**Analiza zawartości tiocyjanianów (SCN-) w wybranych warzywach krzyżowych**

**Cel:**

Wykrycie jonów tiocyjanianowych w warzywach jako źródła narażenia na przypadkowe lub umyślne zatrucia.

**Zasada metody:**

Jony tiocyjanianowe (SCN-) ulegają reakcji kompleksowania z jonami żelaza   
w środowisku kwaśnym. Wynikiem reakcji jest powstające czerwone zabarwienie próbki na skutek tworzenia się kompleksów od Fe(SCN)2+ do Fe(SCN)63-:

Fe3+ +SCN- → Fe(SCN)2+

Fe3+ +6(SCN)- → Fe(SCN)63-

**Zawartość tiocyjanianów w wybranych warzywach:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Produkt żywnościowy** | **Zawartość SCN- [mg/100g]** |
| Kapusta głowiasta | 3-6 |
| Jarmuż | 3-25 |
| Kapusta włoska | 18-31 |
| Brukselka | 10 |
| Kalafior | 4-10 |
| Kalarepa | 2-3 |
| Żółta rzepa | 9 |
| Rzepa | 2,5 |
| Sałata, szpinak, cebula, seler, rzodkiewka, pomidory | poniżej 1 |

**Materiał:**

Surowe warzywo: kalafior, szpinak

**Odczynniki:**

1. 5% kwas trichlorooctowy (TCA)
2. 2 M kwas azotowy (HNO3)
3. Azotan żelazowy (Fe(NO3)3)
4. Roztwór wzorcowy jonów SCN- o stężeniu C=10 μg/ml
5. Woda destylowana

**Wykonanie krzywej wzorcowej**

Należy przygotować według poniższej tabeli krzywą wzorcową:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Objętość 5% TCA**  **[ml]** | **Objętość roztworu wzorcowego KSCN**  **[ml]** | **Stężenie jonów SCN-**  **[μg/ml]** |
| 2,5 | - | 0 (ślepa) |
| 2 | 0,5 | 2 |
| 1,5 | 1 | 4 |
| 1 | 1,5 | 6 |
| 0,5 | 2 | 8 |
| - | 2,5 | 10 |

Z każdego roztworu pobrać 0,5 ml i dodać 0,5 ml Fe(NO3)3. Natychmiast zmierzyć absorbancję roztworów wzorcowych wobec próby ślepej przy długości fali λ=470 nm. Zmierzona absorbancja jest wprost proporcjonalna do stężenia jonów SCN- w próbie.

**Wykonanie oznaczenia:**

a) *przygotowanie warzywa do oznaczania jonów SCN-*

Z otrzymanego materiału (kalafior lub szpinak) odważyć 5 g i umieścić w moździerzu porcelanowym, następnie ucierać aż do uzyskania jednolitej masy. Tak przygotowaną próbę badaną przenieść do kolby stożkowej z korkiem na szlif o pojemności 50 ml używając 45 ml 5% TCA i wytrząsać przez 10 min.

Zawartość kolby przenieść do plastikowych probówek o pojemności 5 ml z korkiem i odwirować (4 000 obrotów/min przez 10 min). Z odwirowanego materiału delikatnie pobrać supernatant do dalszej analizy.

b) *Przygotowywanie prób do analizy*

Należy odpipetować podane odczynniki do 3 probówek według tabeli zamieszczonej poniżej:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Odczynnik** | **Próba odczynnikowa** | **Próba ślepa** | **Próba badana** |
| Supernatant [ml] | - | 0,5 | 0,5 |
| Azotan żelaza [ml] | 0,5 | - | 0,5 |
| Woda destylowana [ml] | 0,5 | 0,5 | - |

**Uwaga!**

**Po dodaniu azotanu żelazowego należy chronić próby przed dostępem światła!!!**

Zmierzyć absorbancję badanych prób (odczynnikowej i badanej) wobec próby ślepej przy długości fali λ=470nm w czasie nieprzekraczającym 5 minut.

**Podsumowanie:**

**\*Wynik przeliczyć na naważkę i na 100 g produktu.**