

Związki fenolowe w produktach spożywczych

Mateusz Witkowski

Celem ćwiczenia jest zapoznanie się z metodami wykrywania związków fenolowych w produktach spożywczych.

Odczynniki

- 1% roztwór chlorku żelaza(III) (FeCl_3)
- wanilina
- stężony kwas siarkowy(VI)
- 1% roztwór znanego związku fenolowego, np. kwasu salicylowego
- kwas salicylowy w substancji
- 2% alkoholowy roztwór chlorku glinu(III) (AlCl_3)
- stężony kwas chlorowodorowy (HCl)
- opłuki magnezu lub cynku
- metanol
- etanol 50%

Badane próbki

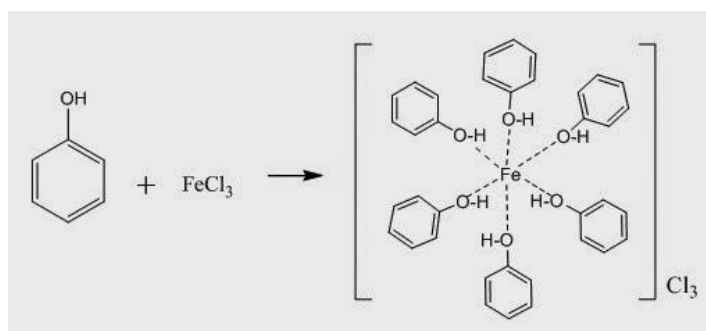
- produkt spożywczy lub jego ekstrakt
- soki owocowe i/lub warzywne
- kwas salicylowy

Sprzęt laboratoryjny

- probówki
- pipety pasteurowskie
- łyżka laboratoryjna
- moździerz z pistlem
- statyw na probówki
- szalka Petriego
- zlewka pojemności 100 cm^3
- nóż
- łaźnia wodna lub palnik

1. Wykrywanie związków fenolowych

Wykrywanie związków fenolowych jest możliwe dzięki tworzeniu przez ich grupę hydroksylową barwnych kompleksów z jonami żelaza pochodzącymi z chlorku żelaza(III). To reakcja bardzo czuła i specyficzna dla wszystkich związków fenolowych. Powstałe kompleksy pochłaniają fale ze spektrum światła widzialnego oraz UV. Oprócz tych jonów podobne kompleksy tworzą chlorek glinu i wanilina w obecności kwasu siarkowego. Równanie reakcji jonów Fe^{3+} z fenolami jest następujące:



UWAGA! Wszystkie poniżej opisane próby jakościowe wykonać należy dla uprzednio przygotowanych etanolowych ekstraktów badanych produktów. Lista badanych produktów stanowi załącznik do tej instrukcji.

1.1. Reakcja z chlorkiem żelaza(III)

Wykonanie

Do probówek odmierzyć 2 cm³ chlorku żelaza(III), dodać odpowiednio: roztwór związku fenolowego (np. 1% kwasu salicylowego) oraz próbkę badanego produktu wielkości pestki dyni (w przypadku kawałków owoców), kilka kropli soku albo ekstraktu lub szczyptę roztartej w moździerzu przyprawy. Zamieszać i obserwować zmianę barwy w poszczególnych probówkach.

Wynik

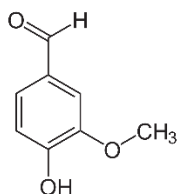
Pojawienie się barwy zielonej, zielononiebieskiej, niebieskiej, granatowej, fioletowej, czarnej, brązowej lub brunatnoczerwonej świadczy o obecności związków fenolowych w badanej próbce.

1.2. Reakcja z waniliną i kwasem siarkowym(VI)

Wykonanie

1 g waniliny rozpuścić w 200 cm³ stężonego kwasu siarkowego(VI) i odmierzyć po 2 cm³ do probówek. Następnie dodawać stopniowo, kroplami, roztwór związku fenolowego (np. 1% kwasu salicylowego) oraz próbkę badanego produktu wielkości pestki dyni (w przypadku kawałków owoców), kilka kropli soku albo ekstraktu lub szczyptę roztartej w moździerzu przyprawy. Zamieszać i obserwować, a następnie zanotować zmianę barwy w poszczególnych probówkach.

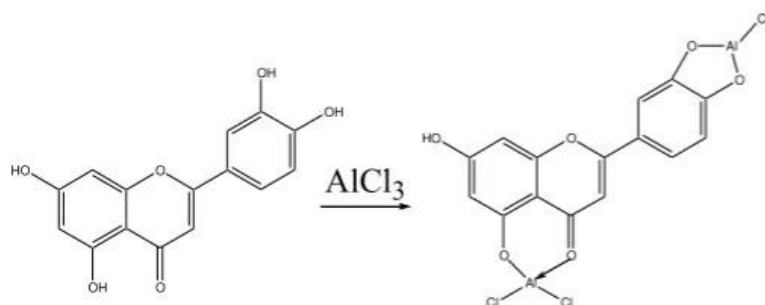
W wyniku kondensacji waniliny z fenolami, powstają sprzężone układy chromoforowe o zabarwieniach od czerwonego do niebieskiego



1.3. Reakcja z chlorkiem glinu

Wykonanie

Do probówek odmierzyć 2 cm³ 2% alkoholowego roztworu chlorku glinu(III), dodać roztworu związku fenolowego (np. 1% kwasu salicylowego) oraz próbkę ww. produktów i zamieszać. Obserwować i zanotować zmianę barwy w poszczególnych probówkach.



1.4. Reakcja cyjanidynowa (próba Shinody)

Wykonanie

Badane próbki produktów spożywczych umieścić w probówkach, dodać 5-6 opiłków magnezu lub cynku i kroplami dodawać kwas chlorowodorowy, mieszając. Zmiana zabarwienia roztworu świadczy o obecności flawonoidów w próbce. Obserwować i zanotować zmianę barwy w poszczególnych probówkach.

Wynik

Flawony dają barwę pomarańczową, flawonole - różową, flawanony - różowofioletową, chalkony i izoflawony nie dają zabarwienia. Reakcja nie zachodzi z prostymi fenolami.

1.5. Reakcja estryfikacji kwasu salicylowego

Wykonanie

Do próbki odmierzyć 1 cm³ metanolu, dodać niewielką ilość kwasu salicylowego w substancji oraz 2 krople stężonego kwasu siarkowego. Zawartość próbki ogrzewać w płomieniu palnika, lekko mieszając. Po ostudzeniu do próbki dodać 2 cm³ wody destylowanej i mocno wstrząsnąć.

Wynik

Pojawia się charakterystyczny zapach salicylanu metylu – estru kwasu salicylowego i metanolu.

2. Badanie brunatnienia enzymatycznego w jabłkach w różnych warunkach środowiska

Wykonanie

Przygotować ok. 160 cm³ wody destylowanej. Połowę tej objętości doprowadzić do wrzenia. Jabłko pokroić na plastry równej wielkości i grubości. Zapisać obserwacje dotyczące barwy miąższu. Każdy z plastrów przekroić następnie na 3 części. Pierwszą z nich zanurzyć na 30 s we wrzącej wodzie destylowanej i przenieść na szalkę Petriego, drugą - w pozostałej ilości wody destylowanej (w temperaturze pokojowej), a trzecią pozostawić na szalce. Obserwować zmianę barwy plastrów jabłek po 30 min.

Wynik

Po upływie wyznaczonego czasu należy porównać zmiany zabarwienia w każdym z naczyń. Określić, w której z próbek zaszło ciemnienie enzymatyczne, oraz uszeregować próbki według intensywności tego procesu.