

ĆWICZENIE VI – KONSERWANTY I PRZECIWUTLENIACZE. SUBSTANCJE SMAKOWE.

Celem ćwiczenia jest zapoznanie się z metodami wykrywania niektórych syntetycznych substancji konserwujących, przeciwutleniających i smakowych oraz z zakresem ich stosowania jako dodatki do żywności.

Odczynniki:

- Chlorek żelazowy (FeCl_3), 1% roztwór
- Pasek bibuły nasączony 10% roztworem KIO_3 i 1% roztworem skrobi
- Etanol bezwodny
- Roztwór rodanku żelazowego
- Dwuchlorochinonochlorimid w 75% etanolu, 0,002% roztwór
- Czteroboran sodowy, 2 % roztwór wodny
- Stężony amoniak
- Kwas octowy, 5% roztwór wodny
- Żelazicyjanek potasu, 1% roztwór wodny
- Siarczan miedziowy, 0,1 N roztwór wodny
- Wanilina - roztwór 10% w alkoholu izopropylowym,
- Amoniak,
- Kwas siarkowy stężony,
- Azotan kobaltu – roztwór 2%,
- Wodorotlenek sodu – roztwór 2%,
- Amoniakalny roztwór siarczanu miedzi,
- Siarczan żelazawy – roztwór 2%,
- Wodorotlenek sodu – roztwór 5%,
- Nadtlenek wodoru – roztwór 10%.
- Kwas solny rozcieńczony,
- Kwas solny stężony,
- Żelazicyjanek potasu, roztwór 1%,
- Gwajakol – roztwór 5% w metanolu,

Sprzęt:

- Parownica porcelanowa mała,
- Łaźnia wodna elektryczna.
- Statyw na probówki,
- Probówki,
- Bagietka szklana.
- Zlewka o pojemności 100 cm^3 – 2 szt.
- Cylinder miarowy o pojemności 50 cm^3 – 1 szt.
- Płytką porcelanową – 1 szt.
- Szklany lejek – 1 szt.
- Sączek o średnicy 6 cm – 1 szt.
- Szklana bagietka – 1 szt.
- Pipeta pasteurowska – 1 szt.
- Kolba stożkowa z korkiem na szlif o pojemności 250 cm^3 – 1 szt.
- Biureta
- Łaźnia wodna

Material:

1. Przetwory owocowo-warzywne
2. Tłuszcze spożywcze

A ponadto: Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 18 września 2008 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych

1. Wykrywanie syntetycznych substancji konserwujących

1.1 Wykrywanie kwasu benzoesowego oraz salicylowego w produktach owocowo-warzywnych

Metoda polega na reakcji barwnej kwasu benzoesowego lub salicylowego z FeCl_3 .

Wykonanie

Odważyć w zlewce 5 g produktu, dodać 20 cm^3 wody destylowanej, dokładnie wymieszać. Roztwór podgrzać na kuchence elektrycznej i przesączyć. Parę kropli przesącza przenieść następnie do wgłębienia płytki porcelanowej i dodać 1 kroplę 1-procentowego FeCl_3 .

Wynik

Pojawienie się brudnopomarańczowego zabarwienia będzie świadczyło o obecności kwasu benzoesowego, natomiast pojawienie się barwy fioletowej oznaczać będzie obecność kwasu salicylowego – substancji nie dopuszczonej w Polsce do utrwalania żywności.

1.2 Wykrywanie obecności związków siarkowych w produktach owocowo-warzywnych

Wykonanie

Odważyć w zlewce 10 g produktu, dodać 50 cm^3 wody destylowanej i dokładnie wymieszać. Mieszankę przenieść do kolby stożkowej na szlif, dodać 5 cm^3 10 % HCl i kolbkę natychmiast zamknąć korkiem z paskiem bibuły nasyconej 10% roztworem KIO_3 i 1% roztworem skrobi.

Wynik

W ciągu kilku minut należy obserwować wygląd paska bibuły: niebieskie zabarwienie bibuły świadczy o obecności SO_2 (UWAGA: barwa ta znika stopniowo na skutek wiązania powstałego jodu przez następne porcje wydzielającego się gazu).

2. Wykrywanie syntetycznych przeciwutleniaczy

2.1. Wstępne wykrywanie obecności środka przeciwutleniającego w tłuszczach

Zasada metody polega na określeniu zmiany barwy czerwonego rodanku żelazowego w wyniku reakcji jonów Fe^{3+} z przeciwutleniaczem.

Wykonanie

1 cm^3 lub 1 g tłuszczu rozpuścić w probówce w 2 cm^3 bezwodnego etanolu, ogrzać na łaźni wodnej do otrzymania jednolitego roztworu, po ostudzeniu dodawać z biurety

kroplami (0,1 – 1 cm³) roztwór rodanku żelazowego do otrzymania trwałego czerwonego zabarwienia i obserwować zmiany barwy.

Wynik

W obecności środka przeciwutleniającego rodanek żelazowy zaczyna odbarwiać się po 2-3 minutach (w przypadku galusanów powstanie niebieskoszare zabarwienie). W przypadku czystych tłuszczów i olejów już dodatek 0,1 cm³ wskaźnika powoduje powstawanie czerwonego zabarwienia, utrzymującego się przez kilka godzin. Stężenie jonów Fe³⁺ oraz środowisko SA tak dobrane, że tokoferoli (które mogą naturalnie występować w olejach) nie można wykryć w tej próbie. W przypadku BHA reakcja nie zachodzi.

2.2. Wykrywanie obecności BHA w tłuszczach

Wykonanie

1 cm³ lub 1 g tłuszczu rozpuścić w probówce w 2cm³ bezwodnego etanolu, ogrzać na łaźni wodnej do otrzymania jednolitego roztworu, po ostudzeniu dodać 12 cm³ 0,002-procentowego roztworu 2,6-dwuchlorochinonochloramidu w 75-procentowym etanolu, a po dokładnym wymieszaniu – 2 cm³ buforu boranowego.

Wynik

W obecności BHA występuje niebieskie (indofenolowe) zabarwienie, którego intensywność osiąga maksimum po 10 minutach. Przy równoczesnej obecności BHA i galusanów zabarwienie niebieskie przyjmuje szarawy odcień i szybko blednie.

2.3. Wykrywanie obecności galusanów w tłuszczach

Wykonanie

1 cm³ lub 1 g tłuszczu rozpuścić w probówce w 2 cm³ bezwodnego etanolu, ogrzać na łaźni wodnej do otrzymania jednolitego roztworu, po ostudzeniu dodać 0,5 – 1 cm³ stężonego amoniaku, silnie wstrząsnąć.

Wynik

Różowe zabarwienie świadczy o obecności galusanów. Barwa znika po 10-15 minutach.

2.4. Wykrywanie obecności hydrochinonu (nieдозwolony) w tłuszczach

Zasada metody polega na reakcji hydrochinonu z żelazicyjankiem potasu w kwaśnym środowisku. Powstający w wyniku utleniania hydrochinonu chinon może dawać przejściowo zabarwienie żółte, natomiast w wyniku redukcji żelazicyjanku powstaje żelazocyjanek, który z jonami Cu²⁺ daje czerwono-brunatny osad sześciocyjanożelazianu miedziowego.

Wykonanie

1 cm³ lub 1 g tłuszczu zmieszać w probówce z 2 cm³ wody, dodać 3 cm³ 5% kwasu octowego, a następnie 3 krople 1% roztworu żelazicyjanku potasu i 0,5 cm³ 0,1 N roztworu siarczanu miedziowego.

Wynik

Czerwono-brunatne zabarwienie lub płatkowaty osad wskazują na obecność hydrochinonu.

Opis wyników

Otrzymane wyniki przedstawić w formie zestawienia, oceniając jednocześnie na podstawie Rozporządzenia Ministra Zdrowia (2008 rok), czy wykryty w badanym tłuszczu środek przeciwutleniający może być do niego stosowany:

próba na obecność:	dokonane obserwacje	wniosek
środka przeciwutleniającego		
BHA		
galusanów		
hydrochinonu		

3. Określanie w oparciu o Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 18 IX 2008 r. jakie konserwanty i przeciwutleniacze mogą być stosowane w produktach spożywczych

Wykonanie

Korzystając z tabel zamieszczonych w załączniku nr 4 Rozporządzenia MZ określić, jakie konserwanty i przeciwutleniacze mogą być stosowane do produktów spożywczych podanych przez asystenta. Podać symbole tych substancji wg oznaczeń Unii Europejskiej i ewentualnie podać maksymalne dawki tych dodatków.

4. Wykrywanie syntetycznych kwaśnych substancji smakowych

4.1. Wykrywanie obecności kwasu cytrynowego

4.1.1. Reakcja z waniliną

Wykonanie

- Ok. 2 cm³ roztworu badanej próbki i ok. 2 cm³ 10% roztworu waniliny w alkoholu izopropylowym wlać do małej parowniczk i odparować do sucha w łaźni wodnej.
- Do pozostałości dodać 4 krople stężonego kwasu siarkowego i ogrzać na wrzącej łaźni wodnej. Obserwować, czy pojawi się fioletowe zabarwienie.
- Następnie wlać do parowniczk ok. 10 cm³ wody i odczekać, aż zawartość rozpuści się w wodzie. Sprawdzić, czy roztwór ma barwę zieloną.
- Do roztworu dodawać kroplami amoniak i obserwować, czy pojawi się barwa czerwono-brązowa lub czerwona.

Wynik

Pojawienie się barwy fioletowej w p. B, barwy zielonej w p. C i barwy czerwono-brązowej lub czerwonej w p. D świadczy o obecności kwasu cytrynowego w badanej próbce.

Uwagi

- Reakcja ta pozwala wykryć 0,002 g kwasu cytrynowego.
- Reakcja ta pozwala wykrywać 0,02 g kwasu cytrynowego w obecności kwasu winowego, kwasu jabłkowego, kwasu szczawowego, kwasu benzoowego, kwasu salicylowego, kwasu octowego, kwasu mlekowego i innych kwasów.

4.2. Wykrywanie obecności kwasu jabłkowego

4.2.1. Reakcja z azotanem kobaltu i amoniakalnym roztworem soli miedzi

Wykonanie

- A. Do probówki wlać ok. 2 cm³ roztworu badanej próbki, ok. 1 cm³ 2% roztworu azotanu kobaltu i ok. 1 cm³ 2% roztworu wodorotlenku sodu. Obserwować, czy pojawi się zabarwienie ciemnoniebieskie.
- B. Do otrzymanego ciemnoniebieskiego roztworu dodawać kroplami amoniakalny roztwór siarczanu miedziowego i obserwować, czy roztwór zabarwi się na zielono.

Wynik

Pojawienie się zielonego zabarwienia w p. B świadczy o obecności kwasu jabłkowego.

Uwaga

Ciemnoniebieskie zabarwienie w p. A powstaje także w obecności kwasu cytrynowego, podczas gdy zielona barwa roztworu w p. B jest specyficzna dla kwasu jabłkowego.

4.3. Wykrywanie obecności kwasu winowego

4.3.1. Reakcja z siarczanem żelazawym i nadtlakiem wodoru

Wykonanie

Do probówki wlać ok. 1 cm³ roztworu badanej próbki, ok. 1 cm³ 2% roztworu siarczanu żelazawego i 2 krople nadtlakiu wodoru. Do mieszaniny dodać kroplami nadmiar 5% roztworu wodorotlenku sodu. Sprawdzić, czy roztwór zabarwił się na fioletowo.

Wynik

Zabarwienie się roztworu na fioletowo świadczy o obecności kwasu winowego w badanej próbce.

Uwaga

Zabarwienia fioletowego nie dają w tej reakcji: kwas jabłkowy, kwas bursztynowy, kwas szczawiowy i kwas cytrynowy.

4.3.2. Reakcja z azotanem kobaltu

Wykonanie

- B. Do probówki wlać ok. 1 cm³ badanej próbki, ok. 1 cm³ 2% roztworu azotanu kobaltu i nadmiar 5% roztworu wodorotlenku sodu. Mieszaninę w probówce ogrzewać do wrzenia w płomieniu palnika. Obserwować, czy pojawia się zabarwienie ciemnoniebieskie.
- C. Ciemnoniebieski roztwór ochłodzić w zimnej wodzie i sprawdzić, czy znikło ciemnoniebieskie zabarwienie roztworu.

Wynik

Pojawienie się na gorąco ciemnoniebieskiego zabarwienia w p. B i odbarwienie się roztworu na zimno w p. C świadczą o obecności kwasu winowego w badanej próbce.

4.4. Wykrywanie obecności kwasu mrówkowego

Wykonanie

Kilka kropli badanej próbki zakwasić 10% kwasem solnym i dodać kawałek magnezu. Po 2 min. oddzielić nie przereagowany metal. Do trzech kropli otrzymanego roztworu dodać

1 kroplę roztworu chlorowodoru fenylhydrazyny, 1 kroplę roztworu żelazicyjanku potasu i 2 krople stężonego kwasu solnego.

Wynik

Pojawienie się różowego zabarwienia wskazuje na obecność kwasu mrówkowego.

4.5. Wykrywanie obecności kwasu mlekowego

4.5.1. Reakcja z gwajakolem

Wykonanie:

Do probówki wlać 4 krople roztworu badanej próbki i ok. 2 cm³ stężonego kwasu siarkowego. Mieszaninę ogrzać do wrzenia i następnie ochłodzić i w zimnej wodzie. Po oziębieniu dodać 2 krople 5% roztworu gwajakolu w metanolu. Obserwować, czy roztwór barwi się na czerwono.

Wynik

Czerwone zabarwienie roztworu świadczy o obecności kwasu mlekowego w badanej próbce.

Uwaga

Kwas mrówkowy, kwas octowy, kwas jabłkowy, kwas benzoowy i kwas salicylowy nie dają zabarwienia. Kwas cytrynowy daje słabe zabarwienie żółte, a kwas winowy słabe różowe.