri metodom po Volhardu

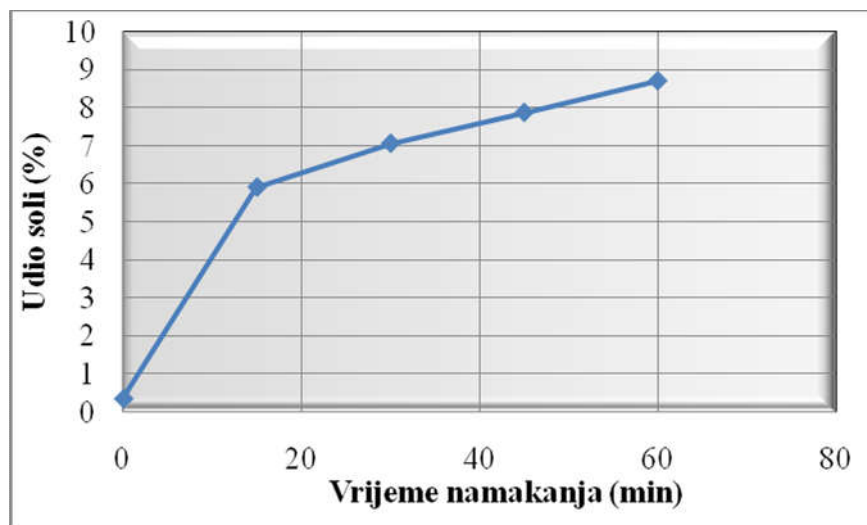
Utrošak NH ₄ SCN (mL)			Udio NaCl (%)
3,0	3,0	2,8	7,07±0,06
2,9	2,9	2,9	
3,0	3,0	2,9	

Tablica 9. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 45 minuta namakanja u salamuri metodom po Volhardu

Utrošak NH_4SCN (mL)			Udio NaCl (%)
2,2	2,0	2,0	7,88±0,10
2,1	2,2	2,2	
2,0	2,2	2,2	

Tablica 10. Određivanje udjela soli u uzorku kozice nakon 60 minuta namakanja u salamuri metodom po Volhardu

Utrošak NH_4SCN (mL)			Udio NaCl (%)
1,4	1,3	1,3	8,71±0,04
1,2	1,3	1,2	
1,3	1,3	1,3	



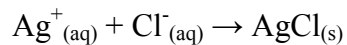
Slika 10. Prikaz kinetike porasta udjela soli određen metodom po Volhardu tijekom namakanja kozice u salamuri

Iz tablica 7-10 i sa slike 10 je vidljivo da, kao i kod Mohrove metode, udio soli naglo raste tijekom prvih 15 minuta namakanja, dok je poslije porast dosta blaži i nakon 60 min namakanja iznosi 8,71 %.

3.3. Određivanje udjela soli u otopini

Osim određivanja udjela soli u kozicama, u svrhu usporedbe rezultata dobivenih ovim dvjema metodama, testirane su otopine soli poznatih koncentracija (1, 2, 5 i 10 %). Iz dobivenih rezultata, tj. utrošaka otopine srebrovog nitrata kod Mohr metode, te utrošaka otopine amonijevog tiocijanata kod Volhard metode moguće je analitičkim proračunom odrediti udio soli u testiranim otopinama i na ovaj način usporediti tj. ocijeniti preciznost korištenih metoda.

Mohrova metoda:



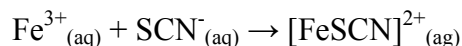
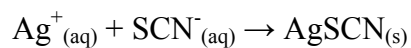
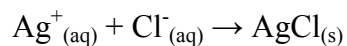
$$n(\text{Ag}^+) = n(\text{Cl}^-) = n(\text{AgNO}_3) = n(\text{NaCl})$$

$$c(\text{Ag}^+) \times V(\text{Ag}^+) = m(\text{NaCl}) / M_r(\text{NaCl})$$

$$m(\text{NaCl u 10 mL uzorka}) = c(\text{AgNO}_3) \times V(\text{AgNO}_3) \times M_r(\text{NaCl})$$

$$w(\text{NaCl}) (\%) = m(\text{NaCl u 10 mL uzorka}) \times 10 (\text{za 100 mL}) \times 5 (\text{razrjeđenje uzorka})$$

Volhardova metoda:



$$n(\text{Ag}^+)_{\text{ukupni}} = n(\text{Ag}^+)_{\text{Cl}} + n(\text{Ag}^+)_{\text{SCN}}$$

$$n(\text{Ag}^+)_{\text{Cl}} = n(\text{Ag}^+)_{\text{ukupni}} - n(\text{Ag}^+)_{\text{SCN}}$$

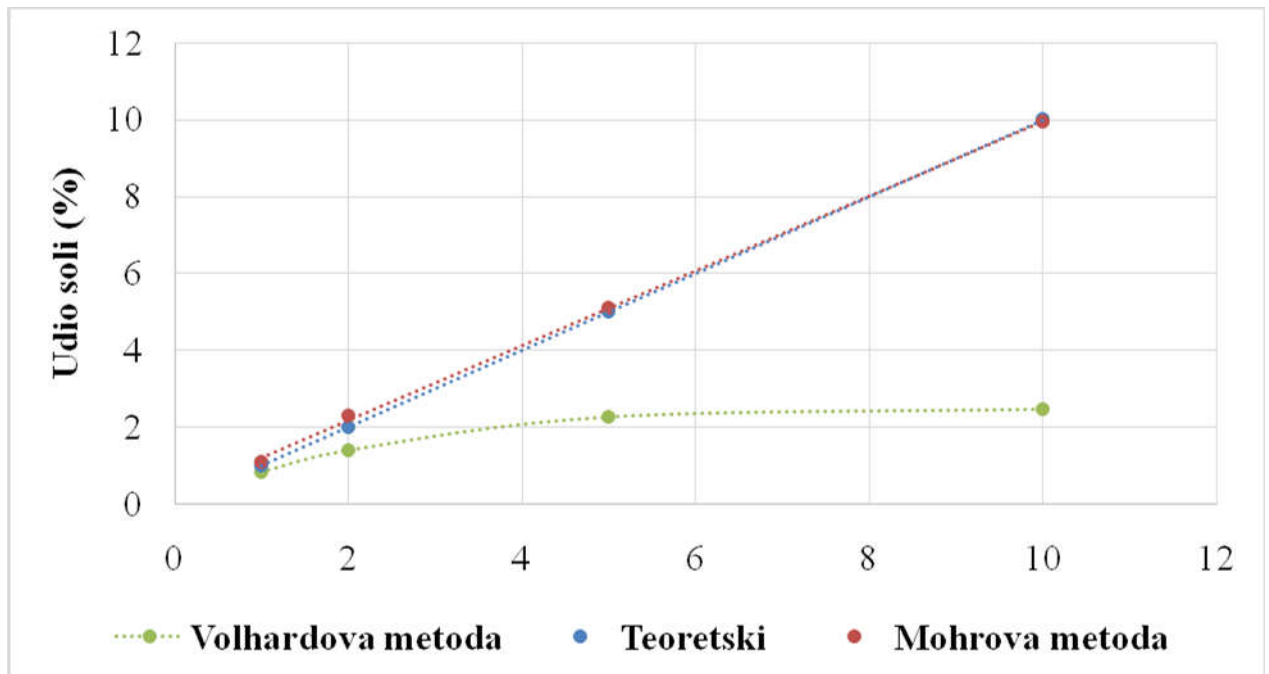
$$n(\text{Ag}^+)_{\text{Cl}} = c(\text{AgNO}_3) \times V(\text{AgNO}_3) - c(\text{NH}_4\text{SCN}) \times V(\text{NH}_4\text{SCN})$$

$$m(\text{NaCl u 10 mL uzorka}) = n(\text{Ag}^+)_{\text{Cl}} \times M_r(\text{NaCl})$$

$$w(\text{NaCl}) (\%) = m(\text{NaCl u 10 mL uzorka}) \times 10 (\text{za 100 mL}) \times 5 (\text{razrjeđenje uzorka})$$

Tablica 11. Prikaz izračunatih vrijednosti za udio soli u otopinama određen metodama po Mohru i Volhardu u usporedbi s teoretskim vrijednostima

Udio soli (%)		
Teoretska vrijednost	Mohr metoda	Volhard metoda
1	1,09	0,83
2	2,28	1,39
5	5,09	2,26
10	9,94	2,46



Slika 11. Usporedni prikaz određivanja udjela soli u otopini metodama po Mohru i Volhardu i usporedba s teoretskim vrijednostima

Iz gore prikazanog, lako se da zaključiti da Mohrova metoda više odgovara za ovaj tip ispitivanja od Volhardove i da daje točnije i preciznije rezultate.

4. ZAKLJUČAK

U konačnici, usporedbom rezultata dobivenih objema metodama, može se vidjeti da se dobiveni rezultati znatno razlikuju. Razlog tome je što Mohrova i Volhardova metoda nisu namijenjene za ispitivanja u istim uvjetima. Poznato je da se metodom po Mohru testiraju uzorci čija pH vrijednost se kreće od 6,5 do 9, dok ukoliko je uzorak kiseo, isti se mora neutralizirati prije određivanja. S druge strane, Volhardova metoda se koristi kada je pH vrijednost uzorka 3 ili niža, što u našem eksperimentu nije bio slučaj. Stoga se može zaključiti da je u slučaju testiranja uzoraka kozice metoda po Mohru znatno pogodnija te se ista preporuča za ovaj tip određivanja.

5. LITERATURA

1. Živković J. Higijena i tehnologija mesa. Kakvoća i prerada. II dio. Tipografija, Đakovo, 1986.
2. Lovrić T. Procesi u prehrambenoj industriji: s osnovama prehrambenog inženjerstva. Zagreb: Hinus, 2003.
3. Car Kolarić A.. Praktikum konzerviranja hrane: udžbenik s vježbama za praktičnu nastavu u 2. razredu srednjih prehrambenih škola. Zagreb: Školska knjiga, 2010.
4. Conex trade (www.conex-trade.com/production.php?lang=HR) (Pristupljeno 07. srpnja 2019)
5. Šoša B. Higijena i tehnologija prerade morske ribe. Zagreb: Školska knjiga, 1989.
6. Thorarindottir KA, Arason S, Bogason SG, Kristbergsson K. The effects of various salt concentration during brine curing of cod (*Gadus morhua*). *Inter J Food Sci Tech*. 2004;39(1):79-89.
7. Van Nguyen M, Arason S, Thorarindottir KA, Thorkelsson G, Gudmundsdottir A. Influence of salt concentration on the salting kinetics of cod loin (*Gadus morhua*) during brine salting. *J Food Eng*. 2010;100(2):225-231.
8. Borgstrom G. (Ed.). *Fish as Food*. Vol. IV. Processing Part 2. New York and London: Academic Press Inc., Publ. 1965.
9. <http://www.osnovekemije.com/2018/06/27/osmotski-tlak/> (Pristupljeno 07. srpnja 2019)
10. Potter NN, Hotchkiss JH. *Food Science*. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, 1998.
11. Lewiki PP, Lenart A. Osmotic dehydration of fruits and vegetables. U *Handbook of industrial drying*, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, Florida, 2006.
12. Hawkes J, Flink JM. Osmotic concentration of fruit slices prior to freeze dehydration. *Inter J Food Sci Tech*. 1978;2:265-284.
13. Papac S. Utjecaj ultrazvuka na osmotsku dehidraciju kore naranče. Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.
14. Torreggiani D. Osmotic dehydration in fruit and vegetable processing. *Food Res Int*. 1993;26:59-68.

15. Shi J, Xue SJ. Application and development of osmotic dehydration technology in food processing. U *Advances in Food Dehydration*, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2009.
16. Tortoe C. A review of osmodehydration for food industry. *African Journal of Food Science* 2010;4:303-324.
17. https://www.canterbury.ac.nz/media/documents/science-outreach/chloride_mohr.pdf (Pristupljeno 02. srpnja 2019)
18. Pavlinić M. Kuhinjska sol u pršutu. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb 2015.
19. https://www.canterbury.ac.nz/media/documents/science-outreach/chloride_volhard.pdf (Pristupljeno 07. srpnja 2019)
20. Prkić A. Vježbe iz analitičke kemije (interna recenzirana skripta) KTF Split, Split 2014.
21. AOAC Official Method 937.09, Salt (Chlorine as Sodium Chloride) in Seafood, Volumetric Method.