



POLITECHNIKA ŁÓDZKA

Elżbieta Łodyga-Chruścińska  
Monika Turek, Małgorzata Bryszewska  
Joanna Jabłońska, Dorota Mańkowska  
Anna Sykuła-Zajac, Anna Wajs

# OZNACZANIE WYBRANYCH METALI TOKSYCZNYCH, ZWIĄZKÓW NIEORGANICZNYCH I ORGANICZNYCH W ŻYWNOSCI

Oznaczanie wybranych metali tok  
Oznaczanie wybranych me  
NG107945  
2010

ŁÓDŹ 2010

**POLITECHNIKA ŁÓDZKA**

**Elżbieta Łodyga-Chruścińska  
Monika Turek, Małgorzata Bryszewska  
Joanna Jabłońska, Dorota Mańkowska  
Anna Sykuła-Zajac, Anna Wajs**

**OZNACZANIE WYBRANYCH METALI TOKSYCZNYCH,  
ZWIĄZKÓW NIEORGANICZNYCH I ORGANICZNYCH  
W ŻYWNOŚCI**

**ŁÓDŹ 2010**



Recenzent: **prof. dr hab. Michał Wieczorek**

107945

**KOMITET REDAKCYJNY  
WYDAWNICTWA POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ**

Przewodniczący Komitetu Redakcyjnego: **prof. dr hab. inż. Piotr Wodziński**  
Redaktor Naukowy Wydziału: **dr hab. inż. Danuta Kalemba, prof. PŁ**

Skrypt jest przeznaczony dla studentów Politechniki Łódzkiej, Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności oraz innych Wydziałów Politechnik i Uniwersytetów, a także Uczelni Rolniczych. Mogą z niego również korzystać pracownicy laboratoriów badawczych oraz przemysłowych.

Projekt okładki: **Adam Smaga**

© Copyright by Politechnika Łódzka 2010

**WYDAWNICTWO POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ**  
90-924 Łódź, ul. Wólczańska 223  
tel/fax 42 684-07-93  
e-mail: [a-row-1@adm.p.lodz.pl](mailto:a-row-1@adm.p.lodz.pl)  
[www.wydawnictwa.p.lodz.pl](http://www.wydawnictwa.p.lodz.pl)

**ISBN 978-83-7283-363-1**

Nakład 100 egz. Ark druk. 6,0. Papier offset. 80 g 70 x 100  
Druk ukończono w czerwcu 2010 r.  
Wykonano w Drukarni Quick-Druk, 90-562 Łódź, ul. Łąkowa 11  
Nr 1938

OKA-001/928/2010

# SPIS TREŚCI

PRZEDMOWA.....	5
1. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK ŚRODOWISKOWYCH DO ANALIZY – MINERALIZACJA .....	7
1.1. Pojęcie mineralizacji .....	7
1.2. Podstawowe techniki rozkładu próbek.....	8
1.3. Sprzęt dostępny w laboratorium Instytutu Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej .....	11
2. OZNACZANIE CHROMU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH.....	14
2.1. Właściwości fizykochemiczne chromu .....	14
2.2. Występowanie chromu w środowisku i jego toksyczność .....	15
2.3. Oznaczanie chromu w tabletkach multiwitaminy i próbce o nieznanym stężeniu metodą spektrofotometryczną z difenylkarbazydem.....	18
2.3.1. Cel i zasada metody .....	18
2.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	19
2.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	19
2.3.4. Opracowanie wyników .....	20
3. OZNACZANIE GLINU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH.....	22
3.1. Właściwości fizykochemiczne glinu .....	22
3.2. Występowanie glinu w środowisku i jego toksyczność .....	23
3.3. Różnice zawartości glinu w napojach w butelkach, a w puszkach, oznaczanych metodą z eriochromocyjaniną R.....	25
3.3.1. Cel i zasada metody .....	25
3.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	25
3.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	26
3.3.4. Opracowanie wyników .....	27
4. OZNACZANIE KOBALTU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH .....	28
4.1. Właściwości fizykochemiczne kobaltu .....	28
4.2. Występowanie kobaltu w środowisku i jego toksyczność .....	29
4.3. Spektrofotometryczne oznaczanie zawartości jonów kobaltu w mineralizatach sojowych .....	30
4.3.1. Cel i zasada metody .....	30
4.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	31
4.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	32
4.3.4. Opracowanie wyników .....	33
5. OZNACZANIE MIEDZI W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH .....	34
5.1. Właściwości fizykochemiczne miedzi .....	34
5.2. Występowanie miedzi w środowisku i jej toksyczność .....	35
5.3. Spektrofotometryczne oznaczanie miedzi w sokach owocowych.....	38
5.3.1. Cel i zasada metody .....	38
5.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	38
5.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	39
5.3.4. Opracowanie wyników .....	40
6. OZNACZANIE NIKLU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH.....	42
6.1. Właściwości fizykochemiczne niklu .....	42

6.2. Występowanie niklu w środowisku i jego toksyczność .....	43
6.3. Oznaczanie niklu w herbacie, winie i piwie metodą kolorymetryczną z dwumetyloglioksymem .....	46
6.3.1. Cel i zasada metody .....	46
6.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	46
6.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	47
6.3.4. Opracowanie wyników .....	48
7. OZNACZENIE TIOCYJANIANÓW W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH .....	50
7.1. Właściwości fizykochemiczne tiocyjanianów.....	50
7.2. Występowanie tiocyjanianów w środowisku i ich toksyczność.....	54
7.3. Spektrofotometryczne oznaczenie zawartości tiocyjanianów w wybranych warzywach .....	55
7.3.1. Cel i zasada metody .....	55
7.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	56
7.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	56
7.3.4. Opracowanie wyników .....	57
8. OZNACZANIE WYBRANYCH BARWNIKÓW SYNTETYCZNYCH W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH.....	59
8.1. Właściwości fizykochemiczne barwników .....	59
8.2. Występowanie barwników w środowisku i ich toksyczność.....	59
8.3. Oznaczanie wybranych barwników syntetycznych w galaretkach owocowych i napojach .....	67
8.3.1. Cel i zasada metody .....	67
8.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	68
8.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	69
8.3.4. Opracowanie wyników .....	70
9. OZNACZANIE KUMARYNY W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH.....	72
9.1. Właściwości fizykochemiczne kumaryny .....	72
9.2. Występowanie kumaryny w środowisku i jej toksyczność .....	72
9.3. Oznaczanie kumaryny w napojach alkoholowych metodą chromatografii gazowej (GC) i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektroskopią mas (GC-MS) .....	74
9.3.1. Cel i zasada metody .....	74
9.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany .....	77
9.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	78
9.3.4. Opracowanie wyników .....	78
10. OZNACZANIE $\alpha$ - i $\beta$ -TUJONU W OLEJKACH ETERYCZNYCH .....	80
10.1. Właściwości fizykochemiczne $\alpha$ - i $\beta$ -tujonu .....	80
10.2. Występowanie $\alpha$ - i $\beta$ -tujonu w środowisku i ich toksyczność .....	81
10.3. Wydzielanie $\alpha$ - i $\beta$ -tujonu z liści szałwii lekarskiej oraz identyfikacja związków metodami chromatograficznymi .....	82
10.3.1. Cel i zasada metody .....	82
10.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany.....	84
10.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia.....	84
10.3.4. Opracowanie wyników .....	85
11. PYTANIA KONTROLNE.....	86



## **PRZEDMOWA**

Skrypt jest przeznaczony dla studentów Politechniki Łódzkiej, Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności oraz innych Wydziałów Politechnik i Uniwersytetów, a także Uczelni Rolniczych.

Ćwiczenia mają za zadanie zapoznanie studentów z podstawowymi metodami wykrywania wybranych związków, metali oraz ich oznaczania w produktach spożywczych.

W skrypcie opisany został proces mineralizacji próbek środowiskowych.

W części eksperymentalnej ćwiczenia laboratoryjne są poprzedzone materiałem teoretycznym, który ma za zadanie ułatwić studentom zrozumienie wykonywanego oznaczenia oraz pracę w laboratorium.

Końcowy rozdział zawiera zaproponowane przez Autorów pytania kontrolne mające na celu utrwalenie materiału zawartego w skrypcie.

**Elżbieta Łodyga-Chruścińska  
Monika Turek  
Małgorzata Bryszewska  
Joanna Jabłońska  
Dorota Mańkowska  
Anna Sykuła-Zajac  
Anna Wajs**

# 1. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK ŚRODOWISKOWYCH DO ANALIZY – MINERALIZACJA

## 1.1. Pojęcie mineralizacji

W analizie chemicznej bardzo istotnym problemem jest przygotowanie próbek do analizy. Operacje związane z tym etapem badań mogą w sposób znaczący wpłynąć na wynik końcowy oznaczenia, a także na szybkość i precyzję oznaczenia. Próbki środowiskowe, z których wykonuje się oznaczenia, obejmują szeroki zakres materiałów o znacznie zróżnicowanym składzie chemicznym, jak również zakresie stężeń analitów. Dobór metody i techniki przygotowania próbki stanowi podstawową trudność i na ogół musi być indywidualnie realizowany w odniesieniu do poszczególnych typów materiałów (próbek).

Większość metod analitycznych, np.: spektrofluorymetria, spektrofotometria UV-Vis, absorpcyjna spektrometria atomowa, potencjometria, kulometria, konduktometria, polarografia, wymaga przeprowadzenia analizowanej substancji do roztworu, a także operacji fizykochemicznych związanych z wydzielaniem, rozdzielaniem i zatężaniem analitu. Nierzadko występuje w prowadzonej analizie konieczność maskowania czynników zakłócających oznaczenie czy derywatyzację. Przeprowadzenie analizowanych substancji do roztworu może odbywać się poprzez rozpuszczanie lub roztwarzanie w całości lub w odniesieniu do wybranych składników.

Zjawisko rozpuszczania w przypadku związków krystalicznych zachodzi wówczas, gdy energia solwatacji przewyższa energię sieci krystalicznej. Podstawowym wymogiem przy doborze rozpuszczalnika jest, aby charakteryzował się on dużą czystością i aby nie zawierał analitu. Rozpuszczanie w przypadku próbek środowiskowych ma jednak ograniczone zastosowanie. Substancje, takie jak: metale, materiały biologiczne, gleba, a także wiele substancji w nich występujących, bądź to nie rozpuszcza się w wodzie (a także w rozpuszczalnikach organicznych), bądź rozpuszcza się tylko w sposób ograniczony lub wybiórczy. Rozpuszczanie wykonuje się wtedy np. w analizie ekstraktów glebowych w celu oznaczenia tzw. przyswajalnych zawartości różnych pierwiastków. W ogólnym przypadku przeprowadzenia całej próbki do roztworu stosuje się proces zwany *mineralizacją* (inne często używane w literaturze określenia tego procesu to: roztwarzanie, dekompozycja, destrukcja, spopielenie, rozkład). Efektem mineralizacji jest znaczny rozkład składników próbki.

Najprościej mówiąc, mineralizacja polega na reakcjach rozkładu oraz reakcjach utlenienia substancji organicznych wchodzących w skład analizowanej próbki. Osiągane jest to na drodze suchej (spopielenie, mineralizacja niskotemperaturowa

w plazmie tlenowej, mineralizacja w tlenie, stapianie) lub mokrej (z użyciem kwasów utleniających lub kwasów i czynników utleniających).

## 1.2. Podstawowe techniki rozkładu próbek

Do grupy technik rozkładu próbek na sucho należy:

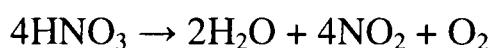
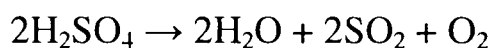
Spoielanie – powolny rozkład materii organicznej w piecu w temperaturze 400-600°C, powstały popiół (złożony głównie z węglanów i tlenków) rozpuszcza się w odpowiednim kwasie lub mieszaninie kwasów.

Mineralizacja niskotemperaturowa w plazmie tlenowej – kierowanie strumienia bardzo czystego tlenu wzbudzonego w polu generatora wysokiej częstotliwości (ponad 27 MHz), czyli plazmy tlenowej o temperaturze 80-200°C, na próbkę. Wzbudzony tlen spala (utlenia) próbkę, zamknięty układ ogranicza możliwość zanieczyszczenia próbki, ale czas przebiegu procesu jest długi (do kilkunastu godzin).

Mineralizacja w tlenie – mineralizacja w bombie tlenowej lub metodą Schönigera (spalanie w atmosferze tlenu pod ciśnieniem atmosferycznym i absorbowanie powstałych gazowych produktów rozkładu w roztworze pochłaniającym).

Stapianie – dla próbek zawierających składniki trudne do rozkładu w bezpośredniej reakcji z kwasami, stapianie sproszkowanej próbki z topnikami, takimi jak: węglany alkaliczne, boraks, w tyglu grafitowym lub platynowym umieszczonym w piecu, a następnie otrzymany stop rozpuszcza się w kwasach.

W przypadku mineralizacji „na mokro” zniszczenie struktury substancji organicznej następuje w wyniku jej utlenienia w płynnym środowisku stężonych kwasów z dodatkiem lub bez innych związków o właściwościach utleniających (np. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lub K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). Do „spalenia na mokro” stosuje się najczęściej mocne kwasy tlenowe: siarkowy, azotowy i nadchlorowy. Kwasy te dosyć łatwo rozkładają się z wydzieleniem tlenu.



Tlen powoduje utlenienie materiału pochodzenia roślinnego, wydzielają się przy tym lotne produkty rozkładu, takie jak: CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> czy para wodna. W kwaśnym roztworze po spaleniu pozostają w formie soli składniki mineralne. Proces mineralizacji „na mokro” przeprowadza się w podwyższonej temperaturze, co znacznie zwiększa zdolność reagowania tlenu z substancją organiczną. Może on też być prowadzony zarówno w układzie otwartym, jak i zamkniętym. Rozkład



w układzie zamkniętym jest szczególnie wskazany w analizie śladowej ze względu na skrócenie czasu przebiegu procesu (podwyższona temperatura i ciśnienie) oraz uniknięcie strat analitów i wtórnych zanieczyszczeń próbek.

Wśród technik rozkładu próbek na mokro można wymienić:

Mineralizację z wykorzystaniem konwencjonalnego ogrzewania – próbkę z kwasami oraz ewentualnie utleniaczami umieszcza się w naczyniu szklanym, kwarcowym lub wykonanym z PTFE (politetrafluoroetylen) (kolbie stożkowej, zlewce itp.), do ogrzewania której wykorzystuje się energię cieplną przekazywaną konwekcyjnie (przy użyciu palnika Bunsena, płyty grzejnej, łaźni piaskowej itp.). Naczynie łączy się czasem z chłodnicą zwrotną. Obecnie coraz częściej używa się grafitowych systemów grzewczych niepodatnych na korozję i wynikające z tego ryzyko zanieczyszczenia próbek.

Mineralizację z wykorzystaniem ultradźwięków – umieszczenie próbki wraz z naczynkiem reakcyjnym, zawierającym kwasy i ewentualne utleniacze, w łaźni ultradźwiękowej. Ultradźwięki (20 kHz) są źródłem dodatkowej energii, przyspieszającej proces rozkładu. Technika ta jest stosowana do roztwarzania stałych próbek środowiskowych.

Mineralizacja promieniami UV (fotoliza) – naświetlanie mineralizowanego roztworu w kwarcowym naczyniu reakcyjnym nisko- lub wysokociśnieniową lampą ultrafioletową ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ). Wzbudzone promieniowaniem związki ulegają przemianom chemicznym, tworząc reaktywne produkty, które z kolei są substratami w następnych reakcjach, obejmujących wszystkie substancje występujące w próbce. Mechanizm działania opiera się głównie na powstawaniu tlenu singletowego oraz rodników  $\text{OH}^\cdot$ , które powodują rozpad rozpuszczonej materii organicznej do dwutlenku węgla i wody. Całkowity rozkład jest możliwy tylko w przypadku prostych matryc lub w przypadku połączenia fotolizy z innymi technikami rozkładu. Technika ta jest stosowana do mineralizacji próbek wód, ścieków, płynów ustrojowych, napojów.

Mineralizacja z wykorzystaniem energii mikrofalowej – jest to połączenie rozkładu za pomocą kwasów i innych substancji mineralizujących oraz energii mikrofalowej. Źródłem energii mikrofalowej jest lampa wysokiej częstotliwości, tzw. magnetron, który emituje mikrofałe o częstotliwości 2450 MHz i 12,2 cm długości fali, a jest zasilany za pomocą wysokonapięciowego źródła prądu stałego.

Podczas rozkładu próbki przez trawienie w kwasach lub stapianie z solami metali wykorzystywana jest energia chemiczna i cieplna. W przypadku mineralizacji mikrofalowej mamy do czynienia z oddziaływaniem promieniowania elektromagnetycznego. Energia promieniowania mikrofalowego jest bezpośrednio absorbowana przez polarne cząsteczki (wodę, kwasy nieorganiczne itd.), co stanowi

znacznie szybsze i skuteczniejsze źródło energii niż klasyczne ogrzewanie oparte o konwekcję i przewodnictwo cieplne. Ponadto zlokalizowane, wewnętrzne ogrzewanie pojedynczych cząsteczek próbki najczęściej powoduje ich rozpad, zwiększając tym samym powierzchnię kontaktu z reagentami i szybkość rozkładu.

Wspomaganie mikrofalami można stosować zarówno do rozkładu próbek o matrycy organicznej, jak i nieorganicznej, w systemie otwartym lub zamkniętym. Naczynia stosowane w mineralizacji mikrofalowej muszą być wykonane z odpowiedniego materiału przepuszczalnego dla promieniowania mikrofalowego, który jednocześnie jest odporny chemicznie w stosunku do stężonych kwasów (teflon, kwarc – nieodporny na działanie kwasu fluorowodorowego).

W przypadku stosowania systemu zamkniętego dużą zaletą stosowania mikrofal jest to, że ogrzewają one jedynie fazę ciekłą próbki, podczas gdy pary nie absorbują energii mikrofalowej. Dlatego też temperatura fazy gazowej jest niższa niż temperatura fazy ciekłej i następuje kondensacja par na ściankach naczynia. W rezultacie rzeczywiste ciśnienie jest niższe od spodziewanego. Pozwala to na osiąganie bardzo wysokich temperatur pod niskimi ciśnieniami, co znacząco skraca czas rozkładu próbki.

Zaletami mineralizacji mikrofalowej są:

- dobra powtarzalność,
- prostota wykonania,
- krótki czas przebiegu procesu,
- niewielkie zużycie odczynników,
- możliwość oznaczania w mineralizacie wielu pierwiastków w szerokim zakresie stężeń,
- ograniczone straty analitu,
- ograniczona kontaminacja próbki,
- małe odważki analizowanego materiału (0,1-1,5 g),
- stosunkowo proste dostosowanie parametrów decydujących o mineralizacji (rodzaju i stężenia kwasów, mocy generatora, ciśnienia) do rodzaju analizowanych próbek,
- skuteczność rozkładu substancji organicznej i nieorganicznej.

Wadami mineralizacji mikrofalowej są przede wszystkim:

- cena aparatu,
- konieczność stosowania małych odważek próbki.

### 1.3. Sprzęt dostępny w laboratorium Instytutu Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej

Próbki żywności, we wszystkich opisanych w kolejnych rozdziałach ćwiczeniach, muszą przed pomiarem zostać zmineralizowane. Na wyposażeniu naszego laboratorium znajduje się sprzęt do mineralizacji „na mokro” przy użyciu energii mikrofalowej zarówno w systemie otwartym (mineralizator Maxidigest 350 MX, Prolabo, Francja), jak i systemie zamkniętym (ciśnieniowym) (mineralizator Magnum II, ERTEC, Polska). Każdy z nich może pracować w systemie jedno- lub wielostanowiskowym. Wspólnymi elementami obu aparatów są: generator mikrofal, tzw. magnetron, falowody, wnęka mikrofalowa i naczynie reakcyjne.

Naczyniem reakcyjnym w mineralizatorze Maxidigest 350 jest gilza ze szkła borokrzemianowego, natomiast w mineralizatorze Magnum II naczynie teflonowe. Para powstała podczas procesu mineralizacji w systemie otwartym jest zbierana za pomocą zbieracza pary i płuczki wodnej, natomiast system zamknięty zabezpiecza pokrywka, sprężyny zabezpieczające i filtr/ kolektor.

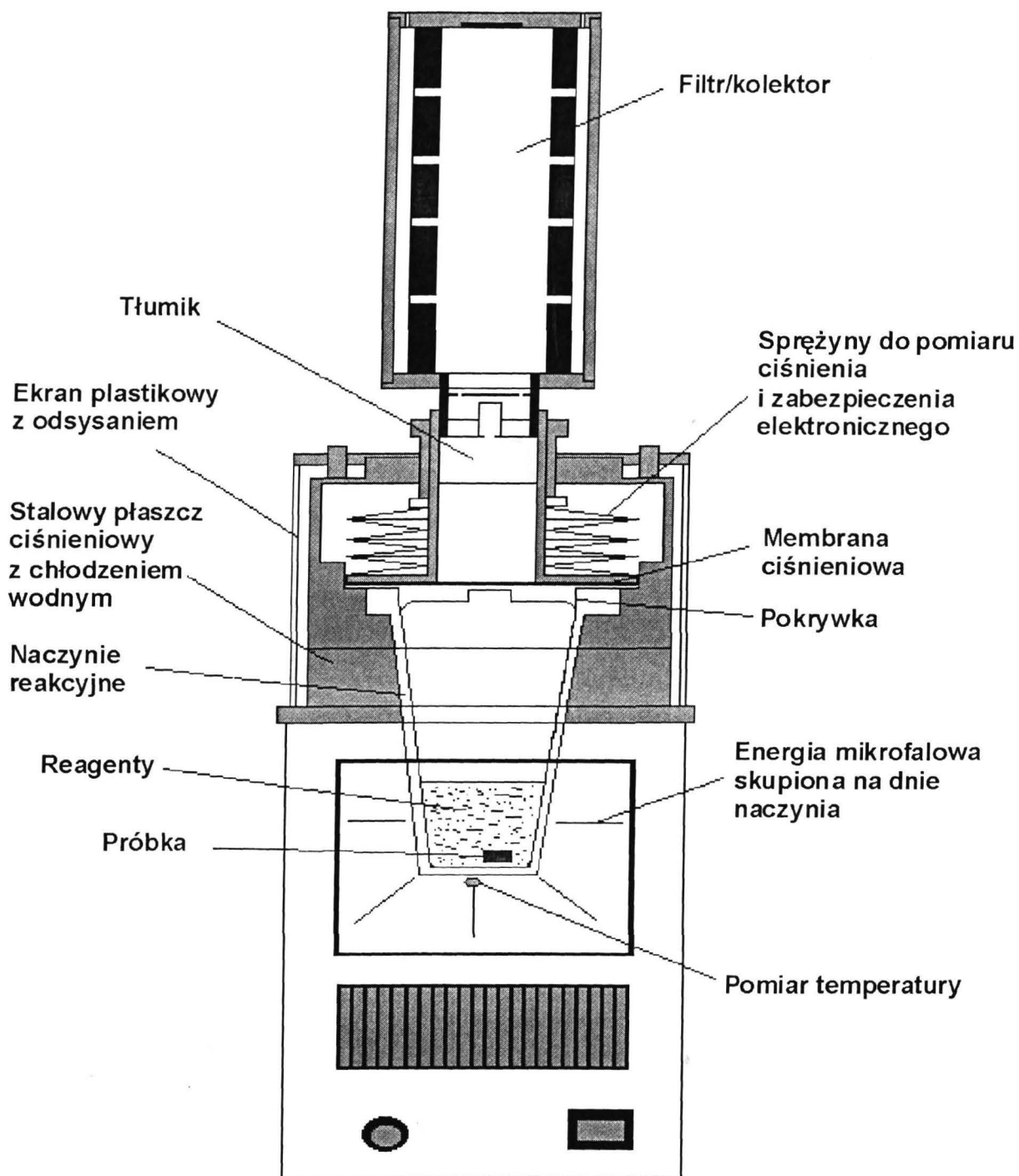
Poniżej umieszczono schemat przekroju poprzecznego mineralizatora mikrofalowego firmy ERTEC.

W tabeli poniżej przedstawiono przykładowe zastosowania różnych mieszanin mineralizujących (przykładowe reagenty mineralizujące), używanych do mineralizacji na mokro w zależności od badanego materiału i oznaczanego pierwiastka.

*Przykładowe reagenty mineralizujące*

Rodzaj materiału	Substancje mineralizujące	Oznaczone pierwiastki
Materiał roślinny	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HClO <sub>4</sub> , nadsiarczan amonu	Cu, Mn, Fe, Mo, Co
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	K, P, Ca, Mg, Sn, Zn, Fe, Na
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	N bez formy azotanowej
	Kwas sulfosalicylowy i tiosiarczan(VI) sodu lub fenolosiarkowy i pył cynkowy	N całkowity
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HClO <sub>4</sub>	S
Materiał spożywczy	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HClO <sub>4</sub>	Cu
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HClO <sub>4</sub>	As, Sn, Pb, Cu, Fe
	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Pb, Cd
Ścieki	W zależności od oznaczanego pierwiastka np. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Pb

Materiał geologiczny, gleby, skały	HCl, HF	Wszystkie pierwiastki łącznie z Si
Skały	HF, HClO <sub>4</sub>	Ca, Mg, i in. pierwiastki główne
	HF, HClO <sub>4</sub>	Pierwiastki śladowe
Gleby i osady	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HCl	Pierwiastki główne i śladowe łącznie z Si



*Przekrój poprzeczny mineralizatora mikrofalowego firmy ERTEC*

## Literatura

1. Jarosz M., Malinowska E., Pracownia chemiczna Analiza Instrumentalna, Wydawnictwo WSiP, Warszawa 1999.
2. Kubiak W., Gołaś J., Instrumentalne metody analizy chemicznej, Wydawnictwo AKAPIT, Kraków 2005.
3. Namieśnik J., Przygotowanie próbek środowiskowych do analizy, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1995.

## 2. OZNACZANIE CHROMU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

### 2.1. Właściwości fizykochemiczne chromu

Chrom (Cr, łac *chromium*) to pierwiastek metaliczny, o błękitno-białym zabarwieniu, znajdujący się w czwartym okresie VI grupy pobocznej układu okresowego Mendelejewa, czyli w bloku d. Spośród pierwiastków zaliczanych do chromowców wykazuje największe rozpowszechnienie w skorupie ziemskiej. Został odkryty w 1797 roku przez N.L. Vauquellina. Posiada 13 izotopów, z przedziału mas izotopowych 45-57, z których najtrwalsze są izotopy: Cr<sup>50</sup>, Cr<sup>52</sup>, Cr<sup>53</sup> i Cr<sup>54</sup>. Jest pierwiastkiem bardzo odpornym na korozję. Najważniejsze właściwości fizykochemiczne chromu przedstawia poniższa tabela.

*Właściwości chromu*

Właściwości	Chrom		
Symbol chemiczny	Cr		
Konfiguracja elektronowa	1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>6</sup> 3s <sup>2</sup> 3p <sup>6</sup> 4s <sup>1</sup> 3d <sup>5</sup>		
Ilość elektronów walencyjnych	6		
Liczba powłok	4		
Masa atomowa [μ]	51,9961		
Temperatura topnienia [°C]	1860		
Temperatura wrzenia [°C]	2600		
Gęstość [g/cm <sup>3</sup> ]	7,19		
Elektroujemność (Pauling)	1,6		
Promień atomowy [pm]	128		
Stopień utlenienia	-2, -1, 0, +2, +4, +3, +5, +6		
Wartościowość	I, II, III, IV, V, VI		
Barwa	metal	związki zawierające Cr <sup>3+</sup>	związki zawierające Cr <sup>6+</sup>
	srebrzystobiały	zielony	żółty/pomarańczowy

Występuje jako naturalny składnik skał, minerałów, gleby i wody. Jego najważniejsze minerały to chromit (FeCr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) i krokolit (PbCrO<sub>4</sub>). Chrom jest przedmiotem emisji gazów i pyłów wulkanicznych, jest również emitowany podczas erozji skał i gleby. Duża jego ilość jest też emitowana do atmosfery przy wydobywaniu i przeróbce minerałów, zwłaszcza przez przemysł metalurgiczny i chemiczny.



Chrom jest na dwudziestym miejscu wśród najbardziej rozpowszechnionych w skorupie ziemskiej i atmosferze pierwiastków. Zajmuje także czwarte miejsce pod względem rozpowszechnienia wśród 29 pierwiastków uważanych za ważne ze względu na ich rolę biologiczną i toksyczność.

Ciekawą cechą chromu jest to, iż odgrywa on zarówno rolę niezbędnego składnika pokarmowego, jak i toksycznego (kancerogennego) związku chemicznego. Chrom jest obecny we wszystkich zdrowych tkankach żywych organizmów. Niedobór chromu (III) może mieć wpływ na rozwój cukrzycy oraz chorób układu krążenia u osób dorosłych. Co ciekawe, skutkiem wywołanym nieodpowiednią dietą towarzyszą specyficzne zmiany biochemiczne. Uzupełnienie diety usuwa zmiany lub zapobiega im całkowicie. Brak chromu uwidacznia się w stratach wagi i nietolerancji glukozy.

## 2.2. Występowanie chromu w środowisku i jego toksyczność

Chrom występuje w skorupie ziemskiej w ilościach ok. 102 ppm, głównie w postaci minerałów, takich jak: chromit ( $\text{FeCr}_2\text{O}_4$ ), krokoit ( $\text{PbCrO}_4$ ), uwarowit ( $\text{Ca}_3\text{Cr}_2(\text{SiO}_4)_3$ ), ochra chromowa ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) i chromityt ( $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{Cr}_2\text{O}_3$ ).

Jeśli chodzi o aspekt odżywczy, to najlepszym źródłem chromu są drożdże piekarskie, gotowana wołowina, jabłka, kasze, jaja, ser, chude mięso, wątroba, nerki wieprzowe, ryby, sałata, zielony groszek, chleb gruboziarnisty, płatki zbożowe oraz niektóre przyprawy i zioła. Źródłem chromu może być również twarda woda i pokarmy przygotowane w naczyniach ze stali nierdzewnej, zawierającej chrom.

Związki chromu zaliczane są do grupy związków chemicznych, których zagrożenie dla człowieka klasyfikowane jest w różnych kategoriach, zależnie od ich postaci chemicznej. Toksyczność chromu jest uzależniona od stopnia utlenienia i rozpuszczalności, przy czym silnie toksyczne i rakotwórcze działanie wykazują przede wszystkim związki chromu sześciowartościowego, co pokazuje poniższa tabela.

*Klasyfikacja stopnia działania kancerogennego chromu i jego związków*

Czynniki rakotwórcze	Stopień dowodu działania rakotwórczego	Grupa
Cr (VI)	3	A
Cr (III)	1	C
Cr metaliczny	1	C
Dymy spawalnicze z chromem	2	B

1 – mały

2 – średni

3 – duży

A – czynniki rakotwórcze

B – czynniki przypuszczalnie rakotwórcze

C – czynniki niesklasyfikowane pod względem rakotwórczości

Metaliczny chrom przez swoją wysoką odporność na korozję, twardość i wytrzymałość na wysokie temperatury jest wykorzystywany do produkcji wysokogatunkowych stali. Jest też odporny na wpływy atmosferyczne, więc stosuje się go do wytwarzania powłok ochronnych na innych metalach. Ze względu na wysoką temperaturę topnienia i dobre przewodnictwo elektryczne chrom można stosować do wyrobu elementów grzewczych w różnego rodzaju piecach elektrycznych lub do produkcji drutu oporowego (stop z niklem). Chrom metaliczny służy także do wytwarzania powłok galwanicznych. Związki chromu używane są w garbarstwie, fotografice oraz jako pigmenty.

Całkowita zawartość chromu w organizmie wynosi 400-1300  $\mu\text{g}/70$  kg wagi. Chrom (III) jest obecny w centrach aktywnych wielu enzymów i jest niezbędnym do życia mikroelementem. Ułatwia przenikanie glukozy z krwi do komórek. Zmniejsza zapotrzebowanie na insulinę, hormonu regulującego prawidłowe stężenie glukozy we krwi, czyli może zapobiegać powstawaniu cukrzycy. Współdziała z tym hormonem w syntezie białek. Zmniejsza ryzyko zawału serca i rozwoju miażdżycy, ponieważ obniża stężenie całkowitego cholesterolu i jego frakcji LDL (tzw. zły cholesterol), a zwiększa ilość HDL (tzw. dobry cholesterol). Chrom zwiększa magazynowanie glukozy w mięśniach, wspomagając w ten sposób syntezę glikogenu. Optymalny poziom chromu we krwi zmniejsza stężenie insuliny niezbędnej do prawidłowego przebiegu procesów energetycznych.

Chrom (III) jest uważany za podstawowy składnik pokarmowy, wpływający na sterowanie metabolizmem glukozy i lipidów. Dieta chromowa wpływa na poprawę tolerancji glukozy, zwłaszcza u osób starszych, i ogranicza zawartość cholesterolu we krwi. Dzienna dawka spożywanego chromu (III) powinna wynosić 50-200  $\mu\text{g}$ . Chrom odgrywa istotną rolę w metabolizmie tłuszczów, zapobiegając chorobom serca i cukrzycy. Aktywizuje także enzymy wbudowujące aminokwasy w proteiny i zabezpieczające stabilność protein i kwasów nukleinowych. Zarówno rozpuszczalne, jak i nierozpuszczalne związki chromu (III) nie są kancerogenne.

Jeśli chodzi o rośliny, to dodatek chromu do gleby, w której go brak, zwiększa plony i rozmiar owoców. Owoce i warzywa rosnące na glebie bogatej w chrom (III) są też odporniejsze na ataki szkodników i grzybów.

Chrom (III) ma swoje zastosowanie głównie w medycynie. Na rynku farmaceutycznym istnieje szereg preparatów na bazie suplementu, czyli dawki uzupełniającej codzienne zapotrzebowanie człowieka na chrom. Chrom (III) jest też składnikiem wielu farmaceutyków stosowanych w leczeniu cukrzycy. Chrom przeciwdziała również powstawaniu otyłości, gdyż ogranicza odkładanie tłuszczów. Właściwość ta sprawiła, że w ostatnim dziesięcioleciu powstało wiele preparatów odchudzających zawierających związki chromu.

Chrom (III) stosowany jest również do produkcji odżywek i witamin roślinnych, jest to związane z możliwością roślin do fitoremendiacji, czyli wychwytywaniu przez tkanki roślin metali z gleby. Chrom (III) powoduje przyspieszenie wzrostu roślin oraz zwiększa rozmiar owoców i warzyw. Zbadano, że rośliny tego samego gatunku rosnące na glebach bogatych w chrom zawierają przeciętnie około 10 razy więcej chromu niż rośliny występujące na glebach piaszkowych i że wiąże się to bezpośrednio z rozmiarem plonów tych roślin. Dlatego też związki chromu (III) mogą mieć swoje zastosowanie w rolnictwie.

Związki chromu (VI) stanowią grupę związków chemicznych rozpuszczalnych, do której należą chromiany sodu i potasu, lub grupę związków nierozpuszczalnych, a do niej zaliczane są chromiany cynku, litu, wapnia i baru. Chromiany rozpuszczalne mogą powodować zmiany w nerkach i choroby układu oddechowego. Natomiast chromiany trudnorozpuszczalne są bardziej niebezpieczne, mogą dawać efekt kancerogeny w komórkach człowieka, przykładem może być często spotykany nowotwór układu oddechowego.

Nawet niewielkie ilości chromu (VI) mają działanie szkodliwe dla zdrowia człowieka. W codziennym życiu kontakt z materiałami zawierającymi chrom, takimi jak skóry garbowane chromowo, środki wybielające, farby i lakiery zawierające chrom, może prowadzić do wystąpienia reakcji uczuleniowych. Większe stężenia chromu (VI) ma działanie toksyczne, mutagenne i kancerogenne.

Uszkodzenia tkanek, podrażnienia skóry i dróg oddechowych, jak również alergię powodowane przez ekspozycje na chrom (VI) są dobrze udokumentowane. Niektóre związki powodują powstawanie guzów i wrzodów w miejscu iniekcji. Kancerogenność wydaje się być w największym stopniu powodowana przez nierozpuszczalne związki chromu (VI). Związki chromu (VI) są 10-100 razy bardziej toksyczne od związków chromu (III). Doustna dawka śmiertelna w przypadku związków chromu (III) wynosi 1900-3300 mg/kg wagi ciała, podczas gdy dla chromianu (VI) sodu jest szacowana na 50-100 mg/kg.

Zdaniem Międzynarodowej Organizacji Badań nad Rakiem (IARC) są wystarczające dowody kancerogenności związków chromu (VI) spotykanych przy produkcji chromianu, pigmentów chromianowych i w galwanotechnice stosującej chrom. Potwierdzono eksperymentami na zwierzętach kancerogenność chromianu wapnia, chromianu cynku i chromianu ołowiu.

Chrom (VI) posiada zdolność penetracji błon komórkowych i przedostawania się do wnętrza komórki, gdzie ulega redukcji do chromu (III). Sam chrom (III) znajdujący się we wnętrzu komórki tworzy związki kompleksowe między innymi z DNA uszkadzając go, co może prowadzić w rezultacie do powstania nowotworu.

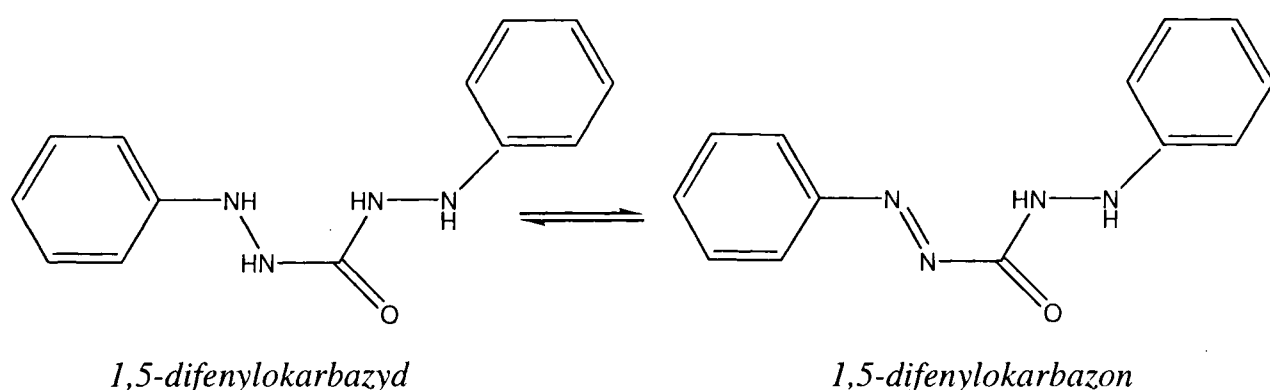
## 2.3. Oznaczanie chromu w tabletkach multiwitaminowych i próbkach o nieznanym stężeniu metodą spektrofotometryczną z difenylokarbazydem

### 2.3.1. Cel i zasada metody

Ćwiczenie jest przykładem zastosowania spektrofotometrii UV-Vis w analizie kompleksów metali. Celem ćwiczenia jest ilościowe oznaczenie Cr (VI) metodą krzywej kalibracyjnej. Podstawą czulej kolorymetrycznej metody oznaczania chromu jest reakcja red-ox pomiędzy Cr (VI) i difenylokarbazydem. W środowisku kwaśnym Cr (VI) utlenia 1,5-difenylokarbazyd do 1,5-difenylokarbazonu, sam natomiast ulega redukcji do Cr (III). Elektrooddatni kompleks  $\text{Cr}^{3+}$  z 1,5-difenylokarbazonem (posiadający barwę fioletową), absorbuje promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie widzialnym. Bezpośrednie zmieszanie roztworu Cr (III) z 1,5-difenylokarbazonem nie prowadzi do utworzenia kompleksu o takim zabarwieniu. Prawdopodobnie w reakcję wchodzi jony  $\text{Cr}^{3+}$ , nie hydratowane jeszcze cząsteczkami wody.

Metodę difenylokarbazydową można uważać za specyficzną dla chromu (VI). Oznaczeniu przeszkadzają tylko większe ilości żelaza, wanadu, molibdenu, miedzi i rtęci które wielokrotnie przewyższają stężenie chromu w roztworze. Usuwa się je ekstrakcyjnie lub przez zamaskowanie.

Kwasowość badanego roztworu wywiera pewien wpływ na natężenie zabarwienia, dlatego też należy ją utrzymywać zawsze na tym samym poziomie. Poniżej przedstawiono proces utlenienia 1,5-difenylokarbazydu do 1,5-difenylokarbazonu.



Molowy współczynnik absorpcji barwnego produktu reakcji Cr (VI) z difenylokarbazydem wynosi  $41700 \text{ mol/dm}^3 \cdot \text{cm}$  przy  $\lambda_{\text{max}} = 546 \text{ nm}$ . Metoda ta jest bardzo czuła i stosowana głównie do oznaczania śladów chromu.

## 2.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany

### Odczynniki

- a) 1 dm<sup>3</sup> 0,05M roztworu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- b) 0,25 g difenylokarbazydu (DFK),
- c) 100 cm<sup>3</sup> acetonu,
- d) roztwór K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (0,01 mg/cm<sup>3</sup>),
- e) woda destylowana,
- f) próbka o niewiadomym stężeniu Cr.

### Aparatura

- a) 8 kolb miarowych o pojemności 50 cm<sup>3</sup>,
- b) 2 kolby miarowe o pojemności 100 cm<sup>3</sup>,
- c) naczynie wagowe,
- d) zlewka o pojemności 100 cm<sup>3</sup>,
- e) pipeta miarowa o pojemności 10 cm<sup>3</sup>,
- f) bagietka szklana,
- g) lejek szklany,
- h) spektrofotometr typu SPEKOL o zakresie obejmującym długość fali 550 nm,
- i) 2 kuwety o grubości warstwy 1 cm.

### Materiał badany

Tabletka „musująca” multiwitaminy (4,3 g).

## 2.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia

Odważyć 0,25 g difenylokarbazydu, przenieść do kolby o pojemności 100 cm<sup>3</sup>, dopełnić acetonem do kreski i wymieszać.

Do sześciu kolbek miarowych o pojemności 50 cm<sup>3</sup> odmierzyć pipetą: 0,0 (ślepa próba); 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 i 4,0 cm<sup>3</sup> podstawowego roztworu K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

Do każdej kolbki dodać 1 ml roztworu difenylokarbazydu (DFK), dopełnić roztwór do kreski kwasem siarkowym (VI) i wymieszać. Tak przygotowane roztwory wzorcowe zawierają: 0,0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 μg Cr(VI) / cm<sup>3</sup>.

Do otrzymanego do analizy roztworu Cr (VI) (o nieznanym stężeniu) dodać 1 cm<sup>3</sup> DFK i dopełnić do kreski w kolbie miarowej o pojemności 50 cm<sup>3</sup> kwasem siarkowym (VI), wymieszać.

Tabletkę multiwitaminy rozpuścić w 50 cm<sup>3</sup> wody destylowanej, wymieszać i przenieść 5 cm<sup>3</sup> do kolby miarowej o pojemności 50 cm<sup>3</sup>, dodać 1 cm<sup>3</sup> DFK i uzupełnić do kreski kwasem siarkowym (VI).

Za pomocą SPEKOLu zmierzyć absorbancję roztworów wzorcowych, próbki roztworu o nieznanym stężeniu oraz próbki multiwitaminy przy  $\lambda_{\max} = 546 \text{ nm}$ , stosując ślepą próbę jako odnośnik. Wykonać dwie serie pomiarowe, czyli należy jeszcze raz przygotować roztwory wzorcowe oraz zmierzyć ich absorbancje.

### 2.3.4. Opracowanie wyników

Z dwóch równoległych serii pomiarowych wykreślić 2 krzywe kalibracyjne  $A = f(c)$ . Z każdej krzywej wyznaczyć równanie krzywej kalibracyjnej i wartość  $R^2$ . Wybrać krzywą, której  $R^2$  ma wynik najbliższy liczbie 1.

Krzywa kalibracyjna ma postać  $y = ax + b$ , z wybranej krzywej odczytać stężenie chromu ( $x$ ) w badanych próbkach, podstawiając pod  $y$  wartość absorbancji dla próbki o nieznanym stężeniu oraz próbki multiwitaminy, pamiętając, że wynik podany będzie w  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ .

Dodatkowo obliczyć zawartość procentową chromu w tabletkach multiwitaminy. Pamiętając, że obliczone z równania krzywej stężenie chromu w multiwitaminie to stężenie z  $5 \text{ cm}^3$  roztworu, obliczyć stężenie w  $50 \text{ cm}^3$  multiwitaminy. Następnie podać wynik w  $\text{g}/\text{cm}^3$  oraz podać masę chromu w gramach.

Jak wiadomo, w oznaczaniu dokładnej zawartości procentowej jonów chromu w tabletkach multiwitaminy mogą przeszkadzać inne jony w niej zawarte, w związku z tym obliczona zawartość procentowa może być obciążona błędem.

## Literatura

1. Atkins P., Jones L., Chemia ogólna, cz. I i II, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2009.
2. Bielański A., Podstawy chemii nieorganicznej, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2002.
3. Cieślak-Golonka M., Bębenek M., Związki chromu w środowisku naturalnym, Chemia i Inżynieria Ekologiczna, 5(8-9), 675, 1998.
4. Heiserman D.L., Księga pierwiastków chemicznych, Wydawnictwo Prószyński i Spółka, Warszawa 1997.
5. Horobowicz M., Warzywa przeciwdziałające chorobą cywilizacyjnym, Instytut Warzywnictwa w Skierniewicach, Skierniewice 2003.
6. Kabata-Pendias A., Pendias H., Biogeochemia pierwiastków śladowych, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1999.
7. Kaczorowska Cz., Produkcja roślinna, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1980.



8. Krygowski T.M., Encyklopedia, Chemia, Wydawnictwo WSiP, Warszawa 2002.
9. Matusiak J., Rams B., Substancje rakotwórcze występujące w zanieczyszczeniach emitowanych podczas procesów spawalniczych, Praca badawcza IS Ma – 29/2001, Gliwice 2001.
10. Trzebiatowski W., Chemia nieorganiczna, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1979.
11. Wszyńska K., Rozpoznanie i ocena poziomu zagrożeń czynnikami potencjalnie kancerogennymi w zakładach przemysłowych, Łódź 1998.
12. [www. portalwiedzy.onet.pl](http://www.portalwiedzy.onet.pl)

### 3. OZNACZANIE GLINU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

#### 3.1. Właściwości fizykochemiczne glinu

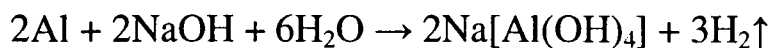
Glin, Al (łac. *aluminium*) to metal bloku p, leżący w trzeciej grupie głównej układu okresowego. Posiada jeden stały izotop glin-27. Jest trzecim, a wśród metali pierwszym, najpowszechniej występującym na Ziemi pierwiastkiem chemicznym (7,45% w skorupie ziemskiej). Sole glinu i ich właściwości były znane już w Średniowieczu, uwodniony siarczan (VI) glinu służył starożytnym Grekom jako środek antyseptyczny. Istnienie tego pierwiastka i nazwę zasugerował w 1761 roku Louis Bernard Guyton de Morveau, współczesną nazwę zaproponował dopiero w 1807 roku Humphry Davy. W połowie XIX wieku glin był metalem droższym od złota. Poniżej, w tabeli przedstawiono najważniejsze właściwości fizykochemiczne glinu.

*Właściwości glinu*

Właściwości	Glin
Symbol chemiczny	Al
Konfiguracja elektronowa	$1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^1$
Ilość elektronów walencyjnych	3
Liczba powłok	3
Masa atomowa [ $\mu$ ]	26,981538
Temperatura topnienia [K]	933,47
Gęstość [ $g/cm^3$ ]	2,75
Elektroujemność (Pauling)	1,61
Promień atomowy [pm]	125
Stopień utlenienia	0, +1, +2, +3
Wartościowość	III
Barwa	srebrzystobiały

Glin jest srebrzystobiałym, kowalnym i ciągliwym metalem, o własnościach amfoterycznych. Występuje na +3 stopniu utlenienia, bardzo rzadko również na +1 i +2. W atmosferze powietrza lub podczas działania kwasami utleniającymi na glin, na jego powierzchni powstaje warstewka tlenku, która chroni metal przed dalszą korozją, czyli w stanie czystym utlenia się na powietrzu, co nazywamy pasywacją. Podgrzewany reaguje z tlenem obecnym w powietrzu, tworząc swój

tlenek. Glin łatwo roztwarza się w mocnych zasadach, takich jak NaOH lub KOH, wypierając w ten sposób wodór i przechodząc w tetrahydroksyglinian:



Glin ulega działaniu kwasu solnego, gorących i rozcieńczonych kwasów: azotowego (V) i octowego oraz stężonego kwasu siarkowego (VI).

W porównaniu z innymi metalami jego gęstość jest mała. Jest metalem plastycznym, czysty, krystaliczny glin jest kruchy i łamliwy. Podobnie jak inne metale, dobrze odbija fale elektromagnetyczne. Czysty glin odbija około 99% widzialnego światła i około 95% podczerwieni.

Najważniejsze związki glinu to tlenek glinu i amfoteryczny wodorotlenek glinu. Glin tworzy też wodorek oraz tetrahydroglinian litu  $\text{LiAlH}_4$  stosowany w chemii organicznej jako silnie redukcyjny środek. Duże znaczenie przemysłowe mają też aluminokwasy, szczególnie MAO (metylowy aluminoksan), z którego produkuje się sita molekularne. Natomiast glina i kaolin stosowane są w produkcji ceramiki gospodarnej i budowlanej.

W przyrodzie glin występuje w minerałach: kaolinicie  $[\text{Al}_4(\text{OH})_8][\text{Si}_4\text{O}_{10}]$ , silimanicie  $\text{Al}_2\text{SiO}_5$ , albicie  $\text{Na}[\text{AlSi}_3\text{O}_8]$ , ortoklazie  $\text{K}[\text{AlSi}_3\text{O}_8]$ , boksycie  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , kriolicie  $\text{Na}_3[\text{AlF}_6]$ , korundzie  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , gibbsycie  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , i w innych. Glin jest otrzymywany w wyniku elektrolizy roztworu tlenku glinu  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (wyodrębnionego uprzednio z boksytu) w stopionym kriolicie.

Glin i jego wodorotlenki roztwarzają się w alkaliach, dając tetrahydrokso- ( $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ ) i heksahydroksogliniany ( $[\text{Al}(\text{OH})_6]^{3-}$ ). W reakcji wodorotlenków glinu z kwasami powstają sole. Najbardziej znanym połączeniem glinu z tlenem jest otrzymywany w wysokich temperaturach, trudnotopliwy i bardzo twardy  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  (korund), krystalizujący w układzie heksagonalnym. Oprócz niego występuje wiele innych, często uwodnionych odmian  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , otrzymywanych z wodorotlenków glinu w niższych temperaturach. Spiekanie  $\text{Al}_2\text{O}_3$  z tlenkami metali dwuwartościowych prowadzi do powstania tzw. spineli.

### 3.2. Występowanie glinu w środowisku i jego toksyczność

Glin do niedawna był uważany za pierwiastek niegroźny dla zdrowia. Tolerowana tygodniowa dawka glinu wynosi 7 mg Al/kg masy ciała. Powszechnie używany do wytwarzania naczyń, sztućców i sprzętu kuchennego, folii do opakowań żywności oraz innych przedmiotów codziennego użytku. Dziś wiadomo, że glin jest pierwiastkiem toksycznym, ale jest przyswajany powoli, a jego niekorzystne działanie na organizm ludzki widać dopiero po wielu latach.

Kontakt produktów żywnościowych z naczyniami z glinu powoduje przechodzenie tego pierwiastka do spożywanych produktów. Leki przeciw nadkwasocie żołądka, dezodoranty zawierają związki glinu, które skutecznie blokują wydzielanie się potu, lecz jednocześnie przenikają przez skórę do ciała człowieka.

Nadmiar glinu w organizmie zaburza wchłanianie i przemiany metaboliczne, zachodzące w kośćcu z udziałem wapnia, magnezu, fosforu i fluoru. Glin powoduje również zaburzenia funkcjonowania i uszkodzenia układu nerwowego. U osób chorych na chorobę Alzheimera stwierdzono duże stężenie glinu w tkance mózgowej.

Glin występuje we wszystkich produktach spożywczych przechowywanych w pojemnikach, lub foliach aluminiowych, oprócz tego duża ilość glinu znajduje się w kapuście, pomidorach liściach herbaty i niektórych przyprawach, jak: tymianek, kminek, estragon, liść laurowy oraz w rodzynekach i figach.

Glin bardzo dobrze uwalnia się w środowisku kwaśnym. Dodawanie cytryny do herbaty oraz przechowywanie np. kiszonych kapusty w aluminiowych naczyniach zwiększa stężenie glinu w danych produktach spożywczych. Nie powinno się więc dodawać cytryny do herbaty, pitej z aluminiowego naczynia.

Parlament Europejski uznał, że dodawanie glinu do pożywienia powinno być zakazane, ponieważ ma związek z chorobą Alzheimera. Z tego powodu w Polsce już w latach osiemdziesiątych XX wieku systematycznie wycofywano z użytku naczynia aluminiowe.

Od dawna rozważany jest fakt, czy przyczyną choroby Alzheimera nie jest zatrucie glinem pochodzącym z wody lub aluminiowych przedmiotów codziennego użytku. Przypuszczenia te są wciąż przedmiotem badań.

Istotne znaczenie mają stopy glinu z innymi metalami, odznaczające się niskim ciężarem właściwym oraz odpornością na korozję (duraluminium, magnalium), znalazły wiele zastosowań i są używane do wyrobu szerokiej grupy produktów, np. puszek do napojów, czy jako części statków kosmicznych. Są one stosowane w przemyśle lotniczym i samochodowym. Metaliczny glin służy do produkcji przedmiotów codziennego użytku, przewodów elektrycznych, aparatury chemicznej, zwierciadeł teleskopowych, folii stosowanej powszechnie do pakowania. Sproszkowany glin używany jest także w hutnictwie do otrzymywania metali z ich tlenków w procesie aluminotermii.

Sproszkowany glin jest składnikiem farb i materiałów wybuchowych. Glinokrzemiany są podstawowymi składnikami wyrobów ceramicznych. Zabarwione kryształy korundu znane są jako kamienie szlachetne np. rubiny czy szafiry.

Stosowany jest również w przemyśle spożywczym, jako barwnik metaliczny pozyskiwany z boksytów. Używany jest do srebrnych dekoracji ciast i tortów.

W pirotechnice glin jest używany do robienia petard i fajerwerków. Sproszkowany glin zmieszany ze sproszkowanym nadmanganianem potasu tworzy łatwopalną mieszkę, która po zapaleniu wybucha z wydzieleniem dużej ilości dymu.

Związki glinu, tj. wodorowęglan glinu  $\text{Al}(\text{HCO}_3)_3$ , ortofosforan glinu  $\text{AlPO}_4$ , oraz krzemian glinu  $\text{Al}_2(\text{SiO}_3)_3$ , są stosowane jako leki przy nadkwasocie.

### **3.3. Różnice zawartości glinu w napojach w butelkach, a w puszkach, oznaczanych metodą z eriochromocyjaniną R**

#### **3.3.1. Cel i zasada metody**

Celem ćwiczenia jest ilościowe oznaczenie jonów glinu metodą krzywej kalibracyjnej w napojach słodkich dostępnych na rynku, zarówno przechowywanych w puszkach, jak i w butelkach oraz porównanie w nich zawartości jonów glinu. Podstawą tej metody jest reakcja pomiędzy jonami glinu a eriochromocyjaniną R w środowisku kwaśnym, w której powstają barwne, różowoczerwone związki kompleksowe glinu, o maksimum absorpcji przy długości fali 535 nm. Intensywność różowoczerwonego zabarwienia jest proporcjonalna do zawartości glinu, można ją więc określić zarówno spektrofotometrycznie, jak i wizualnie.

Metodę tę stosuje się do oznaczania glinu w roztworach o stężeniu 0,004-1,0 mg/dm<sup>3</sup>. W przypadku stężeń wyższych próbkę można 5-krotnie rozcieńczyć.

#### **3.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany**

##### Odczynniki i roztwory

- a) 0,05 M roztwór  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,
- b) Roztwór wzorcowy podstawowy siarczanu glinowo-potasowego,  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 24 \text{H}_2\text{O}$  (8,792 g rozpuścić w wodzie, dodać 10 cm<sup>3</sup> kwasu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i dopełnić do 1 dm<sup>3</sup> wodą destylowaną),
- c) Roztwór wzorcowy roboczy siarczanu glinowo-potasowego (do kolby 1 dm<sup>3</sup> odmierzyć 4 cm<sup>3</sup> roztworu podstawowego i uzupełnić wodą do kreski, przygotować w dniu pomiaru),
- d) 0,2% roztwór kwasu askorbinowego,
- e) Roztwór kwasu octowego i octowego lodowatego,
- f) Bufor octanowy o pH 6,1 (w 1 dm<sup>3</sup> kolbie w 500 cm<sup>3</sup> wody destylowanej rozpuścić 94,6 g bezwodnego octanu sodowego, dodać 2,4 cm<sup>3</sup> kwasu octowego lodowatego i uzupełnić wodą do kreski). Przygotować 48 h przed pomiarem,

- g) Roztwór podstawowy eriochromocyjaniny R, o pH 2,9 (0,1 g eriochromocyjaniny R rozpuścić w 100 cm<sup>3</sup> wody, zmierzyć pH, jeśli przekracza wymagane pH, należy przygotować nowy roztwór, czyli: w zlewce o pojemności 100 cm<sup>3</sup> rozpuścić 0,3 g eriochromocyjaniny R w 50 cm<sup>3</sup> wody, następnie wprowadzać roztwór kwasu octowego do uzyskania pH 2,9, przenieść do kolby na 100 cm<sup>3</sup> i dopełnić do kreski wodą, przechowywać w temp. 4°C do zmętnienia),
- h) Roztwór roboczy eriochromocyjaniny R (do kolby pomiarowej na 50 cm<sup>3</sup> odmierzyć 10 cm<sup>3</sup> roztworu podstawowego i rozcieńczyć wodą do kreski, przechowywać w temp. 4°C do zmętnienia),
- i) Woda destylowana.

#### Aparatura

- a) 12 kolb miarowych o pojemności 50 cm<sup>3</sup>,
- b) 4 kolby miarowe o pojemności 100 cm<sup>3</sup>,
- c) naczynka wagowe,
- d) zlewka o pojemności 100 cm<sup>3</sup>,
- e) pipeta miarowa o pojemności 10 cm<sup>3</sup>,
- f) lejek szklany,
- g) Spektrofotometr Hawlett Packard lub SPEKOL obejmujący długość fali 535 nm,
- h) 2 kuwety o grubości warstwy 1 cm.

#### Materiał badany

Napoje przechowywane w puszkach i tożsame w butelkach.

### **3.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia**

Do ośmiu kolbek miarowych o pojemności 50 ml odmierzyć pipetą: 0,0 (ślepa próba); 0,5; 1,0; 2,0; 3,5; 5,0; 7,5 i 12,5 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego roboczego siarczanu glinowo-potasowego. Roztwory rozcieńczyć wodą do objętości 25 cm<sup>3</sup>, po czym do każdej kolbki dodać 0,5 cm<sup>3</sup> roztworu kwasu askorbinowego i po 0,5 cm<sup>3</sup> roztworu kwasu siarkowego, następnie po 10 cm<sup>3</sup> buforu octanowego, wymieszać i dodać po 2,5 cm<sup>3</sup> roztworu roboczego eriochromocyjaniny R. Roztwory uzupełnić wodą do kreski i wymieszać. Tak przygotowane roztwory wzorcowe zawierają: 0,000; 0,001; 0,002; 0,004; 0,007; 0,01; 0,015 i 0,025 mg glinu we wzorcu. Przygotowane wzorce są gotowe do użycia po upływie 5 minut, lecz nie później niż po 20 minutach.



Ze zmineralizowanych próbek napojów pobrać do kolb na 50 cm<sup>3</sup> po 25 cm<sup>3</sup> roztworu. Następnie do każdej kolby dodać 0,5 cm<sup>3</sup> roztworu kwasu askorbinowego, 0,5 cm<sup>3</sup> roztworu kwasu siarkowego oraz 10 cm<sup>3</sup> buforu octanowego, wymieszać i dodać 2,5 cm<sup>3</sup> roztworu roboczego eriochromocyjaniny R, uzupełnić wodą do kreski i ponownie wymieszać.

Za pomocą spektrofotometru zmierzyć absorbancję roztworów wzorcowych, oraz próbek napojów przy  $\lambda_{\max} = 535 \text{ nm}$ , stosując ślepią próbę jako odnośnik.

### 3.3.4. Opracowanie wyników

Z pomiarów absorbancji dla roztworów wzorcowych wykreślić krzywą kalibracyjną  $A = f(c)$ . Z krzywej wyznaczyć równanie krzywej kalibracyjnej i wartość  $R^2$ .

Krzywa kalibracyjna ma postać  $y = ax + b$ , z krzywej obliczyć zawartość glinu ( $x$ ) w badanych próbkach, podstawiając pod  $y$  wartość absorbancji dla próbek napojów, pamiętając, że wynik podany będzie w mg.

## Literatura

1. Atkins P., Jones L., Chemia ogólna, cz. I i II, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2009.
2. Bielański A., Podstawy chemii nieorganicznej, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2002.
3. Bles N., ABC mikroelementów, Wydawnictwo ŚW, Warszawa 2008.
4. Grębosz M., Zapotoczny S., Słownik Chemia, Wydawnictwo Zielona Sowa, Kraków 2003.
5. Heiserman D.L., Księga pierwiastków chemicznych, Wydawnictwo Prószyński i Spółka, Warszawa 1997.
6. Lipiec T., Szmał Z.S., Chemia analityczna z elementami analizy instrumentalnej, Wydawnictwo PZWL, Warszawa 1980.
7. Marczenko Z., Analiza ilościowa, Wydawnictwo WSiP, Warszawa 1969.
8. Marczenko Z., Spektrofotometryczne oznaczanie pierwiastków, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1979.
9. Minczewski J., Marczenko Z., Chemia analityczna 2. Chemiczne metody analizy ilościowej, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1998.
10. Trzebiatowski W., Chemia nieorganiczna, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1979.
11. Norma: PN-92/C-04605/02, Woda i ścieki. Badania zawartości glinu. Oznaczanie glinu metodą z eriochromocyjaniną R.

## 4. OZNACZANIE KOBALTU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

### 4.1. Właściwości fizykochemiczne kobaltu

Ferromagnetyczny kobalt przypomina właściwościami żelazo, jest stalowoszary, błyszczący, ciągliwy, a twardością i wytrzymałością przewyższa stal. Ma niższe temperatury: topnienia i wrzenia niż żelazo, odpowiednio 1490°C i 2900°C. Metal ten ma natomiast niezwykle wysoką temperaturę Curie (1121°C), tj. temperaturę, w której następuje zanik własności ferromagnetycznych. Właściwości fizyczne kobaltu zależą w dużym stopniu od jego czystości i warunków wytwarzania. Poniżej, w tabeli przedstawiono najważniejsze właściwości fizykochemiczne kobaltu.

#### *Właściwości kobaltu*

Właściwości fizykochemiczne kobaltu	
Symbol chemiczny	Co
Konfiguracja elektronowa	$1s^2 2s^2 p^6 3s^2 p^6 d^7 4s^2$
Ilość elektronów walencyjnych	9
Liczba powłok	4
Masa atomowa [u]	58,9332
Gęstość [g/cm <sup>3</sup> ]	8,90
Elektroujemność (Pauling)	1,88
Promień atomowy [pm]	125
Stopień utlenienia*	5, 4, <b>3</b> , <b>2</b> , 1, -1
Barwa	stalowoszara

\* pogrubioną czcionką podano najczęściej spotykane stopnie utlenienia związków kobaltu

Najtrwalszym stopniem utlenienia kobaltu w jego związkach jest stopień +2. Kobalt na stopniu utlenienia +3 jest trwały tylko w postaci związków kompleksowych. Pozostałe stopnie utlenienia, wymienione w tabeli, spotyka się rzadko.

## 4.2. Występowanie kobaltu w środowisku i jego toksyczność

Występowanie kobaltu w skorupie ziemskiej jest silnie zróżnicowane. Ultrazasadowe skały magmowe zawierają najczęściej 100-200 ppm, a skały kwaśne 1-15 ppm. W nielicznych własnych minerałach łączy się przede wszystkim z As, S i Se. Na ogół jednak kobalt wchodzi w skład minerałów żelaza i manganu, głównie siarczkowych.

Rozmieszczenie kobaltu w glebach jest, podobnie jak i w utworach skalnych, powiązane z występowaniem związków żelaza oraz manganu. Kobalt łatwo jest sorbowany przez substancję organiczną oraz tworzy organiczne chelaty. Zwiększają one mobilność kobaltu i wpływają na przemieszczanie się w profilu glebowym, a także zwiększają jego przyswajanie przez rośliny, zwłaszcza w glebach o podwyższonym odczynie oraz w warunkach oksydacyjnych. W środowiskach redukcyjnych natomiast kobalt jest zarówno łatwiej rozpuszczalny, jak i dostępny dla roślin. Stężenie tego pierwiastka w roztworach różnych gleb waha się od 0,3 do 87  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  i jest na ogół większe w zasolonych glebach stref klimatu suchego.

W naturalnych środowiskach wodnych kobalt nie utrzymuje się długo w stanie rozpuszczonym, ponieważ wiązany jest silnie zarówno przez ilastą i wodorotlenkową frakcję osadów dennych, jak i przez fitoplankton. Jego średnie stężenie w wodach mórz i oceanów wynosi 0,02  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ , a w przybrzeżnych wodach Morza Bałtyckiego 0,45  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ . Średnia naturalna zawartość w rzekach odpowiada około 0,2  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ . Stężenia w wodach pitnych Polski wynosi średnio 0,03  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ .

Kobalt odgrywa ważną rolę w fizjologii roślin asymilujących azot z powietrza (tj. roślin motylkowych, do których należy m. in. soja) oraz zielonych i niebieskich glonów. Mikroelement ten jest nieodzowny w procesie asymilacji azotu, z uwagi na ważną funkcję w strukturze porfiryn – koenzymów kobalaminy, enzymu katalizującego omawiany proces. W roślinach konsumpcyjnych stężenie kobaltu nie przekracza z reguły 200 ppm, a jego ilość zależy bezpośrednio od podaży w glebie.

Kobalt jest również niezbędny dla prawidłowej fizjologii zwierząt i ludzi. Wchodzi w skład witaminy B<sub>12</sub> (kobalaminy) uczestniczącej w procesach krwiotwórczych oraz w metabolizmie kwasów nukleinowych i białek, oraz w różnych procesach oksydacyjno-redukcyjnych. Źródłem witaminy B<sub>12</sub> jest nabiał i mięso, zwłaszcza podroby – wątroba i nerki.

Dorosły człowiek pobiera średnio 40-50  $\mu\text{g}$  kobaltu, ale jego wchłanianie w przewodzie pokarmowym wynosi około 50% dawki. W płynach ustrojowych stężenie kobaltu jest bardzo małe (<1  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ), w mleku kobiet stwierdzono do 0,4  $\text{mg}/\text{dm}^3$ .

Wymagania człowieka w stosunku do zawartości kobaltu w pożywieniu nie są wyraźnie określone, natomiast dzienna dawka witaminy B<sub>12</sub> powinna wynosić od 0,3 µg do 3 µg w zależności od wieku i zdrowia.

Kobalt pobierany drogą pokarmową jest mało szkodliwy, ale dłuższe stosowanie diety o podwyższonej ilości tego pierwiastka jest niekorzystne. Natomiast wartość średniej dawki śmiertelnej (LD50) dla kobaltu (II) waha się między 150 a 500 mg Co/kg masy ciała.

Nadmiar kobaltu powoduje czerwienicę, uszkadza nerki i wątrobę oraz osłonę włókien nerwowych. Chroniczne zatrucia doprowadzają do zmian w mięśniu sercowym (kardiomiopatie) oraz przerostu gruczołu tarczowego, działając ograniczająco na przyswajalność jodu. Kobalt bardzo łatwo przenika przez łożysko i może powodować zmiany w zarodku. Nadmiar tego metalu wywołuje zaburzenia mitozy oraz syntezy DNA i może być przyczyną zmian nowotworowych.

Zwierzęta, a szczególnie przeżuwacze, odznaczają się dużą tolerancją na wysokie stężenia kobaltu w paszy. Przypadki zatrucia ludzi kobaltem są również rzadkie, mają najczęściej charakter chroniczny i na ogół związane są z warunkami środowiska pracy.

Ze względu na bardzo niską zawartość w żywności, informacje o ilości kobaltu w produktach spożywczych są z reguły pomijane w opisie ich składu pierwiastkowego. Średnia zawartość kobaltu w produktach spożywczych nie przekracza 0,5 µg/g suchej masy, choć w niektórych warzywach, głównie strączkowych, jest znacznie większa.

### **4.3. Spektrofotometryczne oznaczanie zawartości jonów kobaltu w mineralizatach sojowych**

#### **4.3.1. Cel i zasada metody**

Celem ćwiczenia jest poznanie szybkiej i dokładnej metody oznaczania zawartości jonów kobaltu (II) w wybranych preparatach sojowych (mleko, budyń, ser tofu, kotlety), po wcześniejszej ich mineralizacji.

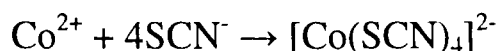
Najczęściej stosowanymi metodami oznaczania kobaltu są metody spektrofotometryczne oparte na trzech odczynnikach organicznych:

- 1) 1-nitrozo-2-naftol,
- 2) 2-nitrozo-1-naftol,
- 3) nitrozo-R-sole.

Dzięki charakterystycznemu ugrupowaniu nitrozohydroksylowemu odczynniki te reagują w określonych warunkach w sposób specyficzny dla kobaltu.

Znana od dawna metoda rodankowa (tiocyjanianowa) jest polecana do oznaczania większych zawartości kobaltu, takich jak te występujące w produktach sojowych.

W stężonym roztworze rodanku (KSCN, NaSCN lub NH<sub>4</sub>SCN) jony kobaltu (II), w środowisku 0,1-1 M HCl, tworzą niebieski kompleks rodankowy:



Niebieskie zabarwienie roztworu zanika po rozcieńczeniu wodą wskutek dysocjacji kompleksu.

Wprowadzenie acetonu lub innego rozpuszczalnika organicznego obniża stałą dielektryczną wody, a tym samym zmniejsza dysocjację kompleksu. Powoduje to ponowne pojawienie się niebieskiej barwy roztworu. Intensywność zabarwienia zależy od stężenia jonów SCN<sup>-</sup> i acetonu. Pomiar absorbancji prowadzi się przy długości fali 620 nm.

Obecność żelaza (III) przeszkadza w spektrofotometrycznym oznaczaniu kobaltu, ze względu na większą czułość reakcji Fe<sup>3+</sup> z SCN<sup>-</sup>. Większe jego ilości należy oddzielić, na przykład ekstrakcyjnie lub strąceniowo za pomocą Zn(OH)<sub>2</sub>. Mniejsze ilości żelaza (III) można maskować fluorkami, fosforanami (V) lub redukować do żelaza (II) kwasem askorbinowym lub chlorkiem cyny (II).

### 4.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany

#### Odczynniki

- a) aceton,
- b) kwas L(+) askorbinowy – 2% roztwór otrzymany przez rozpuszczenie 2 g C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> w 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej,
- c) tiocyjanian amonu (rodanek amonu), NH<sub>4</sub>SCN – 50% roztwór otrzymany przez rozpuszczenie 50 g NH<sub>4</sub>SCN w wodzie destylowanej do objętości 100 cm<sup>3</sup>,
- d) siarczan (VI) kobaltu (II), CoSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – do otrzymania roztworu podstawowego kobaltu o stężeniu 1 mg Co/cm<sup>3</sup>, poprzez rozpuszczenie 1,195 g CoSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O w wodzie destylowanej z dodatkiem 0,5 cm<sup>3</sup> stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> do objętości 250 cm<sup>3</sup>,
- e) kwas siarkowy (VI), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- f) kwas solny, HCl – do przygotowania 10% roztworu zakwaszającego, rozpuszczając 8,5 cm<sup>3</sup> stężonego HCl w 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej.

#### Aparatura

Spektrofotometr Hawlett Packard lub SPEKOL.

## Materiał badany

Wybrane preparaty sojowe: mleko, budyń, ser tofu, kotlety sojowe.

### **4.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia**

Należy sporządzić krzywą wzorcową, w tym celu początkowo przygotowujemy roztwory robocze kobaltu: Roztwór I ( $100 \mu\text{g Co/cm}^3$ ) –  $5 \text{ cm}^3$  roztworu podstawowego kobaltu ( $1 \text{ mg Co/cm}^3$ ) z  $5 \text{ cm}^3$  10% HCl dopełnione wodą do objętości  $50 \text{ cm}^3$ . Roztwór II ( $10 \mu\text{g Co/cm}^3$ ) –  $5 \text{ cm}^3$  roztworu roboczego I z  $5 \text{ cm}^3$  10% HCl dopełnione wodą do objętości  $50 \text{ cm}^3$ . Roztwór III ( $1 \mu\text{g Co/cm}^3$ ) –  $5 \text{ cm}^3$  roztworu roboczego II z  $5 \text{ cm}^3$  10% HCl dopełnione wodą do objętości  $50 \text{ cm}^3$ .

Następnie sporządzamy roztwory wzorcowe o stężeniach:  $0 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $1,5 \text{ cm}^3$  wody +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) – próba ślepa (1);  $0,25 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $1,5 \text{ cm}^3$  roztworu III +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) (2);  $0,5 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $0,3 \text{ cm}^3$  roztworu II +  $1,2 \text{ cm}^3$  wody +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) (3);  $0,75 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $0,45 \text{ cm}^3$  roztworu II +  $1,05 \text{ cm}^3$  wody +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) (4);  $1,25 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $0,75 \text{ cm}^3$  roztworu II +  $0,75 \text{ cm}^3$  wody +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) (5);  $1,75 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $1,05 \text{ cm}^3$  roztworu II +  $0,45 \text{ cm}^3$  wody +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) (6);  $2,25 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $1,35 \text{ cm}^3$  roztworu II +  $0,15 \text{ cm}^3$  wody +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) (7);  $2,5 \mu\text{g Co/cm}^3$  ( $1,5 \text{ cm}^3$  roztworu II +  $1,5 \text{ cm}^3$  rodanku amonu +  $1,5 \text{ cm}^3$  kwasu askorbinowego +  $1,5 \text{ cm}^3$  acetonu) (8).

Dla każdego z roztworów wzorcowych (2)-(8) należy zmierzyć wartość absorbancji względem próby ślepej (1) jako odnośnika, przy długości fali 620 nm. Pomiar należy przeprowadzić w trzech powtórzeniach, a wyniki uśrednić. Po zakończeniu serii pomiarowej sporządzić krzywą wzorcową – wykres zależności absorbancji roztworu wzorcowego kobaltu (II) dla  $\lambda = 620 \text{ nm}$  od stężenia kobaltu ( $\mu\text{g/cm}^3$ ).

Do oznaczania zawartości jonów kobaltu (II) w wybranych preparatach sojowych służą klarowne roztwory po jego mineralizacji. Proces mineralizacji jest prostą i skuteczną metodą służącą do przygotowania produktów spożywczych (i nie tylko) do oznaczania składu pierwiastkowego. W ćwiczeniu badane będą próbki preparatów sojowych poddanych mineralizacji w aparacie mikrofalowym MAXIDIGEST MX 350 firmy PROLAB.



Do każdej z próbek zawierających po 1,5 cm<sup>3</sup> mineralizatu produktu sojowego należy dodać:

- 1,5 cm<sup>3</sup> rodu amonu,
- 1,5 cm<sup>3</sup> kwasu askorbinowego (w celu zamaskowania jonu Fe<sup>3+</sup>),
- 1,5 cm<sup>3</sup> acetonu.

Po dokładnym wymieszaniu należy zmierzyć absorbancję próbki przy długości fali 620 nm, wobec próby ślepej jako odnośnika. Pomiar powtórzyć trzykrotnie, a wyniki uśrednić.

#### 4.3.4. Opracowanie wyników

Obliczenie zawartości jonów kobaltu (II) (x) w badanych preparatach sojowych przeprowadza się w oparciu o równanie krzywej wzorcowej ( $y = ax + b$ ), przyjmując za y średnią wartość absorbancji z trzech pomiarów dla danej próbki.

Zawartość kobaltu w badanym preparacie należy podać w [ $\mu\text{g Co/cm}^3$ ].

## Literatura

1. Betteridge W., Cobalt and its alloys, Chichester, Ellis, Horwood 1982.
2. Bielański A., Podstawy chemii nieorganicznej, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2002.
3. Cichocka A., Korzyści zdrowotne ze spożywania produktów sojowych, Przemysł Spożywczy, 59, 41-43, 2005.
4. Cotton F.A. i inni, Chemia nieorganiczna. Podstawy, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1995.
5. Kabata-Pendias A., Pendias H., Biogeochemia pierwiastków śladowych, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1999.
6. Kolditz L., Chemia nieorganiczna. Część 2, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1994.
7. Marczenko Z., Spektrofotometryczne oznaczanie pierwiastków, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1979.

## 5. OZNACZANIE MIEDZI W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

### 5.1. Właściwości fizykochemiczne miedzi

Miedź (Cu, łac. *cuprum*) – pierwiastek chemiczny z grupy metali przejściowych układu okresowego. Łacińska nazwa miedzi pochodzi od Cypru, gdzie w starożytności wydobywano ten metal. Początkowo nazywano go metalem cypryjskim, a następnie cuprum. Posiada 26 izotopów z przedziału mas 55-80, jednak trwałe są tylko dwa: 63 i 65. Miedź była używana przez ludzi od najdawniejszych czasów. Pierwsze ozdoby miedziane znalezione w Iraku pochodzą z IX w. p.n.e.

Miedź jest metalem barwy ceglastoczerwonej, o gęstości 8,96 g/cm<sup>3</sup> i temperaturze topnienia 1083°C. Miedź metaliczna po wytopie i oczyszczeniu jest czerwono-brązowym, miękkim metalem o bardzo dobrym przewodnictwie cieplnym i elektrycznym. Jest odporna chemicznie i zalicza się do metali półszlachetnych. Nie ulega działaniu kwasów w warunkach nieutleniających. Na powietrzu ulega powolnej korozji powierzchniowej pod wpływem wilgoci i dwutlenku węgla, pokrywając się charakterystyczną zieloną patyną, zwaną grynspanem szlachetnym (śniedzenie miedzi).

Miedź można przerabiać plastycznie na zimno i na gorąco, ale w przypadku przeróbki na zimno następuje utwardzenie metalu, które usuwa się przez wyżarcie rekrytalizujące (w temp. 400-600°C). Przeróbkę plastyczną na gorąco przeprowadza się w temp. 650-800°C.

W tabeli poniżej przedstawiono najważniejsze właściwości fizykochemiczne miedzi.

*Właściwości miedzi*

Właściwości	Miedź
Symbol chemiczny	Cu
Konfiguracja elektronowa	1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>6</sup> 3s <sup>2</sup> 3p <sup>6</sup> 4s <sup>1</sup> 3d <sup>10</sup>
Liczba powłok	4
Masa atomowa [μ]	63,546
Temperatura topnienia [K]	810
Gęstość [g/cm <sup>3</sup> ]	8,96
Elektroujemność (Pauling)	1,9
Promień atomowy [pm]	135
Stopień utlenienia	0, +1, +2
Wartościowość	I, II
Barwa	pomarańczowa

Miedź czysta zawiera 0,01-1,0% zanieczyszczeń, zależnie od rodzaju wytwarzania, przetwarzania czy oczyszczania. Za zanieczyszczenia uważa się takie pierwiastki, jak: Bi, Pb, Sb, As, Fe, Ni, Sn, Zn oraz S.

## 5.2. Występowanie miedzi w środowisku i jej toksyczność

Występuje w skorupie ziemskiej w ilościach 55 ppm. W naturze występuje w postaci rud oraz w postaci czystej jako minerał – miedź rodzima. Miedź rodzima jest rzadko spotykana. Głównym źródłem tego metalu są minerały:

- siarczki: chalkopiryt  $\text{CuFeS}_2$ , chalkozyn  $\text{Cu}_2\text{S}$ , bornit  $\text{Cu}_5\text{FeS}_4$
- węglany: azuryt  $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ , malachit  $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$

Ze względu na duże zapotrzebowanie i stosunkowo małe zasoby naturalne miedź stanowi materiał strategiczny. Większość miedzi wydobywa się jako siarczek w kopalniach odkrywkowych ze złóż porfiru miedziowego zawierającego do 1% miedzi. W światowym wydobyciu rud miedzi w przeliczeniu na czysty składnik, wynoszącym w 2006 r. łącznie 13 600 tys. ton, przodowały: Chile (4 900 tys. ton), USA (1 140 tys. ton), Indonezja (1 000 tys. ton), Australia (860 tys. ton), Peru (840 tys. ton), Kanada (614 tys. ton), Rosja (500 tys. ton), Polska (460 tys. ton) i Zambia (430 tys. ton).

W światowej produkcji miedzi rafinowanej, która w 2006 r. wyniosła 15 200 tys. ton, przodowały: Chile (2 900 tys. ton), Chiny (1 700 tys. ton), Japonia (1 430 tys. ton), USA (1 320 tys. ton), Rosja (820 tys. ton), Niemcy (595 tys. ton), Polska (530 tys. ton), Peru (520 tys. ton), Australia (500 tys. ton), i Korea Południowa (510 tys. ton).

Rudy miedzi zawierają tylko nieznaczne ilości miedzi. W celu oddzielenia siarczków miedzi od skały płonnej, stosowana jest flotacja. Otrzymane w ten sposób koncentraty miedzi przerabiane są w piecach hutniczych, a następnie elektrolitycznie w celu uzyskania miedzi niezawierającej więcej niż 0,1% zanieczyszczeń.

Miedź jest mikroelementem występującym w centrach aktywnych wielu enzymów. Znajduje się tam, ze względu na łatwość pobierania i oddawania elektronu w czasie zmiany stopnia utlenienia. Potrzebna jest do tworzenia się krwinek czerwonych, wchodzi w skład hemocyjaniny, wpływa pozytywnie na błonę otaczającą komórki nerwowe, bierze udział w przesyłaniu impulsów nerwowych. Wchodzi w skład enzymu o działaniu przeciwutleniającym, zwanego dysmutazą nadtlenkową, chroniącego błony komórkowe przed wolnymi rodnikami. Ponadto bierze udział w tworzeniu tkanki łącznej i syntezie prostaglandyn, związków zwanych hormonami miejscowymi, wpływających między innymi na czynność serca i ciśnienie tętnicze krwi.

Minimalne dzienne spożycie miedzi wynosi 0,5 ppm. Genetycznie uwarunkowany defekt metabolizmu miedzi prowadzi do wystąpienia schorzenia nazywanego chorobą Wilsona, czyli zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego. Choroba Wilsona to uwarunkowane genetycznie zaburzenie metabolizmu miedzi w organizmie. Miedź, która zwykle jest wydzielana z żółcią, gromadzi się początkowo w wątrobie, prowadząc do jej uszkodzenia. Po przekroczeniu możliwości magazynowania tego pierwiastka, trafia on z krwią do innych tkanek, osiągając duże koncentracje zwłaszcza w mózgu, rogówkach oczu i nerkach. Objawy neurologiczne choroby Wilsona wynikają z uszkodzenia jąder komórek podstawnych mózgu.

Niedobór miedzi może stać się przyczyną niedokrwistości, ponieważ zbyt mała ilość tego pierwiastka powoduje gorsze wchłanianie żelaza i zmniejszenie liczby czerwonych krwinek. Ponadto przypuszcza się, że powoduje uszkodzenie serca i tętnic, zaburzenia pracy systemu nerwowego. Niewystarczająca ilość miedzi obniża również ilość białych krwinek, a zatem zmniejsza odporność organizmu. Niedobór miedzi zaburza także gospodarkę lipidową organizmu oraz syntezę dopaminy i melaniny, które objawiają się złym samopoczuciem i opalaniem na różowo z oparzeniami słonecznymi.

Wchłanianie miedzi w przewodzie pokarmowym jest blokowane przez białka mleka i jaj oraz warzywa krzyżowe zawierające duże ilości związków siarki (np. kapusta, cebula, por, czosnek, gorczyca). Spożywanie tych produktów łącznie z pokarmem o dużej zawartości miedzi znacząco zmniejsza wchłanianie tego pierwiastka przez organizm.

Spożywanie nadmiaru miedzi prowadzić może do zaburzeń pokarmowych i uszkodzenia wątroby. Może to mieć miejsce w przypadku spożywania wody pitnej o niskiej twardości lub niskim pH dostarczanej miedzianą instalacją wodociągową (woda taka wypłukuje miedź z instalacji). Dawka śmiertelna miedzi zawarta jest w około 30 g siarczanu miedzi. Dopuszczalne górne spożycie wynosi 10 mg/dzień dla dorosłych. W przypadku podejrzenia zatrucia podaje się albuminę jako mleko lub białko jaj.

Miedź występuje powszechnie w wielu organizmach roślinnych i zwierzęcych. Szczególnie dużo jest jej w wołowinie, sałacie, grzybach, owocach morza (ostrygi, homary), gotowanych podrobach, ale można ją znaleźć również w chlebie gruboziarnistym, warzywach strączkowych, owocach awokado i kiwi. Jako mikroelement jest niezbędna dla życia wielu organizmów, biorąc udział m.in. w fotosyntezie i oddychaniu.

Miedź występuje w takich produktach spożywczych jak: wołowina, ryby, jęczmień i kasza jęczmienna, liście winogron, nasiona słonecznika, orzechy, płatki owsiane, suche nasiona roślin strączkowych, pieczywo ciemne, podroby (nerki,

mózg, wątroba), warzywa liściaste (np. sałata) nienależące do krzyżowych, awokado (inne owoce zawierają małe ilości miedzi).

Zapotrzebowanie człowieka dorosłego na miedź wynosi 1,5-4 mg Cu/dzień i jest pokrywane w normalnej diecie, która dostarcza 1,5-3,5 mg Cu/dzień. Zapotrzebowanie na miedź jest zwiększone u kobiet w ciąży, dzieci i osób starszych. Stopień przyswajania miedzi zależy od jej formy w pożywieniu i wynosi średnio dla człowieka 5-20% całkowitej dawki.

Miedź, obok żelaza odegrała wyjątkową rolę w rozwoju cywilizacji ludzkiej. Epoka brązu zawdzięcza swoją nazwę jednemu ze stopów miedzi. Pierwiastek ten znany jest od starożytności, od kiedy to był podstawowym składnikiem brązów.

Jest masowo wykorzystywana jako surowiec do produkcji przewodów elektrycznych i powszechnie w elektronice, a także w budownictwie (pokrycie dachów, elementy różnych instalacji), jako barwnik szkła oraz katalizator.

Miedź jest dodawana do wielu stopów, zarówno do stali jak i do stopów aluminium. Jest też dodawana do srebra i złota, poprawiając znacznie ich własności mechaniczne.

Miedź z cyną, cynkiem, molibdenem i innymi metalami przejściowymi tworzy cały zestaw stopów zwanych ogólnie brązami. Najbardziej znane z nich to: udający złoto tombak i posiadający bardzo dobre własności mechaniczne oraz znaczną odporność na korozję mosiądz. Stopy miedzi stosuje się do wyrobu kosztownej armatury, elementów precyzyjnych urządzeń mechanicznych i w jubilerstwie.

Miedź wpływa korzystnie na organizm człowieka, jednocześnie jest zabójcą dla wirusów i bakterii, stąd bakteriobójcze i wirusobójcze działania tego pierwiastka. Już w starożytności stosowano miedź do łagodzenia bólów lub w leczeniu chorób skóry.

Swoje zastosowanie mają również związki miedzi. Pięciowodny siarczan (VI) miedzi (II)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ma własności odkażające oraz grzybobójcze, co jest wykorzystywane w sadownictwie, a siarczan bezwodny tego pierwiastka ma silne własności higroskopijne i niekiedy stosowany jest do osuszania rozpuszczalników. Kompleksy miedzi są trwałe, jednak dość łatwo jest zmieniać stopień utlenienia miedzi w takich kompleksach i dlatego są one często stosowane jako katalizatory reakcji redoks. Związki miedzi (I) są trudno rozpuszczalne w wodzie, natomiast wodne roztwory soli miedzi (II) z reguły mają barwę niebieską lub niebiesko-zieloną.

Swoją znaczącą rolę w procesach fizjologicznych miedź zawdzięcza trwałości wiązań z substancjami biologicznie aktywnymi oraz właściwościom utleniającym. Jest ona aktywatorem wielu systemów enzymatycznych.

## 5.3. Spektrofotometryczne oznaczanie miedzi w sokach owocowych

### 5.3.1. Cel i zasada metody

Celem ćwiczenia jest ilościowe oznaczenie jonów miedzi (II) metodą fotokolorymetryczną w świeżych sokach owoców. Metoda ta polega na tworzeniu niebieskiego kompleksu jonów miedzi (II) z dwuetylodwukarbaminianem ołowiu w kwaśnym środowisku, ekstrakcji chloroformem barwnego kompleksu miedzi i fotokolorymetrycznym pomiarze absorbancji przy długości fali 410-453 nm. Intensywność barwy kompleksu jest proporcjonalna do zawartości jonów miedzi (II), można ją więc określić zarówno spektrofotometrycznie, jak i wizualnie.

### 5.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany

#### Odczynniki i roztwory

- a) Amoniak, roztwór 5%,
- b) Dwuetylodwutiokarbaminian sodu, roztwór 0,4% (świeżo przygotowany),
- c) Winian sodowo-potasowy,
- d) Octan ołowiu, 0,4% roztwór,
- e) Chloroform,
- f) Czerwień fenolowa, roztwór 0,1% (wodno-alkoholowy),
- g) Dwuetylodwutiokarbaminian ołowiu, roztwór 0,025% w chloroformie (50 cm<sup>3</sup> 0,4% roztworu dwuetylodwutiokarbaminianu sodu, 1 g winianu sodowo-potasowego umieścić w rozdzielaczu o pojemności 1 dm<sup>3</sup>, dodać 50 cm<sup>3</sup> 0,4% octanu ołowiu, zobojętnić roztworem amoniaku wobec czerwieni fenolowej, do barwy pomarańczowej. Roztwór z powstałym osadem wytrząsać w 500 cm<sup>3</sup> chloroformu do rozpuszczenia osadu. Oddzielić warstwę chloroformową i przemyć dwoma porcjami wody po 100 cm<sup>3</sup> każda, a następnie przesączyć przez watę do suchej kolby o pojemności 1 dm<sup>3</sup> i dopełnić chloroformem do kreski, wymieszać. Roztwór przechowywać w ciemnej butelce, do 30 dni),
- h) Stężony roztwór kwasu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- i) 0,001 M roztwór kwasu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,
- j) Roztwór wzorcowy podstawowy siarczanu (VI) miedzi (II), CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O (3,929 g rozpuścić w wodzie zawierającej 1 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu siarkowego (VI) i dopełnić do 1 dm<sup>3</sup> wodą destylowaną, 0,001 M),

- k) Roztwór wzorcowy roboczy I siarczanu (VI) miedzi (II) zawierający 0,1 mg  $\text{Cu}^{2+}$  w 1  $\text{cm}^3$  (10  $\text{cm}^3$  roztworu podstawowego dopełnić 0,001 M roztworem  $\text{H}_2\text{SO}_4$  w kolbie pomiarowej o pojemności 100  $\text{cm}^3$ ),
- l) Roztwór wzorcowy roboczy II siarczanu (VI) miedzi (II) zawierający 0,001 mg  $\text{Cu}^{2+}$  w 1  $\text{cm}^3$  (10  $\text{cm}^3$  roztworu I dopełnić wodą w kolbie pomiarowej o pojemności 1  $\text{dm}^3$ , roztwór używać świeżo przygotowany),
- m) Woda destylowana.

#### Aparatura

- a) 8 rozdzielaczy o pojemności 100  $\text{cm}^3$ ,
- c) rozdzielacz o pojemności 1  $\text{dm}^3$ ,
- d) naczynka wagowe,
- e) 2 kolby miarowe o pojemności 1  $\text{dm}^3$ ,
- f) pipeta miarowa o pojemności 10  $\text{cm}^3$ ,
- g) cylinder miarowy na 25  $\text{cm}^3$ ,
- h) lejek szklany,
- i) papierek uniwersalny,
- j) Spektrofotometr Hewlett Packard lub SPEKOL obejmujący długość fali 410-453 nm,
- k) 2 kuwety o grubości warstwy 1 cm.

#### Materiał badany

Świeże soki owocowe (z kiwi, awokado).

### **5.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia**

Do sześciu rozdzielaczy o pojemności 100  $\text{cm}^3$  odmierzyć pipetą: 0,0 (ślepa próba); 5; 10; 15; 20 i 25  $\text{cm}^3$  roztworu wzorcowego II siarczanu (VI) miedzi (II), co odpowiada zawartości 0,000; 0,005; 0,01; 0,015; 0,020 i 0,025 mg  $\text{Cu}^{2+}$  i rozcieńczyć wodą do objętości 25  $\text{cm}^3$ , czyli uzupełnić wodą do tej objętości, dodając odpowiednio 25; 20; 15; 10, 5 i 0,0  $\text{cm}^3$  wody do każdego rozdzielacza. Po czym do każdego rozdzielacza dodać roztworu kwasu siarkowego (VI) aż do ustalenia odczynu kwaśnego, wobec papierka uniwersalnego, następnie dodać po 5  $\text{cm}^3$  roztworu dwuetylodwutiokarbaminianu ołowiu i energicznie wytrząsać przez 2 minuty.

Po rozdzieleniu się faz, organiczną warstwę przelać do suchego cylindra o pojemności 25  $\text{cm}^3$ . Do wodnego roztworu ponownie dodać 5  $\text{cm}^3$  roztworu dwuetylodwutiokarbaminianu ołowiu i wytrząsać przez 1 minutę, a po rozdzieleniu faz, warstwę organiczną przelać do tego samego cylindra miarowego przez watę.

Objętość otrzymanych ekstraktów uzupełnić chloroformem do objętości 10 cm<sup>3</sup>, wymieszać.

Ze zmineralizowanych próbek soków owocowych pobrać do rozdzielaczy o pojemności 100 cm<sup>3</sup> po 25 cm<sup>3</sup> roztworu. Następnie dodać 5 cm<sup>3</sup> roztworu dwuetylodwutiokarbaminianu ołowiu i energicznie wytrząsać przez 2 minuty. Po rozdzieleniu się faz, organiczną warstwę przelać do suchego cylindra o pojemności 25 cm<sup>3</sup>.

Do wodnego roztworu ponownie dodać 5 ml roztworu dwuetylodwutiokarbaminianu ołowiu i wytrząsać przez 1 minutę, a po rozdzieleniu faz, warstwę organiczną przelać do tego samego cylindra miarowego. Objętość otrzymanego ekstraktu uzupełnić chloroformem do objętości 10 cm<sup>3</sup>, wymieszać.

Za pomocą spektrofotometru zmierzyć absorbancje roztworów wzorcowych oraz próbek soków przy  $\lambda_{\max} = 435 \text{ nm}$ , stosując ślełą próbę jako odnośnik.

#### 5.3.4. Opracowanie wyników

Z pomiarów absorbancji dla roztworów wzorcowych wykreślić krzywą kalibracyjną  $A = f(c)$ . Z krzywej wyznaczyć równanie krzywej kalibracyjnej i wartość  $R^2$ . Krzywa kalibracyjna ma postać  $y = ax + b$ , z krzywej obliczyć zawartość jonów miedzi ( $x$ ) w badanych próbkach, podstawiając pod  $y$  wartość absorbancji dla próbek soków, pamiętając, że wynik podany będzie w mg.

#### Literatura

1. Atkins P., Jones L., Chemia ogólna, cz. I i II, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2009.
2. Bielański A., Podstawy chemii nieorganicznej, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2002.
3. Bles N., ABC mikroelementów, Wydawnictwo ŚW, Warszawa 2008.
4. Heiserman D.L., Księga pierwiastków chemicznych, Wydawnictwo Prószyński i Spółka, Warszawa 1997.
5. Lipiec T., Szmaj Z.S., Chemia analityczna z elementami analizy instrumentalnej, Wydawnictwo PZWL, Warszawa 1980.
6. Marczenko Z., Analiza ilościowa, Wydawnictwo WSiP, Warszawa 1969.
7. Marczenko Z., Spektrofotometryczne oznaczanie pierwiastków, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1979
8. Minczewski J., Marczenko Z., Chemia analityczna 2. Chemiczne metody analizy ilościowej, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1998.
9. Stenhammar L., Diarrhoea following contamination of drinking water with copper, Eur. J. Med. Res., 4.6, 217-8, 1999.



10. Truchliński J., Ćwiczenia z toksykologii żywności, Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Lublinie, Lublin 2001.
11. Trzebiatowski W., Chemia nieorganiczna, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1979.
12. Norma: PN-82/C-84002.13, Oznaczanie zawartości miedzi. Metoda fotokolorymetryczna.
13. Norma: PN-81/C-06503, Analiza chemiczna. Przygotowanie roztworów do kolorymetrii i nefelometrii.
14. [www.biomol.pl](http://www.biomol.pl)

## 6. OZNACZANIE NIKLU W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

### 6.1. Właściwości fizykochemiczne niklu

Nikiel (Ni) jest pierwiastkiem metalicznym, należącym do grupy VIIIb układu okresowego. Nazwa pochodzi od niemieckiego słowa kupfernickel – fałszywa miedź. Podstawowe dane dotyczące właściwości fizykochemicznych zebrano poniżej:

*Właściwości fizykochemiczne niklu*

Właściwości fizykochemiczne	Nikiel
Symbol chemiczny	Ni
Postać	metal srebrzystobiały
Konfiguracja elektronowa	$3d^8 4s^2$
Masa atomowa [u]	58.6934
Temperatura topnienia [°C]	1453
Temperatura wrzenia [°C]	2732
Gęstość [g/cm <sup>3</sup> ]	8,9
Stopnie utlenienia	-1, 0, +1, +2(dominujący), +4
Izotopy niklu (najczęściej występujące)	<sup>58</sup> Ni (68.27%) <sup>60</sup> Ni (26.10%)
Najważniejsze nieorganiczne związki niklu	tlenek niklu (II) wodorotlenek niklu (II) siarczan i chlorek niklu (II)
Najważniejszy organiczny związek niklu	karbonyłek niklu

Nikiel jest dobrym przewodnikiem ciepła i elektryczności. Silnie rozdrobniony wykazuje własności piroforyczne. Jest ferromagnetykiem o temperaturze Curie 357°C.

Czysty nikiel jest odporny na działanie powietrza, wody, nieutleniających kwasów, zasad i wielu organicznych rozpuszczalników. Nikiel rozpuszcza się w rozcieńczonym kwasie azotowym, a w stężonym kwasie azotowym powierzchnia metalu ulega pasywacji. Węglany, siarczki i tlenki niklu nie są rozpuszczalne w wodzie, natomiast chlorki, siarczany i azotany rozpuszczają się. W materiale biologicznym rozpuszczony nikiel może tworzyć związki kompleksowe z różnymi ligandami oraz wiązać się z cząsteczkami organicznymi.

Niezwykłą właściwością niklu jest jego zdolność absorbowania tlenu węgla. Sto gram niklu może pochłonąć 500-800 cm<sup>3</sup> tlenu węgla, dając karbonyłek niklu (IV). Nikiel wykazuje również skłonność do absorpcji wodoru. Właściwość ta jest wykorzystywana w wielu procesach katalitycznych, gdzie nikiel używany

bywa jako katalizator w wielu procesach m.in. w hydrogenizacji (chemicznym utwardzaniu) tłuszczów.

## 6.2. Występowanie niklu w środowisku i jego toksyczność

W glebie, wodzie, powietrzu i biosferze nikiel występuje w postaci śladowej. Średnia zawartość niklu w skorupie ziemskiej wynosi ok. 0,008%. Wydobycie niklu z rudy niklowo-miedziowej prowadzone jest w Kanadzie, Rosji, Australii oraz Francji (Nowa Kaledonia). Japonia, mimo że nie wydobywa niklu, jest na trzecim miejscu po Rosji i Kanadzie pod względem przetwarzania i produkcji niklu.

Zawartość niklu w różnych środowiskach:

- ziemia uprawna: 0,003-1 g/kg,
- stężenie niklu w powietrzu atmosferycznym na terenach:
  - uprzemysłowionych:  $1,20-1,70 \cdot 10^{-7}$  g/m<sup>3</sup>;
  - podmiejskich:  $0,6-1,7 \cdot 10^{-8}$  g/m<sup>3</sup>;
  - nieuprzemysłowionych:  $0,1-3 \cdot 10^{-9}$  g/m<sup>3</sup>;
- stężenie niklu w:
  - wodach wodociągowych: 0,02-5 g/m<sup>3</sup>;
  - wodzie pozostawionej na noc w urządzeniach hydraulicznych: 490 g/m<sup>3</sup>;
  - wodach powierzchniowych:  $1,5-2,0 \cdot 10^{-14}$  g/m<sup>3</sup> (15-20 ppb – *parts per bilion*);
  - wody głębinowe mórz:  $1-5 \cdot 10^{-16}$  g/m<sup>3</sup> (0,1-0,5 ppb);
- rośliny: 0,0001-0,002 g/kg;
- człowiek: ~0,001 g/70 kg masy człowieka;
- nawóz naturalny (obornik): 0,074-0,080 g/kg;
- ścieki komunalne i przemysłowe: 0,020-3,924 g/kg;
- pokłady węglowe: 0,004-0,060 g/kg;
- ropa naftowa: 0,050-0,350 g/kg.

Innymi źródłami występowania niklu w otaczającym nas środowisku są: herbata, szpinak, kakao, orzechy, plastyki, oleje utwardzane wodorem, środki grzybobójcze, wyroby gumowe, spalanie różnego rodzaju paliw (w jednym litrze spalin znajduje się 0,002 g Ni), galwanotechnika, tytoń i metalowe protezy.

Źródła emisji niklu:

- wydobycie rudy,
- produkcja stopów,
- niklowanie,
- produkcja farb i emalii,
- produkcja tworzyw sztucznych,
- ścieki przemysłu metalurgicznego,

- proces spalania węgla i paliw płynnych (wydalanych przez silniki Diesla),
- produkcja azbestu (zawartość niklu w azbeście >1,5 g/kg).

Nikiel w stężeniach powyżej 0,050 g/kg suchej masy jest toksyczny dla większości roślin. Kumulację i toksyczne działanie niklu obserwowano w warzywach rosnących na glebie użyźnianej szlamem kanalizacyjnym oraz w warzywach hodowanych w pobliżu źródeł emitujących nikiel.

Nikiel i jego sole wywołują u ludzi objawy podrażnienia spojówek, błony śluzowej górnych dróg oddechowych, owrzodzenia przegrody nosa. Powstają swędzące wypryski, głównie na rękach i przedramionach (tzw. świąd niklowy). Te objawy uczulenia występują najczęściej u ceramików, galwanizerów i jubilerów. Stwierdza się także objawy dychawicy i pylicy płuc. Uważa się, że ok. 5-13% przypadków egzemy na skórze zostało wywołane niklem lub jego związkami. Obserwacje kliniczne o zaistniałych i potencjalnych skutkach zdrowotnych zawodowego narażenia na nikiel dotyczą: stanów przewlekłego podrażnienia górnych dróg oddechowych, charakteryzujących się nieżytem nosa, zapaleniem zatok nosowych, perforacją przegrody nosowej i utratą węchu, stanów podrażnienia i zwłóknienia płuc, pylicy płuc, astmy oskrzelowej i zapalenia skóry, co ukazuje poniższa tabela.

*Drogi narażenia i skutki toksyczne działania niklu i jego związków*

<b>Droga narażenia</b>	<b>Efekty toksyczne</b>
Inhalacyjna (Ni(CO) <sub>4</sub> , Ni, Ni <sub>3</sub> S <sub>2</sub> , NiO, Ni <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	Ostre: zapalenie płuc z niewydolnością kory nadnerczy, powstawanie błon szklistych, odma płuc i krwotoki, degeneracja wątroby, zapalenie mózgu i nerek  Przewlekłe: rak układu oddechowego, eozynofilia płuc (syndrom Loefflera), astma
Skórna	Podrażnieniowe zapalenie skóry, alergiczne zapalenie skóry, <i>egzema</i>
Pozajelitowa (założone protezy)	Reakcje alergiczne, zapalenie szpiku, martwica szpiku, nowotwory złośliwe

Alergia na nikiel jest najczęstszym uczuleniem kontaktowym w krajach rozwiniętych. W Polsce nadwrażliwość na nikiel przez dłuższy czas występowała rzadziej niż np. w USA, ale ostatnio różnica ta szybko maleje. Wyprysk wywołany

alergią na nikiel występuje wielokrotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn. Nikiel jest tym alergenem kontaktowym, który stosunkowo często uczula dzieci, niekiedy już 5-letnie. Omawiany metal jest składnikiem lub zanieczyszczeniem wielu stopów. W Polsce wyprysk nikłowy najczęściej powodują następujące przedmioty: klipsy i kolczyki, łańcuszki, naszyjniki, bransoletki zegarków, guziki dżinsów, napastrki, sprzączki pasów, a niekiedy także nożyce, sztućce, klamki i wiele innych wyrobów metalowych. Alergia zawodowa jest względnie rzadka. Obserwuje się ją głównie u galwanizerów, czasami u kasjerów w krajach posługujących się bilonem, a w niektórych szpitalach zaskakująco często występuje u salowych (przyczyna tego ostatniego zjawiska nie została wyjaśniona).

Osoby nadwrażliwe na nikiel próbowano odczuwać doustnie oraz leczyć disulfarimem (Anticol, Polfa) podawanym w dawkach większych niż przepisywane w leczeniu przewlekłego alkoholizmu. Lek ten powoduje obniżenie poziomu niklu we krwi. Obie te metody powinny być stosowane tylko w wyspecjalizowanych ośrodkach. Chorym silnie uczulonym pomagają specjalnie dobrane diety (m.in. nie należy używać pierwszej porannej porcji wody z kranu, ponieważ nocą stężenie niklu wzrasta). Jubilerzy, stomatolodzy i przedstawiciele innych zawodów zmuszeni do częstego posługiwania się niklowanymi narzędziami powinni w miejscach dotyku palcami pokrywać je warstwą poliuretanu. U ludzi nikiel wydalany jest z moczem, potem oraz śliną.

W niewielkich stężeniach nikiel jest niezbędny do prawidłowego rozwoju organizmu. Niedobór niklu powoduje zmniejszenie zużycia tlenu w wątrobie i zwiększenie nagromadzenia tłuszczów. Fizjologiczna rola niklu polega na aktywacji niektórych enzymów, zwiększeniu aktywności hormonalnej, stabilizacji struktur kwasów nukleinowych, jak również odbywa on istotną rolę w metabolizmie lipidów.

Wchłonięty nikiel w organizmie człowieka i zwierząt jest transportowany głównie przez albuminy surowicy. Również nikiel znajdowano w kompleksach białkowych z  $\alpha$ -makroglobuliną, histydyną, plazminą. Prawie cała ilość niklu obecnego we krwi znajduje się w surowicy. U człowieka nikiel znajdujący się w surowicy 60% związany jest z albuminami. Największe stężenie niklu w organizmie znajduje się w płucach, wątrobie, nerkach, mózgu i jelitach.

Związki niklu znajdują duże zastosowanie w przemyśle chemicznym i spożywczym oraz do produkcji: sprzętu laboratoryjnego, narzędzi chirurgicznych, maszyn i urządzeń, uzbrojenia, elektrod, monet (jedno- i dwueurowek), baterii niklowo-kadmowych, elektronicznych sprzętów, stali stopowych, tworzyw sztucznych, a także do galwanicznego pokrywania metalowych przedmiotów.

## 6.3. Oznaczanie niklu w herbacie, winie i piwie metodą kolorymetryczną z dwumetyloglioksymem

### 6.3.1. Cel i zasada metody

Celem ćwiczenia jest przeprowadzenie niklu w barwny kompleks z dwumetyloglioksymem i spektrofotometryczne określenie jego zawartości.

Oznaczanie polega na reakcji jonów niklu z dwumetyloglioksymem, w której wyniku powstaje związek kompleksowy o zabarwieniu winnoczerwonym. Reakcja zachodzi w środowisku amoniakalnym, w obecności utleniacza. Intensywność powstałego zabarwienia jest proporcjonalna do zawartości niklu i określa się ją spektrofotometrycznie lub wizualnie.

Metoda oznaczania małych ilości niklu opiera się na rozpuszczalnym w wodzie winnoczerwonym kompleksie dwumetyloglioksymu ( $H_2Dm$ , odczynnik Czugajewa) z niklem (IV). Kompleks ten powstaje w środowisku amoniakalnym w obecności utleniacza. Nikiel w tym kompleksie jest na stopniu utlenienia IV, a kompleksowi odpowiada wzór  $[Ni^{IV}Dm_3]^{2-}$ . Jako środki utleniające stosuje się jod, brom lub nadsiarczan amonu. Rodzaj utleniacza nie ma wpływu na uzyskiwane zabarwienie. Intensywność powstałego zabarwienia jest proporcjonalna do zawartości niklu i określa się ją spektrofotometrycznie lub wizualnie. Ponieważ reakcja powstawania barwnego chelatu nie przebiega bardzo szybko, zaleca się wykonywanie pomiaru absorbancji po upływie 10 min. Barwne roztwory tego kompleksu nie są trwałe w czasie. Pomiaru absorbancji dokonuje się przy długości fali  $\lambda = 530$  nm. Oznaczeniu niklu przeszkadzają barwne jony oraz jony metali ( $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) tworzących z  $H_2D$  rozpuszczalne w wodzie barwne kompleksy. Kompleksy tych metali są rozkładane przez EDTA. Omawianą metodą oznaczano nikiel w katalizatorach do krakingu, wodzie morskiej, środkach spożywczych, powietrzu, stali i metalach (cynku, kadmie, cynie, ołowiu, antymonie i uranie).

### 6.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany

#### Odczynniki

- Woda amoniakalna o  $d = 0,90$  g/cm<sup>3</sup> i roztwór (1 + 1),
- Kwas azotowy o  $d = 1,40$  g/cm<sup>3</sup>,
- Cytrynian amonowy, roztwór: w zlewce kalibrowanej pojemności 100 cm<sup>3</sup> rozpuścić 50 g kwasu cytrynowego jednowodnego ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ) w 67,5 cm<sup>3</sup> wody amoniakalnej i uzupełnić wodą do objętości 100 cm<sup>3</sup>,

- d) Dwumetyloglioksym ( $C_4H_8O_2N_2$ ) roztwór: 0,25 g dwumetyloglioksymu rozpuścić w  $125\text{ cm}^3$  wody amoniakalnej o  $d = 0,90\text{ g/cm}^3$ , dodać  $125\text{ cm}^3$  wody i przesączyć przez miękki sączek bibułowy. Roztwór przechowywany w butelce z ciemnego szkła jest trwały przez około 2 tygodnie,
- e) Jod, roztwór: 1,27 g jodku potasowego rozpuścić w  $12\text{ cm}^3$  wody, dodając ją małymi porcjami i zlewając kolejne otrzymane objętości roztworu. Następnie w połączonym roztworze rozpuścić 1,27 g jodu sublimowanego, uzupełnić wodą do  $100\text{ cm}^3$  i wymieszać. Roztwór przechowywany w butelce z ciemnego szkła, szczelnie zamkniętej, może być używany przez kilka miesięcy,
- f) Nikiel, roztwór wzorcowy podstawowy: w kolbie pomiarowej pojemności  $1\text{ dm}^3$  rozpuścić 0,4478 g  $NiSO_4 \cdot 6H_2O$  w  $100\text{ cm}^3$  wody z dodatkiem  $2\text{ cm}^3$  stężonego kwasu siarkowego (VI), uzupełnić wodą do kreski i wymieszać.  $1\text{ cm}^3$  tak przygotowanego roztworu zawiera 0,10 mg Ni. Roztwór jest trwały przez około 1 rok,
- g) Nikiel, roztwór wzorcowy roboczy: do kolby pomiarowej pojemności  $100\text{ cm}^3$  odmierzyć  $10,0\text{ cm}^3$  roztworu wzorcowego podstawowego niklu, uzupełnić wodą do kreski i wymieszać.  $1\text{ cm}^3$  tak przygotowanego roztworu zawiera 0,01 mg Ni. Roztwór należy przygotowywać w dniu wykonywania oznaczania.

#### Aparatura

- 9 kolb miarowych o pojemności  $100\text{ cm}^3$ ,
- kolba miarowa o poj.  $50\text{ cm}^3$ ,
- pipeta miarowa o poj.  $10\text{ cm}^3$ ,
- mineralizator mikrofalowy,
- spektrofotometr o zakresie obejmującym długość fali 530 nm,
- papierki wskaźnikowe.

#### Materiał badany

- $5\text{ cm}^3$  czerwonego wina,
- $5\text{ cm}^3$  piwa,
- $5\text{ cm}^3$  przesączu herbaty (1 g próbki herbaty zalać  $100\text{ cm}^3$  wrzącej wody i parzyć 5 minut).

### **6.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia**

Badaną próbkę po mineralizacji ostudzić, przelać do kolby miarowej i doprowadzić pH do około 7, wobec papierka wskaźnikowego, przy użyciu wody amoniakalnej. Uzupełnić wodą destylowaną do  $50\text{ cm}^3$  i wymieszać.

Przygotowujemy skalę wzorców i sporządzamy krzywe wzorcowe. Do 6 kolb miarowych o poj. 100 cm<sup>3</sup> odmierzyć kolejno: 0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 25,0 i 50 cm<sup>3</sup> wzorcowego roztworu roboczego niklu, co odpowiada: 0,00; 0,025; 0,05; 0,10; 0,25 i 0,50 mg Ni we wzorcu. Następnie do roztworów dodać 50,0; 47,5; 45,0; 40,0; 25,0 i 0,0 cm<sup>3</sup> wody destylowanej (roztwór w każdej kolbie musi być tak uzupełniony wodą destylowaną aby całkowita jego objętość wynosiła 50 cm<sup>3</sup>). Następnie kolejno dodać po 10 cm<sup>3</sup> roztworu cytrynianu amonowego, 5 cm<sup>3</sup> roztworu jodu oraz 20 cm<sup>3</sup> roztworu dwumetylogliksymu, mieszając po dodaniu każdego odczynnika. Tak przygotowane wzorce są gotowe do użycia po upływie 10 min., ale nie później niż po upływie 30 min. Pomiar absorpcji należy wykonać na spektrofotetrze przy długości fali 530 nm.

Krzywe wzorcowe wykreślić, odkładając na osi odciętych zawartości niklu we wzorcach w 10<sup>-3</sup> g, a na osi rzędnych zmierzone wartości absorpcji.

Wykonujemy oznaczenie. Z próbki pobranej i przygotowanej, odmierzyć do dwóch kolb miarowych o poj. 100 cm<sup>3</sup>, aby zawartość niklu w nich wynosiła 0,01÷0,5 mg. Roztwory te rozcieńczyć wodą destylowaną do objętości 50 cm<sup>3</sup>. Dodać 10 cm<sup>3</sup> roztworu cytrynianu amonowego i 5 cm<sup>3</sup> roztworu jodu. Do jednego cylindra dodać 20 cm<sup>3</sup> roztworu dwumetylogliksymu i wymieszać. Jest to próba porównawcza, którą należy stosować jako odnośnik.

Zmierzyć absorpcję otrzymanego roztworu po upływie 10 min., lecz nie później niż po upływie 30 min. przy długości fali 530 nm.

Zawartość niklu odczytać z odpowiedniej krzywej. W przypadku pomiaru wizualnego porównać kolejno zabarwienie przygotowanej próbki i następnie próby porównawczej ze skalą wzorców. Zawartość niklu w badanej próbce określić z różnicy między otrzymanymi wartościami.

#### 6.3.4. Opracowanie wyników

Stężenie niklu w badanej próbce ( $X$ ) obliczyć w mg/dm<sup>3</sup> wg wzoru:

$$X = \frac{a \cdot 1000}{V}$$

gdzie:  $a$  – zawartość niklu w badanej próbce, odczytana z krzywej wzorcowej lub określona wizualnie przez porównanie ze skalą wzorców, mg,

$V$  – objętość próbki użytej do oznaczania, cm<sup>3</sup>.



## Literatura

1. Denkhaus E., Salnikow K., *Critical Reviews In Oncology/Hematology*, 42, 35, 2002.
2. Ferreira S.L.C., Spinola Costa A.C., De Jesus D.S., Derivative spectrophotometric determination of nickel using Br-PADAP, *Talanta*, 43, 1649, 1996.
3. Kristiansen J., Christensen J.M., Henriksen T., Nielsen N.H., Menné T., Determination of nickel in fingernails and forearm skin (stratum corneum), *Analytica Chimica Acta*, 403, 265-272, 2000.
4. Marczenko Z., *Analiza ilościowa*, Wydawnictwo WSiP, Warszawa 1969.
5. Marczenko Z., *Spektrofotometryczne oznaczanie pierwiastków*, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1979.
6. Marczenko Z., Balcerzak M., *Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej*, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1998.
7. Minczewski J., Marczenko Z., *Chemia analityczna 2. Chemiczne metody analizy ilościowej*, Wydawnictwo PWN, Warszawa 1998.
8. Seńczuk W., *Toksykologia współczesna*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005.
9. Tautkus S., Extractive preconcentration and determination of nickel in water *and wastewater samples by atomic absorption spectrometry*, *Chem. Anal (Warsaw)*, 49, 271, 2004.
10. Truchliński J., *Ćwiczenia z toksykologii żywności*, Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Lublinie, Lublin 2001.
11. Norma: PN-91/C-04614/03, Woda i ścieki. Badanie zawartości niklu. Oznaczanie niklu metodą kolorymetryczną z dwumetyloglioksymem.

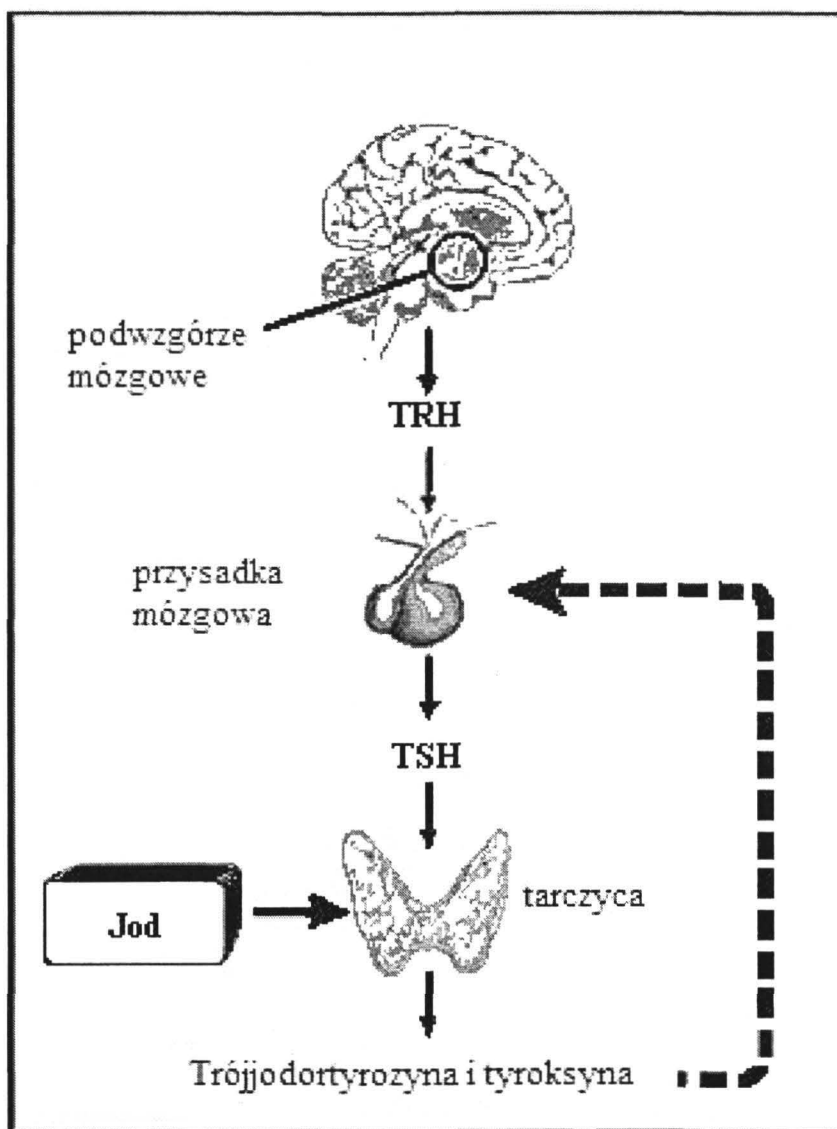
## 7. OZNACZENIE TIOCYJANIANÓW W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

### 7.1. Właściwości fizykochemiczne tiocyjanianów

Integralnym składnikiem żywności są substancje antyodżywcze, mogą one być pochodzenia zarówno naturalnego, jak i obcego. Substancje te powodują zmniejszanie przyswajalności podstawowych, niezbędnych do życia składników żywności. Mechanizm ich działania jest różny i dlatego też wykazują one działanie w stosunku do różnych grup składników odżywczych, tj.: białek, witamin, składników mineralnych, węglowodanów. Do naturalnie występujących w żywności substancji antyodżywczych należą: substancje wolotwórcze – goitrogeny. Związki te mogą między innymi zaburzać metabolizm jodu w organizmie ludzkim, prowadząc do obniżenia jego stężenia w gruczole tarczycowym, następnie spadku syntezy hormonów i w konsekwencji do przerostu tarczycy. Prawidłowe dzienne spożycie jodu dorosłego człowieka wynosi 100-200 µg. Normy żywienia na poziomie bezpiecznym zapewniają spożycie pierwiastka w takich ilościach, które chronią przed wystąpieniem niedoborów u 97,5% określonej grupy populacyjnej. Większy margines bezpieczeństwa zapewniają dawki na poziomie zalecanym. Poniżej, na rysunku przedstawiono schemat metabolizmu hormonów tarczycy.

Jod jest wchłaniany przede wszystkim z jelita cienkiego. Około 2/3 jodu jest wydalane przez nerki, a tylko 1/3 jest wychwytywana przez tarczycę. Z ogólnej puli około 50 mg w organizmie około 10-15 mg jodu znajduje się właśnie w tarczycy. Wychwytywanie jodu jest kontrolowane przez przysadkowy hormon: tyreotropinę (TSH) i wymaga energii, odbywa się wbrew gradientowi stężenia, wymaga również czynnej pompy sodowej.

Pobudzenie hormonu stymulującego tarczycę (TSH) następuje poprzez podwzgórzowy neurohormon TRH. W tarczycy jod ulega utlenieniu i zostaje związany z tyroziną, proces przebiega pod kontrolą peroksydazy tarczycowej, wymagającej nadtlenu wodoru jako źródła tlenu. Receptory reszt tyrozyny znajdują się w glikoproteinach - tyreoglobulinach. Jodowanie tyrozyny w tyreoglobulinie prowadzi początkowo do powstania monoiodotyrozyny (MIT) i diiodotyrozyny (DIT), te z kolei mogą ulegać kondensacji do triiodotyroniny (T<sub>3</sub>) lub tetraiodotyroniny (T<sub>4</sub>). Czynność tarczycy jest związana z wytwarzaniem i wydzielaniem do krwi hormonów: tyroksyny, trójiodotyroniny. Tyroksyna stanowi główny produkt wydzielniczy gruczołu, trójiodotyronina jest również wytwarzana przez tarczycę, ale w większości od 60% do 80% powstaje w wyniku dejodynacji T<sub>4</sub> już poza tarczycą.



TRH - neurohormon podwzgórzowy  
 TSH – tyreotropina  
 Strzałka – ujemne sprzężenie zwrotne

### *Metabolizm hormonów tarczycy*

Hormony tarczycy są niezbędne do prawidłowego rozwoju płodu, odgrywają decydującą rolę w zapewnieniu normalnego rozwoju mózgu. Niedobór hormonów tarczycy w okresie rozwoju dziecięcego oraz dojrzewania prowadzi do kretynizmu (matolectwa), charakteryzującego się nieodwracalnym umysłowym opóźnieniem. Hormony tarczycy regulują przemianę kreatyny w mięśniach szkieletowych oraz procesy skurczu mięśni, odpowiadają za utrzymanie właściwej struktury i czynności układu kostnego. Regulują podstawową przemianę materii, zwiększają produkcję ciepła oraz zużycie tlenu. Uczestniczą w utrzymaniu homeostazy w gospodarce wapniowej i wodno-elektrolitowej, wpływają na gospodarkę węglanową przyspieszając jelitowe wchłanianie cukrów, zwiększają syntezę glikogenu i utlenianie

heksoz. Katabolicznie działają na przemianę lipidową poprzez aktywację lipazy w tkance tłuszczowej. W tabeli poniżej przedstawiono zalecane dzienne normy zapotrzebowania na jod.

*Zalecane dzienne normy zapotrzebowania na jod*

Grupa ludności	Wiek [lata]	Jod [µg/osoba]	
Niemowlęta i dzieci	0-0,5	40	
	0,5-1,0	50	
	1-3	70	
	4-6	90	
	7-9	120	
		Poziom bezpieczny	Norma zalecana
Dziewczęta	10-15	130	150
	16-18	140	160
Kobiety	Powyżej 19	140	160
	Ciężarne	165	180
	Karmiące	185	200
Chłopcy	10-15	130	150
	16-18	140	160
Mężczyźni	Powyżej 19	140	160

Produkty spożywcze zawierające duże ilości substancji wolotwórczych powodują w pierwszej kolejności spadek aktywności sekrecyjnej tarczycy, w konsekwencji następuje obniżenie poziomu trójiodotyroniny i czteroiodotyroniny we krwi, dwóch aktywnych form hormonów z czterech wytwarzanych. W drugim etapie zmniejszony poziom hormonów powoduje wzrost aktywności tyreotropowej, przez zwiększenie sekrecji tyreotropiny z przysadki mózgowej, a to powoduje przerost masy tarczycy uwidaczniający się w postaci wola. Sposób działania substancji wolotwórczych nie jest jednak jednakowy. Na podstawie ogólnego modelu działania czynniki wolotwórcze można podzielić na dwie kategorie. Do pierwszej z nich należą czynniki, które konkurując z jodem powodują obniżenie jego stężenia w tarczycy. Największe powinowactwo do tego systemu przenoszenia wykazują nadtechneniany i następnie jony:  $\text{ClO}_4^- > \text{ReO}_4^- > \text{SCN}^- > \text{I}^-$ . Drugą kategorię stanowią czynniki, które inhibują wiązanie jodu w tarczycy, w reakcji łączenia z tyrozyną. Wśród znanych i przypuszczalnych goitrogenów są również czynniki o nieznanym jeszcze mechanizmie działania. Zasadnicza różnica pomiędzy tymi dwiema kategoriami czynników wolotwórczych jest odwracalność bądź nieodwracalność ich działania. Efekt działania czynników z pierwszej kategorii jest

odwracalny po podaniu zwiększonych dawek jodu, podczas gdy stężenie jodu praktycznie nie ma wpływu na działanie czynników z drugiej kategorii. Niezależnie od mechanizmu działania wszystkie goitrogeny powodują spadek poziomu hormonów tarczycy we krwi, a w konsekwencji zwiększenie sekrecji TSH prowadzącej do powstawania wola.

Obecność goitrogenów w pożywieniu może zatem oznaczać, że pomimo spożycia jodu na poziomie odpowiadającym zapotrzebowaniu organizmu ludzkiego na ten pierwiastek funkcjonowanie tarczycy i związanego z nią układu hormonalnego może być zaburzone. Większość goitrogenów nie powoduje klinicznych komplikacji, pojawiają się one dopiero wówczas, gdy przyjmowane są w dużych ilościach, bądź też wówczas, gdy jednocześnie występują niedobory jodu. W tabeli poniżej przedstawiono główne grupy związków chemicznych.

*Główne grupy związków chemicznych: Goitrogeny i potencjalne goitrogeny występujące w środowisku naturalnym i pochodne medykamentów*

Lp.	Typ związku	Przykłady	Źródło pochodzenia
1	Związki nieorganiczne	J, Lit, $\text{ClO}_4^-$ , $\text{TcO}_4^-$ , $\text{BF}_4^-$ , $\text{SCN}^-$ ,	Warzywa z rodziny krzyżowych, oksyny środowiskowe, dym papierosowy
2	Tioamidy (amidy zawierające atom siarki zamiast tlenu w grupie amidowej)	Tiomocznik, tioacetamid	Medykamenty stosowane w terapii nadczynności tarczycy, nieliczne rośliny z rodziny krzyżowych
3	Pochodne aniliny	Sulfonamidy, sulfaguanidyna, sulfametoksyzole	Leki stosowane w leczeniu cukrzycy, leki przeciwbakteryjne
4	Pochodne fenolu i polihydroksyfenole		Zanieczyszczenia łupków ilastych, produkty rozkładu substancji humusowych, ścieki z przeróbki węgla
5	Flawonoidy		Proso
6	Induktory enzymów metabolizujących leki działające na wątrobę	Pestycydy, toksyny środowiskowe, (DDD, DDT, polichlorowane bifenole)	Środki ochrony roślin

Działanie wolotwórcze wykazuje lub przypuszczalnie wykazuje wiele substancji chemicznych, różniących się zarówno budową chemiczną, własnościami, jak i pochodzeniem. Wśród najważniejszych, których działanie jest najlepiej udokumentowane, należy wymienić: tiocyjaniany, tioglikozydy, glikozydy cyjanogenne, polifenole.

## 7.2. Występowanie tiocyjanianów w środowisku i ich toksyczność

Źródłem tiocyjanianów ( $\text{SCN}^-$ ) są naturalnie występujące goitrogeny. Migdały, kapusta, musztarda, maniok i mleko krowie są potencjalnymi źródłami tych związków, a także środowiskowe toksyny i dym tytoniowy. Jony te mają stosunkowo długi czas biologicznego półtrwania: 10-14 dni, sprawia to, że ich stężenie w płynach ustrojowych ulega znacznym fluktuacjom i trudna jest ocena realnego stężenia w organizmach ludzkich, a zatem i określenie stosunku  $\text{SCN}^-/\text{J}^-$ . Negatywne działanie tiocyjanianów jest wielokierunkowe, przede wszystkim wynika z kompetycyjnej inhibicji transportu  $\text{J}^-$ . Tiocyjaniany z łatwością przenikają przez wszystkie błony komórkowe i konkurując z jonami jodkowymi, powodują hamowanie ich transportu do tkanek, w tym również do tarczycy, w przeciwieństwie jednak do  $\text{J}^-$  nie są magazynowane w tarczycy. Inaktywują peroksydazę tarczycową odpowiedzialną za konwersję jodu nieorganicznego do postaci organicznej i sprzężanie jodotyrozyn. Ponadto tiocyjaniki przyspieszają wydalanie jodu przez nerki. W rezultacie dochodzi do spadku stężenia jodu w tarczycy, nagromadzenia się monojodotyroniny, dwujodotyroniny i przerost masy gruczołu tarczycowego. Kliniczne objawy występują dopiero przy znacznym wzroście spożycia tiocyjanianów. Ponadto wystąpienie objawów klinicznych należy rozpatrywać łącznie z zawartością jodu w pożywieniu; jeżeli jest ona w normie – tiocyjaniany nie stanowią niebezpieczeństwa dla osobników dorosłych ani dla dzieci.

Tiocyjanianki (rodanki) są związkami trującymi, jednak są mniej szkodliwe niż cyjanki. Te sole kwasu tiocyjanowego (rodanowodorowego), to substancje krystaliczne zawierające jon  $\text{SCN}^-$ . Rodanki znajdują zastosowanie w analizie chemicznej, fotografii, produkcji barwników w przemyśle włókienniczym.

Najważniejsze z nich to:

Rodanek amonu ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ) jest otrzymywany przez ogrzewanie mieszaniny amoniaku i dwusiarczku węgla. Występuje w postaci bezbarwnych kryształów rozplwających się pod wpływem wilgoci z powietrza, dobrze rozpuszczalnych w wodzie, czerwieniejących na powietrzu oraz pod wpływem światła, które rozkładają się pod wpływem ciepła. Używany jest w pokryciach elektrolitycznych, w fotografice, do farbowania i drukowania tkanin, do produkcji mieszanin

oziebiających, cyjanków i żelazocyjanków (II), tiomocznika, guanidyny, tworzyw sztucznych, spoiw oraz środków chwastobójczych.

Rodanek sodu ( $\text{NaSCN}$ ) jest otrzymywany przez ogrzewanie mieszaniny cyjanku sodu i siarki. Wygląda tak samo jak rodanek amonu lub występuje w postaci proszku, jest silnie trujący, znajduje zastosowanie głównie w fotografice, farbowaniu i drukowaniu tkanin, w medycynie, jako odczynnik laboratoryjny, jako pokrycia elektrolityczne, w otrzymywaniu sztucznego olejku gorczycznego oraz w przemyśle gumowym.

Rodanek potasu ( $\text{KSCN}$ ) jest otrzymywany w podobny sposób co rodanek sodu, wykazuje także podobne do niego właściwości. Wykorzystywany jest w przemyśle włókienniczym, w fotografice, w syntezie organicznej (tiomocznika, sztucznego olejku gorczycznego, barwników), do produkcji rodanków, mieszanin oziebiających oraz środków przeciwko pasożytom.

Rodanek wapnia ( $\text{Ca}(\text{SCN})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) jest otrzymywany w wyniku reakcji tlenku wapnia z rodankiem amonu, występuje w postaci bezbarwnych kryształów, rozpylających się pod wpływem wilgoci z powietrza i rozpuszczalnych w wodzie. Używany jest jako zaprawa w farbiarstwie i w drukowaniu tkanin, jako rozpuszczalnik celulozy, służy do uszlachetniania bawełny, używany jest również do produkcji innych rodanków, żelazocyjanków (II) i pergaminu.

Rodanek miedziawy ( $\text{CuSCN}$ ) występuje w postaci proszku albo pasty o barwie białawej, szarawej bądź żółtawej, jest nierozpuszczalny w wodzie, używany jest jako zaprawa do drukowania tkanin, do produkcji farb mających kontakt z wodą morską oraz w syntezie organicznej.

Rodanek miedziowy ( $\text{Cu}(\text{SCN})_2$ ) występuje w postaci czarnego proszku nierozpuszczalnego w wodzie, łatwo przechodzi w rodanek miedziawy i jest używany do produkcji spłonek odpalających i zapalek.

Rodanek rtęci ( $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ ) jest otrzymywany z rodanków alkalicznych i chlorku rtęci, występuje w postaci krystalicznego białego proszku, jest słabo rozpuszczalny w wodzie, jest trucizną, stosowany jest w fotografice do wzmacniania negatywów.

## **7.3. Spektrofotometryczne oznaczenie zawartości tiocyjanianów w wybranych warzywach**

### **7.3.1. Cel i zasada metody**

Celem ćwiczenia jest oznaczenie zawartości tiocyjanianów w wybranych warzywach oraz analiza wpływu gotowania na zawartość tych związków w żywności. Oznaczenie absorbancji kompleksu żelaza(III) z tiocyjanianami, po ich uprzedniej ekstrakcji z próbki roślinnej, zachodzi za pomocą kwasu trójchlorooctowego.

### 7.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany

#### Odczynniki

- a) Kwas trójchlorooctowy (TCA) (5% roztwór),
- b) 2-molowy roztwór kwasu azotowego,
- c) 0,47 molowy roztwór azotanu żelaza (III) (przygotowanie: 8 g  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  rozpuścić w 25 cm<sup>3</sup> 2-molowego roztworu kwasu azotowego i uzupełnić do 50 cm<sup>3</sup>),
- d) Rodanek potasowy (16,7 mg rodanku potasowego w 100 cm<sup>3</sup> 5% roztworu TCA).

#### Aparatura

- a) sprzęt do rozdrabniania materiału roślinnego (deska, nóż, tarka),
- b) waga analityczna,
- c) 2 zlewki 200 cm<sup>3</sup>,
- d) płyta grzejna,
- e) homogenizer,
- f) cylindry miarowe (50 cm<sup>3</sup>),
- g) kolby miarowe (500 cm<sup>3</sup>, 10 cm<sup>3</sup>),
- h) 2 kolbki stożkowe ze szlifem (100 cm<sup>3</sup>),
- i) wytrząsarka,
- j) wirówka (3000 obr./min), probówki wirówkowe,
- k) twarde sączki,
- l) pipety (2 cm<sup>3</sup>),
- m) Spektrofotometr typu SPEKOL o zakresie obejmującym długość fali 463 nm,
- n) 2 kuwety o grubości warstwy 1 cm.

#### Materiał badany

Warzywa: kapusta zwykła, kapusta włoska, kapusta pekińska, kapusta brukselska, rzepa, rzeżucha, kalafior, biała rzodkiew, cebula, por, seler, pomidor, sałata.

### 7.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia

Przygotowanie próbki. Badany materiał rozdrobnić, tak aby uzyskać jednorodny materiał badawczy, następnie przygotować dwie jednorodne próbki o masie około 5 g każda. Próbki umieścić w zlewkach (o pojemności 200 cm<sup>3</sup>) i dodać po 50 cm<sup>3</sup> wody. Jedną z próbek ogrzewać, aż do wrzenia, i utrzymywać w tym stanie przez 10 min. Druga próbka pozostanie niegotowana, w celu porównania otrzymanych wyników do siebie.

Następnie obie próbki dokładnie zhomogenizować, dodać 45 cm<sup>3</sup> 5% roztworu kwasu trójchlorooctowego (TCA) i przenieść ilościowo do kolbek stożkowych.



Próbki wytrząsać przez 10 minut, po tym czasie odwirować (3000 obr./min., 10 min.) i przesączyć przez twardy sączek.

Z każdego przesączu pobrać po 2 cm<sup>3</sup> do pięciu probówek i dodać po 2 cm<sup>3</sup> roztworu azotanu żelaza (III) (od tej chwili przechowywać bez dostępu światła). Ponadto przygotować trzy próby ślepe i próbę odczynnikową, dodając odpowiednio 2 cm<sup>3</sup> wody do 2 cm<sup>3</sup> przesączu oraz do 2 cm<sup>3</sup> roztworu azotanu żelaza (III) do 2 cm<sup>3</sup> 5% roztworu (TCA).

Zmierzyć absorbancję próby odczynnikowej, ślepej i prób właściwych przy długości fali 463 nm w czasie nie dłuższym niż 5 min od dodania roztworu azotanu żelaza(III).

Zawartość tiocyjanków w analizowanym materiale roślinnym wyznaczyć na podstawie krzywej wzorcowej, pamiętając o uwzględnieniu próby ślepej i odczynnikowej. Wyniki wyrazić w przeliczeniu na 100 g analizowanego produktu.

Przygotować roztwory tiocyjanków zawierające od 0 do 10 µg jonów SCN<sup>-</sup>. W tym celu przygotować roztwór podstawowy poprzez rozpuszczenie 16,7 mg rodanku potasowego w 100 cm<sup>3</sup> 5% roztworu TCA i następnie na jego bazie przygotować roztwór wzorcowy zawierający 10 µg SCN<sup>-</sup> w 1 cm<sup>3</sup>.

Roztwór wzorcowy uzyskuje się przez 10-krotne rozcieńczenie roztworu podstawowego, przygotować 50 cm<sup>3</sup> tego roztworu. Pobierać od 2,5 cm<sup>3</sup> do 0 cm<sup>3</sup> roztworu wzorcowego do kolejnych kolbek i następnie uzupełnić do 5 cm<sup>3</sup> roztworem TCA (wszystkie rozcieńczenia wykonać przy pomocy 5% roztworu TCA). Poniżej przedstawiono schemat sporządzania roztworów wzorcowych.

*Schemat przygotowania krzywej wzorcowej*

Zawartość SCN <sup>-</sup> [µg/cm <sup>3</sup> ]	roztwór wzorcowy [cm <sup>3</sup> ]	5% roztworu TCA [cm <sup>3</sup> ]	roztwór azotanu żelaza III [cm <sup>3</sup> ]
0	0	2,5	2,5
1	0,5	2	2,5
2	1	1,5	2,5
3	1,5	1	2,5
4	2	0,5	2,5
5	2,5	0	2,5

#### 7.3.4. Opracowanie wyników

Uzyskane wyniki wyrazić w przeliczeniu na 100 g produktu i odnieść do średnich zawartości tiocyjanianów w wybranych warzywach, przedstawionych w tabeli poniżej. Sporządzić wnioski wynikające z analizy danych zawartych w tabeli. Porównać wynik pochodzący z próbki gotowanej i niegotowanej.

## *Zawartość tiocyjanianów w niektórych warzywach*

Produkt żywnościowy	Zawartość SCN <sup>-</sup> [mg/100g]	
Kapusta głowiasta	3-6	
część niecukrowa	Tiocyjaniany	<i>50 mg/kg</i>
	Izotiocyjaniany	<i>100 mg/kg</i>
	Tiooksazolidyny	<i>10 mg/kg</i>
Jarmuż	3-25	
Kapusta włoska	18-31	
Brukselka	10	
Kalafior	4-10	
Kalarepa	2-3	
Żółta rzepa	9	
Rzepa	2,5	
Salata, szpinak, cebula, seler, rzodkiewka, pomidory	poniżej 1	

## Literatura

1. Brzozowska A. (pod red.), Toksykologia żywności, Przewodnik do ćwiczeń, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 1996.
2. Erdorgan M.F., Thiocyanate overload and thyroid disease, *Biofactors*, 19, 107-111, 2003.
3. Erdorgan M.F., Erdorgan G., Sav H. i inni, Endemic goiter thiocyanate overload and selenium status in school-age children, *Biol. Trace Element Research*, 79, 121-130, 2001.
4. Kaczorowska Cz., Produkcja roślinna, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1980.
5. Nikonorow M., Urbanek-Karłowska B., Toksykologia żywności, Wydawnictwo PZWL, Warszawa 1987.
6. Pilsworth R., Dietary goitrogens, *The Lancet*, 4, 552, 1982.
7. Salabè G.B., Pathogenesis of thyroid nodules: histological classification, *Biomed Pharmacother*, 55, 39-53, 2001.
8. Ziemiański Ś., Bułhak-Jachymczyk B., Budzyńska-Topolowska J. i inni, Normy żywieniowe dla ludności w Polsce, *Nowa Medycyna*, 4, 1-27, 1998.
9. [www.thyroid.about.com](http://www.thyroid.about.com)

## **8. OZNACZANIE WYBRANYCH BARWNIKÓW SYNTETYCZNYCH W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH**

### **8.1. Właściwości fizykochemiczne barwników**

Barwniki to substancje dodatkowe pozwalające nadać lub przywrócić barwę w środkach spożywczych. Barwa odgrywa bardzo istotną rolę jako jeden z najważniejszych wyróżników konsumenckiej oceny jakości żywności. Zachęca ona lub zniechęca do spożycia, sugeruje odczucie określonych smaków i zapachów, ostrzega przed spożyciem produktu zepsutego. Wzrokowy wygląd żywności to pierwszy etap oceny jakości produktu.

Barwienie żywności stosowano już kilka tysięcy lat temu. Początkowo żywność barwiono w celach rytualnych. Później, szczególnie w XV do XVII wieku, celem barwienia było upiększanie stołu.

W dzisiejszych czasach barwienie żywności ma na celu:

- a) odtworzenie pierwotnej barwy środków spożywczych utraconej w wyniku ich przetwarzania,
- b) nadanie barwy środkom spożywczym zazwyczaj bezbarwnym (uatrakcyjnienie żywności),
- c) wzmocnienie istniejącej barwy,
- d) podkreślenie aromatu (smaku) środka spożywczego związanego z konkretną barwą i uczynieniem go łatwiejszym do rozpoznania.

Użycie barwników do żywności nie może wprowadzić konsumenta w błąd, co do jakości zdrowotnej środka spożywczego. Nie można stosować ich w celu: ukrycia wad żywności spowodowanych np. złą jakością, nieprawidłowym procesem produkcyjnym, niehigienicznymi warunkami produkcyjnymi; upodobnieniem do produktów innych, tzn. lepszych lub bardziej wartościowych.

Do barwienia żywności stosuje się:

- a) barwiące części roślin jadalnych,
- b) barwniki organiczne naturalne,
- c) barwniki organiczne syntetyczne,
- d) barwniki nieorganiczne.

### **8.2. Występowanie barwników w środowisku i ich toksyczność**

Ze względu na szereg badań toksykologicznych barwników, zwłaszcza syntetycznych oraz tych niezbadanych, od dłuższego czasu istnieje tendencja do ograniczania używania barwników w żywności.

Barwniki naturalne są najbardziej bezpiecznymi barwnikami. O braku ich toksycznego działania świadczy wielowiekowe zastosowanie tych barwników.

Działanie szkodliwe barwników syntetycznych może wynikać z ich natury, tworzenia metabolitów lub produktów pośrednich i nieprzereagowanych, a także katalizatorów. U zwierząt używanych w laboratoriach do testowania żywności, pod wpływem działania większych dawek barwników syntetycznych zaobserwowano: powiększenie nerek, uszkodzenie mięśni, przebarwienia skóry, osłabienie wzrostu, niedokrwistość oraz uczulenia.

W trakcie syntezy barwników stosuje się katalizatory, sole i tlenki ołowiu, miedzi, selenu i chromu. Ich obecność może wpływać na szkodliwość barwników. W związku z tym, ustala się maksymalne dopuszczalne ilości zanieczyszczeń barwników syntetycznych.

Barwniki syntetyczne mogą również ulegać przemianom pod wpływem czynników fizycznych i interakcji ze składnikami produktów spożywczych. Tego typu reakcje mogą wpływać na toksyczne działanie barwników, prowadząc do uczuleń skórnych u ludzi, szczególnie pod wpływem światła słonecznego.

Aby zapobiec toksycznemu działaniu barwników, ustala się nowe koncepcje ich otrzymywania. Jedną z nich jest zastosowanie barwników o tak dużej masie cząsteczkowej, która uniemożliwiłaby przenikanie barwnika przez ścianę przewodu pokarmowego, a tym samym powodowała pełną jego nieszkodliwość.

W Polsce dodawanie barwników do żywności jest sankcjonowane Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 roku w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu (Dz.U. nr 94, poz. 933 oraz załącznik). Zgodnie z tym dokumentem, substancji dodatkowych, w tym barwników, nie stosuje się do:

- 1) żywności nieprzetworzonej,
- 2) wszelkich wód opakowanych,
- 3) mleka, mleka półtłustego i odtłuszczonego, pasteryzowanego lub sterylizowanego (włączając sterylizację UHT), bez dodatków smakowych i aromatów,
- 4) mleka czekoladowego,
- 5) mleka fermentowanego bez dodatków smakowych i aromatów,
- 6) mleka zagęszczonego i mleka w proszku,
- 7) maślanki bez dodatków smakowych i aromatów,
- 8) śmietany i śmietanki oraz śmietanki w proszku bez dodatków smakowych i aromatów,
- 9) olejów i tłuszczów zwierzęcych lub roślinnych,

- 10) jaj i przetworów z jaj (jaj w proszku, mrożonej masy jajowej itp.),
- 11) mąki i innych produktów przemiału zbóż oraz skrobi,
- 12) chleba i produktów podobnych,
- 13) makaronów i "gnocchi",
- 14) cukrów, włączając wszystkie mono- i dicukry,
- 15) przecierów, past i koncentratów pomidorowych, pomidorów w konserwach,
- 16) sosów na bazie pomidorów,
- 17) soków owocowych i nektarów owocowych oraz soków warzywnych,
- 18) owoców, warzyw (włączając ziemniaki) oraz grzybów w konserwach i suszonych, owoców i warzyw (włączając ziemniaki) oraz grzybów przetworzonych,
- 19) dżemów ekstra, galaretek ekstra, przecieru z kasztanów jadalnych, Creme de pruneaux,
- 20) ryb, mięczaków i skorupiaków, mięsa, drobiu i dziczyzny oraz ich przetworów, z wyjątkiem gotowych posiłków zawierających te składniki,
- 21) wyrobów z kakao, mas i kuwertur czekoladowych, składników czekoladowych w wyrobach czekoladowych, polew kakaowych, mas czekoladopodobnych,
- 22) kawy palonej, herbaty, cykorii, ekstraktów herbaty i cykorii, herbatek owocowych i ziołowych; herbacianych, roślinnych, owocowych i zbożowych preparatów do sporządzania naparów oraz mieszanek i mieszanek instant wszystkich wyszczególnionych produktów,
- 23) soli, zamienników soli, przypraw naturalnych (ziołowych i korzennych) i mieszanek tych przypraw,
- 24) wyrobów winiarskich gronowych, zgodnie z art. 3 pkt 3 ustawy z dnia 25 lipca 2001 r. o wyrobie i rozlewie wyrobów winiarskich oraz obrocie tymi wyrobami,
- 25) octu winnego,
- 26) żywności przeznaczonej dla niemowląt i małych dzieci,
- 27) miodu pszczelego,
- 28) słodu i przetworów słodowych,
- 29) dojrzewających i niedojrzewających serów bez dodatków smakowych,
- 30) wyrobów z tłuszczu z mleka owczego i koziego,
- 31) wódki ziołowej aromatyzowanej ekstraktem trawy żubrowej.

W tabeli poniżej podano wykaz barwników do barwienia artykułów spożywczych w Polsce i ich numery oraz ADI (Acceptable Daily Intake) – „dopuszczalne dzienne spożycie” wymienionych barwników.

Wykaz barwników

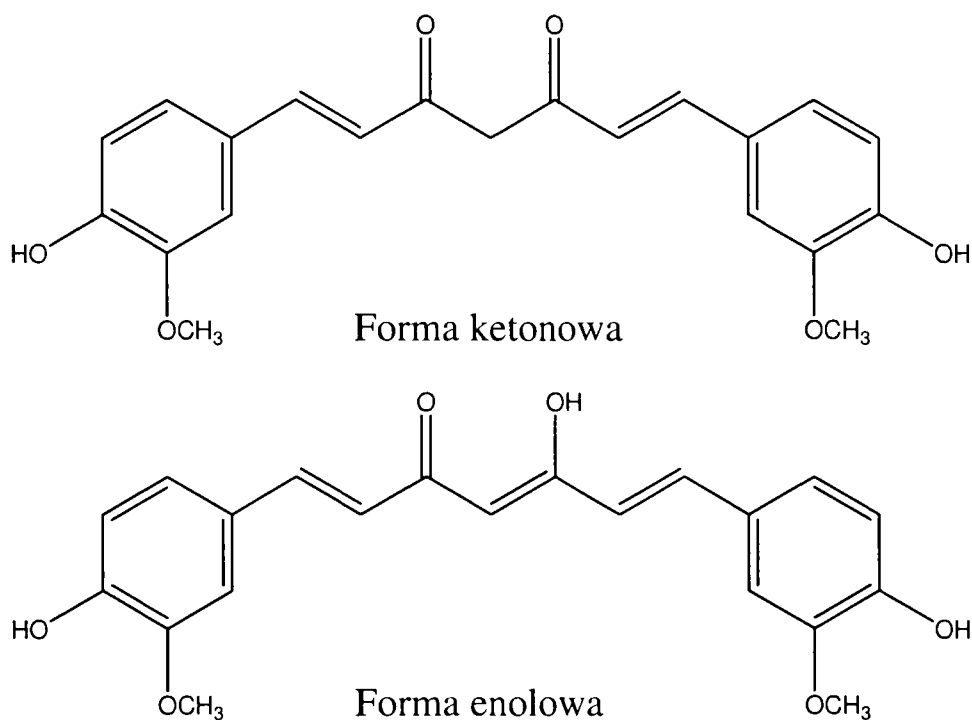
Lp.	Nazwa	Kolor	Nr	ADI [mg/kg masy ciała]
<b>Barwniki organiczne naturalne</b>				
1	Kurkumina	żółty	E 100	0-3
2	Koszenila	czerwony	E 120	0-5
3	Chlorofile i chlorofiny	zielony	E 140	bez ograniczeń
4	Karmel	brązowy	E 150a	bez ograniczeń
5	Węgiel roślinny	czarny	E 153	nie ustalono
6	Karoteny	pomarańczowożółty	E 160a	0-5
7	Annato	pomarańczowożółty	E 160b	0-0,65
8	Ekstrakty z papryki: kapsantyna, kapsorubina	czerwony- różowożółty	E 160c	nie ustalono
9	Ekstrakt z pomidorów (likopen)	czerwony	E 160d	nie ustalono
10	Luteina	żółty	E 161b	nie ustalono
11	Kantaksantyna	pomarańczowy	E 161g	do 0,03
12	Betanina, czerwień buraczana	czerwony	E 162	bez ograniczeń
13	Antocyjany	czerwonopurpurowy	E 163	0-2,5
<b>Barwniki identyczne z naturalnymi</b>				
1	Ryboflawina i ryboflawiny-5'-fosforan	żółty	E 101	0-0,5
2	Karmel siarczynowy	brązowy	E 150b	nie ustalono
3	Karmel amoniakalny	brązowy	E 150c	0-200
4	Karmel amoniakalno- siarczynowy	brązowy	E 150d	0-200
5	Beta-apo-8'karotenal	pomarańczowożółty	E 160e	0-56
6	Ester etylowy kwasu beta- apo-8'-karotenowego	pomarańczowożółty	E 160f	0-5
<b>Barwniki organiczne syntetyczne</b>				
1	Tartrazyna	żółty	E 102	0-7,5
2	Żółcień chinolinowa	zielonożółta	E 104	0-10
3	Żółcień pomarańczowa	żółty	E 110	0-2,5
4	Azorubina	czerwony	E 122	0-4
5	Amarant	czerwony	E 123	0-0,5

6	Czerwień koszenilowa (paś 4R)	czerwony	E 124	0-4
7	Erytrozyna	czerwony	E 127	0-0,1
8	Czerwień 2G	czerwony	E 128	0-0,1
9	Czerwień Allura AC	czerwony	E 129	nie ustalono
10	Błękit patentowy	niebieski	E 131	0-2,5
11	Indygotyna	niebieski	E 132	0-5
12	Błękit brylantowy FCF	niebieski	E 133	0-12,5
13	Zieleń S	zielony	E 142	0-25
14	Czerń brylantowa BN (czerń PN)	czarny	E 151	0-1
15	Braz FK	brazowy	E 154	nie ustalono
16	Braz HT	brazowy	E 155	0-1,5
17	Czerwień litolowa BK	czerwony	E 180	nie ustalono
<b>Barwniki nieorganiczne</b>				
1	Węglany wapnia	biały	E 170	bez ograniczeń
2	Dwutlenek tytanu	biały	E 171	bez ograniczeń
3	Tlenki wodorotlenki żelaza	czerwonobrazowy	E 172	0-0,5
4	Aluminium	metaliczny	E 173	7 <sup>3</sup>
5	Srebro	metaliczny	E 174	nie ustalono
6	Złoto	metaliczny	E 175	nie ustalono

**Kurkumina** – polifenol złożony z 2 połączonych cząsteczek kwasu jerulowego, określanych chemicznie jako diferuilometan. Kurkumina nie rozpuszcza się w wodzie, natomiast rozpuszcza się w olejach i alkoholu. Jest trwała i nadaje produktom jasną, pomarańczowo-żółtą barwę. Kurkumina pozyskiwana jest z kłączy tropikalnej byliny – kurkumy. W kuchni azjatyckiej kurkuma jest stosowana przede wszystkim jako przyprawa, zaś w krajach zachodnich jako barwnik. Kurkuma jest także stosowana jako tradycyjne lekarstwo w Indiach i innych krajach Azji, choć w żywności i suplementach żywieniowych nie ma takiego przeznaczenia.

Kurkumina jest nietrwała w środowisku zasadowym, przy pH powyżej 7,5, choć takie warunki w przypadku żywności są rzadko spotykane. Kurkumina jest wrażliwa na światło, ale odporna na ogrzewanie w zakresie temperatur stosowanych w przetwórstwie żywności. Wrażliwość na światło wzrasta po dodaniu jonów glinu, które tworzą kompleksy z kurkuminą i powstrzymują jej rozkład pod działaniem światła.

Od niedawna dostępne są na rynku rozpuszczalne w wodzie sole kurkuminy. Zwiększa to gamę produktów, w których można zastosować kurkuminę.



*Kurkumina, C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>*

Kurkumina jest szeroko stosowana w produkcji żywności i przemyśle kosmetycznym. Wśród produktów barwionych tymi substancjami wymienić można napoje w puszkach, produkty piekarskie, mleczarskie, lody, jogurty, herbatniki, barwiona prażona kukurydza, słodycze, polewy, produkty zbożowe, sosy, itp.

Kurkumina posiada właściwości przeciwutleniające i w tym celu jest dodawana do olejów i tłuszczów. Poza tym, zabezpiecza przed jęłczeniem produkty piekarskie, jak na przykład ciastka. Oprócz żółtej barwy ma silny zapach.

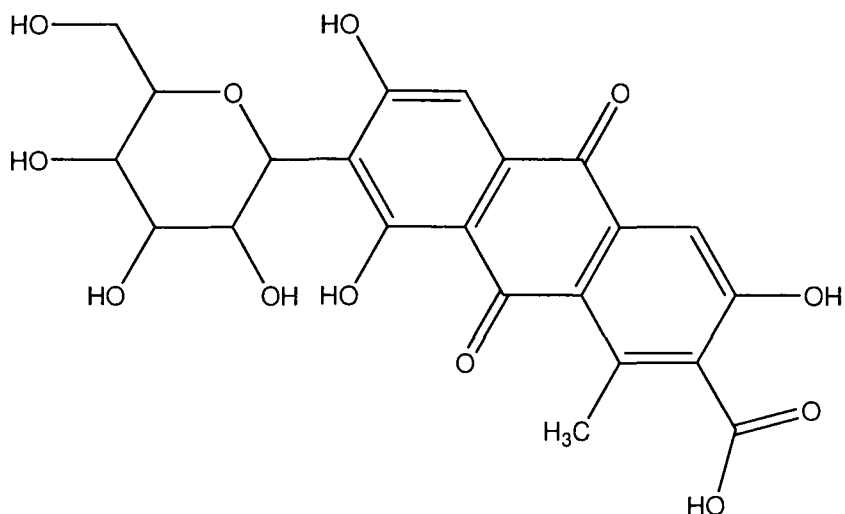
Koszenila – należy do nielicznych naturalnych barwników o *barwie czerwonej* rozpuszczalnych w wodzie, które nie ulegają degradacji z upływem czasu. Barwnik ten jest otrzymywany z mszycy o nazwie koszenila (1 kg tego barwnika uzyskuje się z 120 tys. samic). Jest najbardziej odporna na działanie światła, podwyższonej temperatury i utlenianie spośród wszystkich naturalnych barwników, a nawet bardziej trwała niż niektóre barwniki syntetyczne.

Koszenila nie jest toksyczna, ani kancerogenna. Jednakże, obecność zanieczyszczeń w preparacie barwnika, nie zaś sam kwas karminowy, może wywołać u nielicznej grupy osób wstrząs anafilaktyczny.

Poza wykorzystaniem do barwienia tkanin, koszenilę zaczęto szeroko stosować jako barwnik do żywności. Koszenilą barwiono ciasta, herbatniki, napoje, dżemy, galaretki, kiełbasy, pasztety, suszone ryby, jogurt, wiśnie koktajlowe,

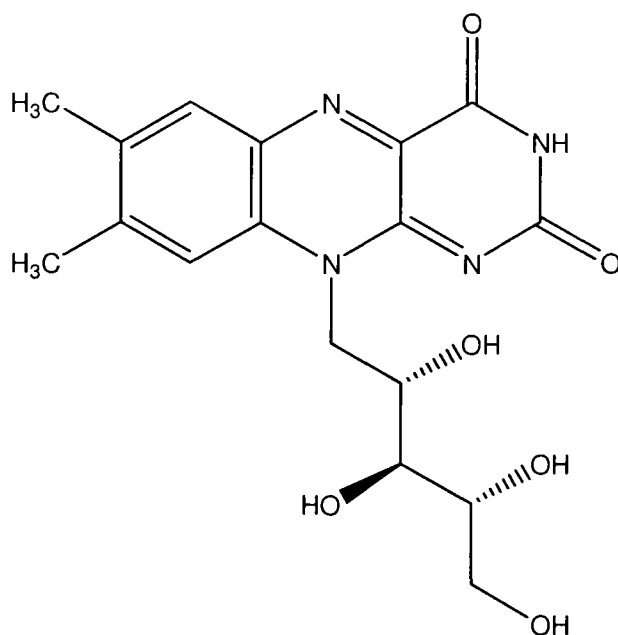


przetwory z pomidorów, gumę do żucia, pastylki i krople przeciwkaszlowe. Na bazie koszenili jako głównego składnika, opracowano także róż kosmetyczny. Koszenila jest wciąż szeroko stosowana w przemyśle kosmetycznym.



*Koszenila,  $C_{22}H_{20}O_{13}$*

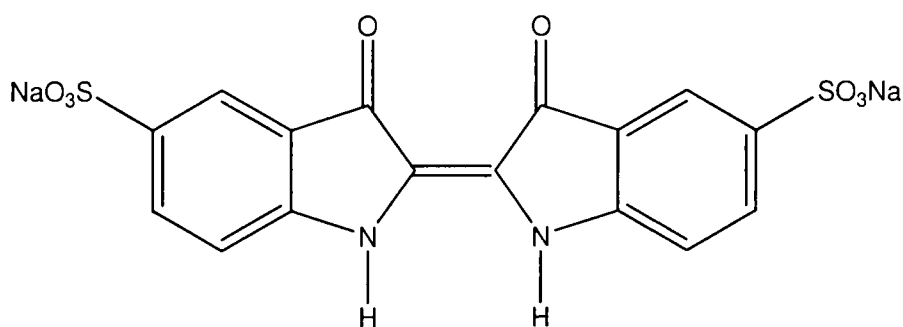
Zapotrzebowanie na koszenilę gwałtownie spadło, gdy na rynku pojawiła się czerwień alizarynowa i wiele innych barwników syntetycznych (do żywności i tekstyliów), wynalezionych w Europie w połowie XIX wieku. Handel koszenilą prawie całkowicie ustał w wieku XX, choć w ostatnich latach koszenila stała się ponownie wartościowym towarem, gdyż wielu producentów (i konsumentów) woli stosować naturalne barwniki zamiast syntetycznych. Jednakże, większość konsumentów nie jest świadoma, że koszenila pochodzi z owadów. Jest przez to nieodpowiednia dla wegetarian i zakazana przez niektóre religie.



*Ryboflawina,  $C_{17}H_{20}N_4O_6$*

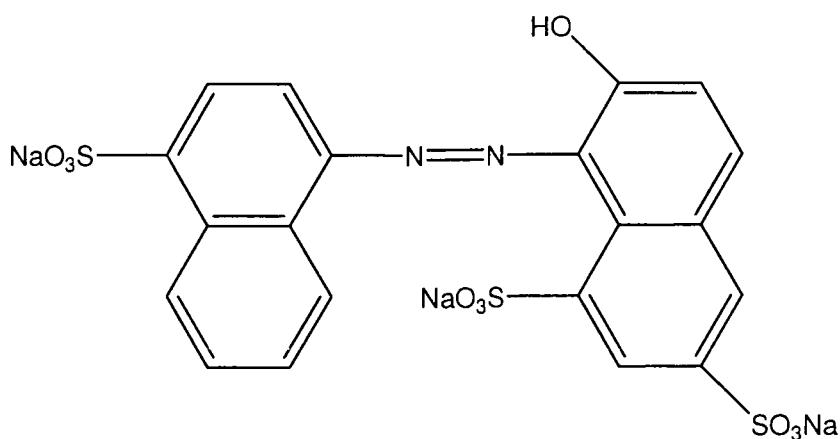
Ryboflawina i ryboflawiny-5'-fosforan – naturalny barwnik obecny w żywności, np: mleko, jaja, wątroba i warzywa. Komercyjnie produkowana z drożdży, także otrzymywana syntetycznie. Barwi żywność na *żółto*, słabo rozpuszczalna w wodzie. Nie odnotowano efektów ubocznych po spożyciu w ilości obecnej w żywności. E101 może być spożywana przez wyznawców wszystkich religii, wegan i wegetarian. Mimo że może być otrzymywana z mleka, na skalę produkcyjną nie stosuje się tej metody.

Żółcień pomarańczowa – syntetyczny barwnik azowy. Barwi żywność na *żółto*, bardzo dobrze rozpuszczalna w wodzie. Może wywołać reakcje u osób z nietolerancją na salicylany. Dodatkowo, uwalnia histaminę i może wzmocnić objawy u astmatyków. W połączeniu z benzoesanami może powodować nadpobudliwość u dzieci. Stosowana do barwienia m.in.: likierów owocowych, marcepanu, zup i napoi w proszku, płatków zbożowych, kasz, konserw rybnych i galaretek.



*Żółcień pomarańczowa,  $C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$*

Czerwień koszenilowa – syntetyczny barwnik azowy. *Czerwony* barwnik żywności. Bardzo dobrze rozpuszcza się w wodzie. Podobnie jak w przypadku żółcieni pomarańczowej barwnik ten może wywoływać nietolerancję u ludzi nietolerujących salicylanów. Dodatkowo jest czynnikiem uwalniającym histaminę i może nasilać objawy astmy. W połączeniu z benzoesanem wpływa na nadmierną aktywność dzieci. Stosowana do barwienia m.in.: skorupki jaj, galaretek, napojów i lodów.



*Czerwień koszenilowa,  $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$*

## 8.3. Oznaczanie wybranych barwników syntetycznych w galaretkach owocowych i napojach

### 8.3.1. Cel i zasada metody

Celem ćwiczenia będzie ekstrakcyjne wydzielenie barwników z próbek deserów spożywczych (galaretki) oraz analiza jakościowa i ilościowa barwników spożywczych zawartych w ekstraktach. Badania zostaną przeprowadzone przy użyciu spektrometrii absorpcyjnej i chromatografii cienkowarstwowej.

#### a) Spektrofotometria absorpcyjna UV-Vis

Szeroko stosowaną metodą do analizy jakościowej, jak i ilościowej barwników w próbkach żywności jest spektrofotometria UV-Vis. Polega ona na określaniu zależności pomiędzy absorbancją ( $A$ ) roztworu barwnika a jego stężeniem ( $c$ ) w roztworze.

Barwniki jako specyficzna grupa związków wyróżniają się intensywnymi pasmami absorpcji, głównie w zakresie widzialnym widma. Wartości liczbowe molowych współczynników absorpcji ( $\epsilon$ ) są duże i zwykle wynoszą od  $1-2,5 \cdot 10^4 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$ . Jest to dowód na dużą czułość spektrofotometrii UV-Vis na zmiany stężenia barwników w roztworze. W związku z tym, można przeprowadzić tą metodą identyfikację i pomiary ilościowe barwników. W tabeli poniżej przedstawiono dane doświadczalne charakteryzujące widma absorpcyjne wodnych roztworów żółcieni pomarańczowej i czerwieni koszenilowej.

*Dane doświadczalne charakteryzujące widma absorpcyjne wodnych roztworów podstawowych barwników spożywczych*

Barwnik	Długość fali $\lambda$ [nm]	Badany zakres stężeń [mol/dm <sup>3</sup> ]	Absorbancja $A$	Średni molowy współczynnik absorpcji [ $\epsilon$ ] [dm <sup>3</sup> /mol·cm]
Żółcień pomarańczowa	485	$5 \cdot 10^{-6} - 4 \cdot 10^{-5}$	0,12 – 0,90	$2,22 \cdot 10^4$
Czerwień koszenilowa	506	$5 \cdot 10^{-6} - 4 \cdot 10^{-5}$	0,09 – 0,63	$1,68 \cdot 10^4$

Barwniki mające czysty i jaskrawy odcień charakteryzują się zwykle wąskim i ostrym pasmem absorpcyjnym z wyraźnym maksimum i stromo opadającymi zboczami. Barwniki o barwie żółtej posiadają pasmo absorpcyjne w zakresie od

400 do 435 nm, pomarańczowej: 417-480 (z dodatkowym pasmem w zakresie: 400-417), czerwonej: 500-526 nm.

Kształt i położenie widm absorpcyjnych zależy przede wszystkim od użytego rozpuszczalnika. Niektóre barwniki mają podobną budowę, co stwarza trudności w odróżnieniu ich widm absorpcyjnych w tym samym rozpuszczalniku. Wówczas wykonuje się porównania widm absorpcyjnych danego barwnika z widmami wzorców wykonanych w kilku rozpuszczalnikach, dobranych na podstawie różnic we właściwościach kwasowo-zasadowych lub różnic w polarności. Na poprawną identyfikację barwników o tej samej budowie może wpłynąć użycie różnych sposobów rejestracji: absorbancji, transmisji, pierwszej i drugiej pochodnej.

### **b) Chromatografia cienkowarstwowa**

Aby sukcesywnie zidentyfikować barwniki przy użyciu metod chromatograficznych, należy jednocześnie analizować próbki wzorcowe oraz potwierdzić wyniki inną metodą. W celu rozdzielania mieszanin barwników spożywczych do pełnych analiz stosuje się metody chromatografii bibułowej i cienkowarstwowej.

Wysokosprawną chromatografią cieczą (HPLC) jest stosowana do analizy jakościowej i ilościowej barwników, w szczególności w codziennie powtarzających się analizach produktów spożywczych, a także do kontrolowania zmian postaci barwników w trakcie różnych etapów procesu produkcyjnego.

## **8.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany**

### Odczynniki

- a) tlenek glinu (wyprażony i zaktywowany w temp. 400°C w ciągu 1 h),
- b) kwas solny HCl, stężony ( $d = 1,180 \text{ g/cm}^3$ ),
- c) amoniak  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 25% roztwór wodny,
- d) rozcieńczony objętościowo roztwór amoniaku (1:9),
- e) rozcieńczony objętościowo roztwór kwasu solnego (1:9),
- f) czerwień koszenilowa (wzorzec),
- g) żółcień pomarańczowa (wzorzec).

### Aparatura

- a) kolumna chromatograficzna szklana,
- b) zlewki o poj.  $100 \text{ cm}^3$ ,
- c) kolby miarowe o poj.  $10 \text{ cm}^3$ ,
- d) roztwory wzorcowe,
- e) płytki chromatograficzne,
- f) etanol 96% cz.d.a,
- g) octan etylu cz.d.a,

- h) dietyloamina cz.d.a,
- i) spektrofotometr UV-Vis, HP 8433,
- j) kuwety kwarcowe,  $d = 1 \text{ cm}$ .

#### Materiał badany

Spożywcze galaretki owocowe (czerwone i żółte) oraz napoje.

### **8.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia**

Sporządzamy kolumnę chromatograficzną szklaną, należy ją zabezpieczyć od dołu u wylotu kawałkiem waty, a następnie wypełnić do wysokości 10 cm tlenkiem glinu. Tak przygotowaną kolumnę zamyka się watą powyżej warstwy tlenku glinu. Wypełnienie kolumny przemywa się  $45 \text{ cm}^3$  roztworem HCl (1:9), a następnie wodą destylowaną.

Należy przeprowadzić ekstrakcję barwników z danych próbek, w tym celu odważoną próbkę galaretki o masie ok. 1 g zalewa się ok.  $50 \text{ cm}^3$  wody destylowanej o temp.  $50^\circ\text{C}$  i miesza się do momentu rozpuszczenia próbki. Rozpuszczoną badaną próbkę galaretki zakwasić za pomocą kwasu solnego do pH ok. 2.5, a następnie przenieść ilościowo na kolumnę chromatograficzną z tlenkiem glinu. Sztuczne barwniki spożywcze występujące w galaretkach ulegają adsorpcji na powierzchni tlenku glinu. Następnie kolumnę przemywa się  $120\text{-}150 \text{ cm}^3$  wody destylowanej o temp.  $70^\circ\text{C}$  w celu usunięcia substancji przeszkadzających, jak cukier, kwas cytrynowy, substancje zapachowe itp.). Barwniki zaadsorbowane na  $\text{Al}_2\text{O}_3$  eluuje się roztworem będącym mieszaniną 25% amoniaku i wody (1:9). Otrzymane przesącze odparowuje się na łaźni wodnej do małej objętości ok.  $6\text{-}8 \text{ cm}^3$ . Po sprawdzeniu pH, które powinno wynosić ok. 7.0, roztwór przenosi się ilościowo do kolbek o poj.  $10 \text{ cm}^3$  oraz uzupełnia wodą destylowaną do kreski.

Pozyskane przesącze zawierają pojedyncze syntetyczne barwniki spożywcze. Roztwór eluatu z kolbki miarowej o poj.  $10 \text{ cm}^3$  należy przenieść do kuwety pomiarowej o grubości  $d = 1 \text{ cm}$  i zarejestrować widmo absorpcyjne w obszarze UV-Vis w zakresie od 200 do 800 nm. Pomiary absorbancji roztworów wykonuje się w temp.  $25^\circ\text{C}$  w środowisku wodnym (pH ok. 6.5) względem wody destylowanej jako odnośnika.

W celu przygotowania roztworów podstawowych badanych barwników spożywczych o stężeniu  $1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$  odważyć 0,4524 g żółcieni pomarańczowej i 0,6045 g czerwieni koszenilowej. Odważone próbki barwników należy rozpuścić w wodzie destylowanej w kolbkach o poj.  $100 \text{ cm}^3$ . Z roztworów podstawowych barwników sporządza się w kolbkach o poj.  $10 \text{ cm}^3$  roztwory wzorcowe. Odmierzyć 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 i 40  $\mu\text{l}$  roztwory podstawowego i uzupełnić wodą desty-

lowaną do kreski. Roztwory starannie wymieszać. Widma absorpcyjne roztworów wzorcowych rejestruje się względem wody destylowanej jako próby ślepej. Po wykonaniu pomiarów spektrofotometrycznych roztworów sporządza się wykres krzywej wzorcowej, czyli zależności absorbancji roztworu (A) od stężenia barwnika (c) w badanej próbce.

### 8.3.4. Opracowanie wyników

#### a) Spektrofotometria absorpcyjna UV-Vis

Obliczamy zawartość barwnika w badanych próbkach spożywczych. Z krzywej wzorcowej należy odczytać zawartość  $x_1$  [mol/dm<sup>3</sup>] zanalizowanego barwnika spożywczego w badanym ekstrakcie i przeliczyć na zawartość barwnika w próbce deseru X [mg/kg]:

$$Z = x_1 \times 0,01 \text{ dm}^3 \times 1000 \times M_{cz}$$

$$Z - R$$

$$X - 1000 \text{ g}$$

$$X = ?$$

Z – masa barwnika w eluacie [mg],

$M_{cz}$  – masa cząsteczkowa danego barwnika [g/mol],

R – naważka próbki spożywczej [g].

Wyniki należy przedstawić w formie tabeli, widocznej poniżej.

*Tabela na wyniki spektrofotometrycznego oznaczania barwników i obliczone wartości barwników w próbce*

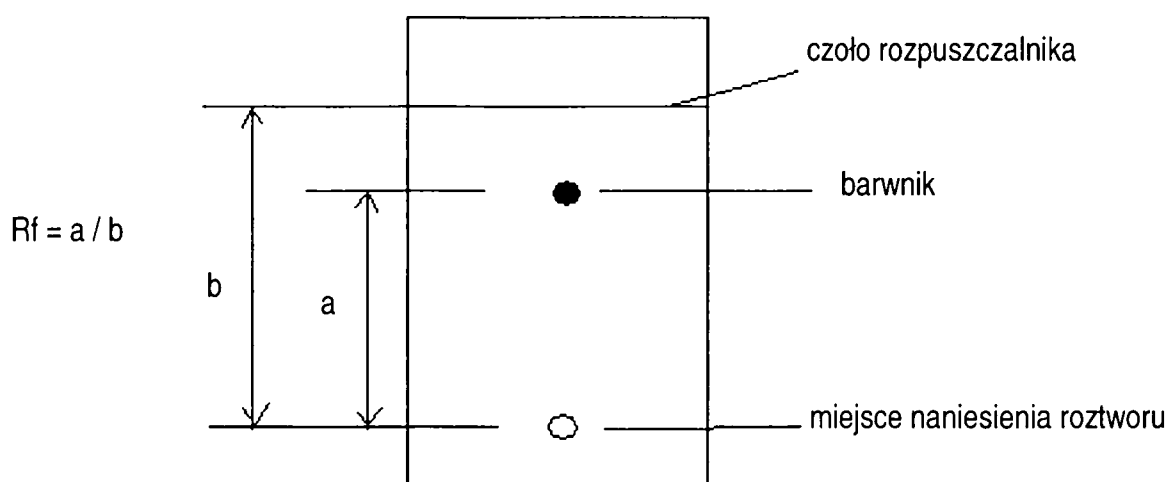
Badany barwnik	$\lambda_{max}$	A	Zawartość barwnika w eluacie [mol/dm <sup>3</sup> ]	Zawartość barwnika w próbce [mg/kg]

#### b) Chromatografia cienkowarstwowa

Na płytce TLC zaznaczyć delikatnie linię startową w odległości 0,5 cm od jednego brzegu bibuły (patrz poniżej rysunek). Na linii startowej zaznaczyć 2 jednakowo oddalone od siebie punkty, które stanowią miejsca naniesienia wzorca barwnika i badanego eluatu. Na przeciwległym brzegu bibuły zaznaczyć kolejno nanoszone próbki. Poszczególne roztwory należy nanosić małymi porcjami tak,

aby po dotknięciu bibuły kapilarą powstająca mokra plamka nie przekraczała ok. 5 mm, susząc każdorazowo w strumieniu ciepłego powietrza suszarką fryzjerską. Po naniesieniu wszystkich roztworów chromatografy umieścić w komorach chromatograficznych, w których na dnie znajduje się octan etylu, etanol, dietyloamina, woda w stosunku objętościowym 55:20:10:10.

Uwaga: proszę nie wkładać rozwiniętych płytek do kolejnych komór. Po osiągnięciu przez rozpuszczalnik wysokości, jak pokazano na rysunku, płytkę wysuszyć suszarką i zanalizować. Porównać, czy wzorzec barwnika odpowiada z analizowanym barwnikiem w próbce spożywczej.



*Schemat opisujący chromatogram TLC*

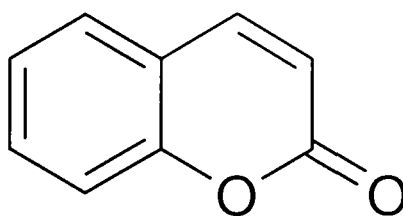
## Literatura

1. Brzozowska A. (pod red.), Toksykologia żywności, Przewodnik do ćwiczeń, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 1996.
2. Masłowska J. (pod red.), Ćwiczenia laboratoryjne z chemii bionieorganicznej oraz mikro-i makroelementów, Wydawnictwo PŁ, Łódź 1994.
3. Masłowska J. (pod red.), Instrumentalne metody identyfikacji i oznaczania składników żywności, Wydawnictwo PŁ, Łódź 1998.
4. Nikonorow M., Urbanek-Karłowska B., Toksykologia żywności, Wydawnictwo PZWL, Warszawa 1987.
5. Truchliński J., Ćwiczenia z toksykologii żywności, Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Lublinie, Lublin 2001.
6. Zimnicki J., Strzelecka B., Krach K., Środki barwiące do żywności, Przemysł Spożywczy, 3, 1-9, 1997.
7. Norma: PN-C-04708-2, Barwniki spożywcze. Oznaczanie koncentracji metodą spektrofotometryczną.

## 9. OZNACZANIE KUMARYNY W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

### 9.1. Właściwości fizykochemiczne kumaryny

Kumaryna jest bezbarwną krystaliczną substancją o przyjemnym, charakterystycznym zapachu suszonego siana, gorzko-palącym smaku i aromacie macierzanki.  $T_f = 69-70^\circ\text{C}$ ;  $T_w = 301,1^\circ\text{C}/760 \text{ mmHg}$ , rozpuszczalność w wodzie: 1:400/20°C, rozpuszczalność w etanolu 90%: 1:10/10°C.



*Kumaryna (lakton kwasu o-hydroksycynamonowego:  $C_9H_6O_2$ )*

Jest ona benzo- $\alpha$ -pironem, czyli laktonem kwasu kumarynowego. Kumaryna jest związkiem występującym w postaci glikozydów (połączenie kwasu kumarynowego z cząsteczką glukozy), ten bezwonny związek dopiero po ścięciu rośliny ulega rozkładowi do kwasu kumarynowego, samorzutnie ulegającego cyklizacji do laktonu. Proces zachodzi pod wpływem enzymów zawartych w surowcu roślinnym. Fakt ten tłumaczy występowanie intensywnego zapachu kumaryny w wielu roślinach dopiero w czasie ich wędnięcia czy suszenia.

W przyrodzie istnieje wiele pochodnych kumaryny. Przy czym te o prostszej budowie, tj.: hydroksy- i metoksykumaryny, tworzą glikozydy, zaś furano- i piranokumaryny występują w postaci wolnej.

Z surowców roślinnych kumarynę wyodrębnia się przez ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi. Jednak otrzymywanie kumaryny z surowców naturalnych nie posiada praktycznego zastosowania, ze względu na ich wysoką cenę. Do celów perfumeryjnych i spożywczych stosuje się kumarynę syntetyczną.

### 9.2. Występowanie kumaryny w środowisku i jej toksyczność

Kumaryna i jej homologi występują w niewielkich ilościach w ponad 80 gatunkach roślin z rodzin: traw, storczykowatych, motylkowatych, jasnotowatych, zaliczyć możemy tu m.in. następujące gatunki:

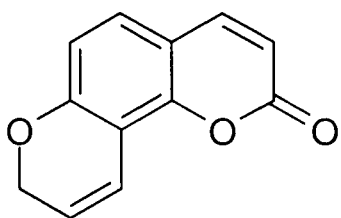
- turówka wonna (żubrówka) (*Hierochloe odorata* L.),



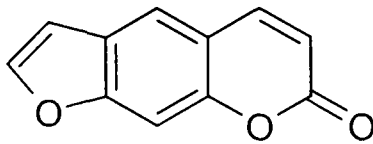
- tonka wonna (*Dipteryx odorata* Willd.),
- nostrzyk lekarski (*Melilotus officinalis* L.),
- marzanka wonna (*Asperula odorata* L.).

Kumaryna była powszechnie stosowana w wielu kompozycjach perfumeryjnych i mydlarskich, dużą jej ilość zużywał przemysł spożywczy do wyrobu cukierków i napojów, a także przemysł tytoniowy do aromatyzowania papierosów. Obecnie kumaryna zaliczana jest do grupy substancji toksycznych i jej ilość stosowana w produktach spożywczych jest limitowana. Badania laboratoryjne wykazały, iż kumaryna powoduje marskość wątroby u szczurów, w mitozie zaś hamuje podział komórek i dlatego w ubiegłym stuleciu została ona niemal całkowicie wycofana z produktów spożywczych w Europie i USA. Aczkolwiek badania opublikowane w 2008 r. wykazały, iż ilość toksycznych metabolitów powstających w organizmie ludzkim na skutek spożycia kumaryny jest nieporównywalnie niższa niż u szczurów.

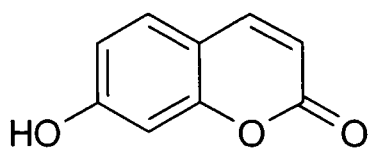
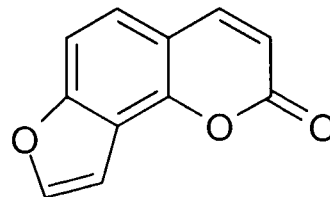
Wiadomo jednak iż homologi kumaryny wyraźnie oddziałują na człowieka. Piranokumaryny rozszerzają naczynia krwionośne i mają działanie rozkurczowe. Umbeliferon, eskuletyna i herniaryna chronią organizm przed działaniem promieni ultrafioletowych. Dikumarol hamuje wytwarzanie protrombiny we krwi, a co za tym idzie obniża jej krzepliwość. Większość kumaryn działa też przeciwbakteryjnie i przeciwzapalnie. Niektóre z furanokumaryn uczulają na światło, np. psoralen zawarty w baldaszkowatych, a angelicyna (np. w arcydzięglu) obniża ciśnienie krwi. Silne działanie żółciotwórcze wykazują hydroksykumaryny (izofraksydyna, skopolentyna) bylicy bożego drzewka.



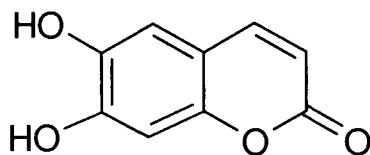
Piranokumaryna



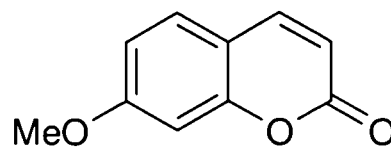
Furanokumaryny



Umbeliferon



Eskuletyna



Herniaryna

*Homologi kumaryny*

Naukowcy wyliczyli, iż maksymalna bezpieczna dawka kumaryny, jaką można dziennie spożyć, to 0,1 mg na kilogram masy. Bardzo łatwo jednak tę dawkę przekroczyć, tym bardziej, że kumaryna trafia do organizmu z różnych źródeł, nie tylko żywności, napojów, ale i z kosmetyków. Kumaryna występuje m.in. w turówce wonnej – gatunku trawy nazywanej potocznie żubrówką stosowaną jako przyprawa do wódek oraz nalewek. Kumarynę zawiera również w pewnych ilościach stosowany przez nas cynamon. Zgodnie z prawem Unii Europejskiej w produktach spożywczych maksymalna dopuszczalna zawartość kumaryny wynosi 2 mg na kg produktu. W napojach alkoholowych dopuszczalna zawartość to maksymalnie 10 mg/kg.

Kumaryna jest związkiem czynnym, który charakteryzuje się dużą różnorodnością działań farmakologicznych. Z najważniejszych wymienić należy działania: przeciwzkrzepowe, uspokajające i rozkurczowe oraz przeciwobrzękowe. Związek ten wykazuje ponadto wpływ immunostymulujący i cytotoksyczny, ale metabolit kumaryny 1,7-hydroksykumaryna działa niestety hepatotoksycznie. Kumaryna jest również inhibitorem kiełkowania nasion, w mitozie hamuje podział komórek. A ze względu na jej walory zapachowe stosowana jest w przemyśle: perfumeryjnym, mydlarskim, tytoniowym oraz spirytusowym.

### **9.3. Oznaczanie kumaryny w napojach alkoholowych metodą chromatografii gazowej (GC) i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektroskopią mas (GC-MS)**

#### **9.3.1. Cel i zasada metody**

Celem ćwiczenia jest oznaczenie jakościowe i ilościowe (GC) kumaryny w nalewkach. Pierwszy etap ćwiczenia opiera się na wydzieleniu kumaryny z napoju alkoholowego na drodze destylacji z parą wodną, a następnie ekstrakcji destylatu rozpuszczalnikiem. Kolejny etap to odparowanie na wyparce obrotowej rozpuszczalnika. Uzyskany ekstrakt waży się i poddaje analizie metodą chromatografii gazowej (GC) oraz chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (GC-MS). Metoda GC-MS pozwala na zidentyfikowanie kumaryny w ekstrakcie, na podstawie charakterystycznego widma masowego tego związku, natomiast z chromatogramu gazowego uzyskanego w wyniku analizy metodą GC-FID odczytujemy indeks retencji, będący wielkością charakterystyczną oznaczanego związku. Te dwie informacje pozwalają na potwierdzenie obecności kumaryny w ekstrakcie.

Zawartość kumaryny w ekstrakcie oznaczamy metodą standardu wewnętrznego (tridekan), wykorzystując wartość uprzednio obliczonego współczynnika korekcyjnego dla kumaryny. Zawartość procentową kumaryny w mieszaninie związków lotnych wyrażamy w [mg/100cm<sup>3</sup>] napoju alkoholowego.

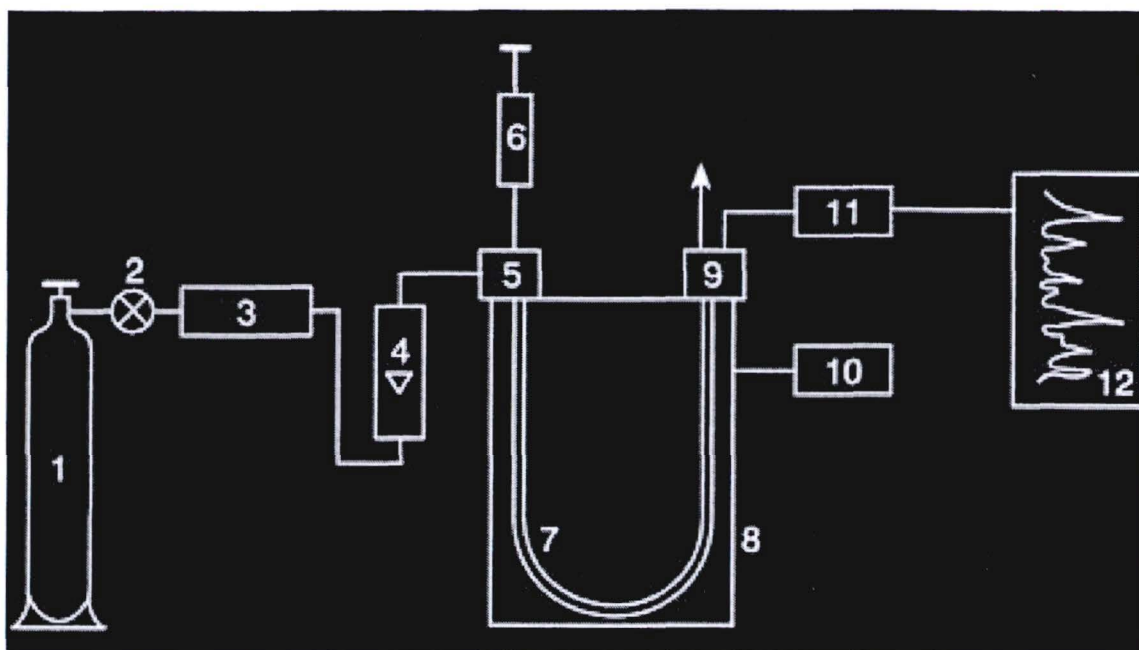
#### **a) Chromatografia gazowa (GC)**

Analizę metodą chromatografii gazowej wykonuje się w tzw. chromatografach gazowych. Technika ta umożliwia procentowe ustalenie składu mieszanin związków chemicznych, a w połączeniu ze spektrometrią masową (GC-MS) metoda ta umożliwia pełną identyfikację związków. Chromatografia gazowa jest najczęściej stosowaną metodą do szybkiej analizy złożonych mieszanin związków chemicznych oraz oceny czystości tych związków zarówno w przemyśle, jak i w laboratoriach.

Zasada działania chromatografu została pokazana na rysunku umieszczonym na następnej stronie i jest następująca: Gaz nośny (najczęściej hel, argon, wodór, azot) ze zbiornika płynie przez regulator przepływu, oczyszczalnik (osuszacz i odtleniacz) oraz przepływomierz do dozownika, a następnie przez kolumnę chromatograficzną i detektor do atmosfery. Próbka analizowanej mieszaniny jest wstrzykiwana do dozownika. Składniki przechodzą w stan gazowy. Następnie pary próbki są porywane przez gaz nośny i kierowane do kolumny, gdzie następuje rozdział składników. Na końcu kolumny znajduje się detektor mierzący stężenie związków opuszczających kolumnę chromatograficzną.

Metoda chromatograficzna oparta jest na rozdzielaniu mieszanin na długich i cienkich kolumnach kapilarnych z odpowiednim polimerycznym wypełnieniem stałym. Mechanizm rozdziału związków jest oparty na występowaniu oddziaływań międzycząsteczkowych między składnikami rozdzielanych mieszanin i wypełnieniem kolumn. Oddziaływania te hamują przepływ związków chemicznych przez kolumnę. Im są one silniejsze, tym czas przejścia związku chemicznego przez kolumnę jest dłuższy. Czas przejścia danego związku chemicznego przez całą kolumnę jest nazywany czasem retencji. Przy odpowiednio długiej kolumnie, zawierającej odpowiednie wypełnienie, czasy retencji związków są na tyle różne, że opuszczają one kolumny osobno, przy czym cała objętość związków wychodzi w stosunkowo krótkim czasie (np. od 1 min. do 90 min.).

Składniki próbki analizowane metodą chromatografii gazowej muszą być lotne oraz nie ulegać rozpadowi w podwyższonej temperaturze. Najczęściej są to rozmaite mieszaniny gazów i roztwory zawierające lotne (zdolne do parowania) związki organiczne. Zaletą chromatografii gazowej jest możliwość użycia bardzo niewielkiej próbki analizowanej substancji (od nawet 0,01 mm<sup>3</sup> do maksymalnie 100 mm<sup>3</sup>) i wysoka czułość tej metody.



- 1 – butla z gazem nośnym, 2 – regulator przepływu gazu, 3 – oczyszczacz gazu,  
 4 – przepływomierz gazu, 5 – dozownik, 6 – urządzenie dozujące, 7 – kolumna chromatograficzna,  
 8 – termostat kolumny, 9 – detektor, 10 – urządzenia regulacji i pomiaru temperatury,  
 11 – wzmacniacz sygnału detektora, 12 – komputer  
 i wydruk chromatogramu

*Schemat chromatografu gazowego*

### **b) Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS)**

W analizach mających na celu identyfikację substancji zwykle ma się do czynienia z mieszaninami związków chemicznych. Identyfikacja wielu związków chemicznych znajdujących się w jednej próbce jest zwykle niemożliwa, jeśli stosuje się tylko spektrometr mas. Problem ten można rozwiązać łącząc spektrometrię mas z np. chromatografią gazową. W obu metodach analiza mieszaniny przebiega w fazie gazowej, a wielkość próbki potrzebna do badania może być mniejsza niż  $10^{-6}$  g. W układzie takim wszystkie substancje opuszczające kolumnę chromatografu gazowego kierowane są do źródła jonów w spektrometrze mas. Podczas analizy mieszanin, z chromatografu wydostają się kolejne, rozdzielone, pojedyncze substancje. Spektrometr nie analizuje całej mieszaniny w jednym momencie, tylko kolejno pojedyncze związki chemiczne.

Podstawą spektrometrii masowej jest pomiar stosunku masy danego związku do jej ładunku elektrycznego ( $m/z$ ). Niezależnie od konstrukcji i przeznaczenia we wszystkich spektrometrach mas występują następujące elementy:

- źródło jonów – urządzenie, w którym następuje jonizacja cząsteczek na skutek m.in. bombardowania ich elektronami, w wyniku czego następuje pęknięcie wiązań chemicznych danego związku i jego podział na mniejsze fragmenty,

- analizator – w którym wcześniej powstałe jony ulegają rozdzieleniu na podstawie stosunku ich masy do ładunku,
- detektor – urządzenie "zliczające" jony napływające z analizatora, rejestrowany przez komputer sygnał w postaci widma stosunku masy do ładunku elektrycznego (nazywanego często widmem masowym).

Spektrometria mas służy m.in. do identyfikacji związków chemicznych i ich mieszanin oraz ustalania struktury związków chemicznych. W tym celu często wykorzystuje się metodę porównywania otrzymanych widm z widmami zawartymi w bibliotekach komputerowych (NIST, Willey, MassFinder, Adams).

### 9.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany

#### Odczynniki

- 100 cm<sup>3</sup> chlorku metylenu,
- 10 cm<sup>3</sup> pentanu,
- tridekan (1% roztwór w etanolu),
- wzorzec kumaryny.

#### Aparatura

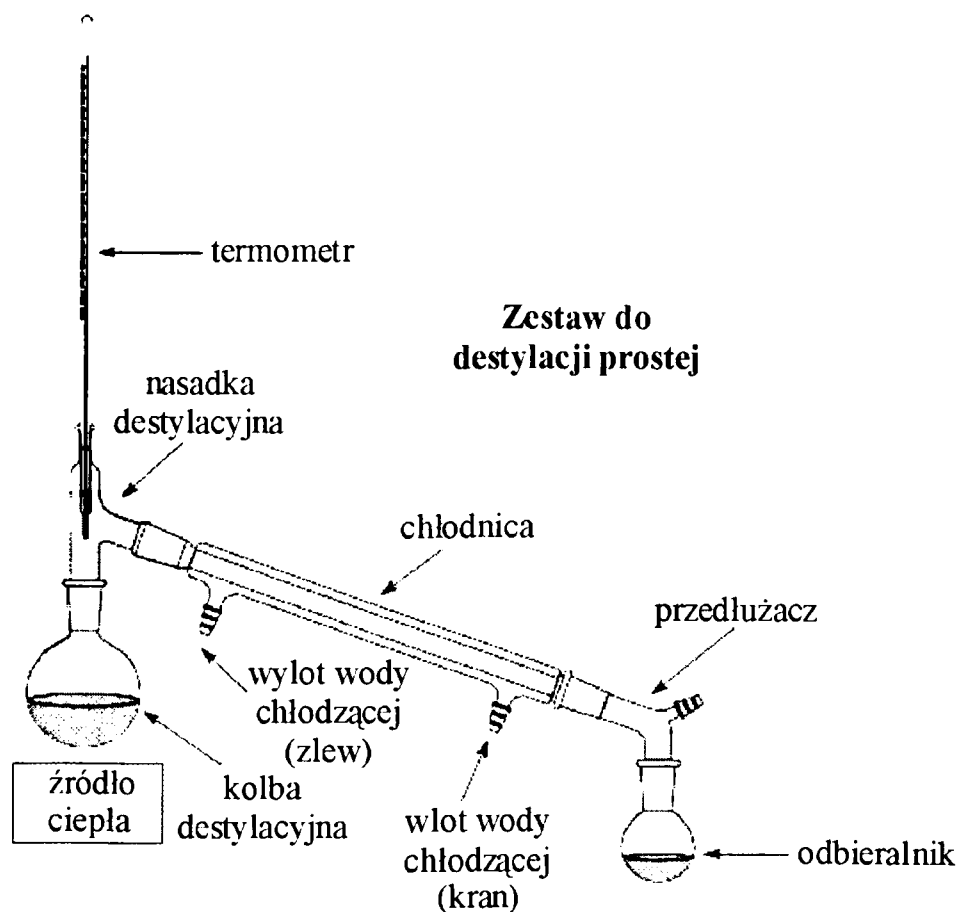
- 2 kolby okrągłodenne, 250 cm<sup>3</sup>,
- chłodnica,
- nasadka destylacyjna,
- przedłużacz,
- odbieralnik,
- 2 gumowe węże,
- czasza grzejna,
- transformator,
- rozdzielacz,
- 2 cylindry, 150 cm<sup>3</sup>,
- kolba stożkowa,
- fiolka,
- 2 pipety,
- lejek,
- sączek.

#### Materiał badany

Napoje alkoholowe aromatyzowane ekstraktami z roślin bogatych w kumarynę lub aromatami spożywczymi zawierającymi kumarynę.

### 9.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia

Zmontować aparaturę do destylacji wg schematu poniżej.



*Schemat aparatury do destylacji*

Do kolby okrągłodennej o pojemności 500 cm<sup>3</sup> wprowadzić 100 cm<sup>3</sup> nalewki, następnie 200 cm<sup>3</sup> wody i kamyki wrzenne. Pokrętko transformatora ustawić na 200 i oddestylować około 200 cm<sup>3</sup> substancji.

Po ostudzeniu przenieść destylat do rozdzielacza i ekstrahować 3 razy po 20 cm<sup>3</sup> chlorkiem metylenu. Połączone ekstrakty osuszyć bezwodnym siarczanem magnezu. Następnie sączyć do kolby okrągłodennej i oddestylować rozpuszczalnik na wyparce obrotowej. Ekstrakt zważyć.

### 9.3.4. Opracowanie wyników

Zawartość związków lotnych [mg/100 cm<sup>3</sup>] obliczyć z wzoru:

$$V = \frac{A \times 100}{B}$$

gdzie:  $A$  – masa ekstraktu (mg),

$B$  – objętość napoju alkoholowego wzięta do oznaczenia (cm<sup>3</sup>).

Identyfikacji i oznaczenia zawartości kumaryny w ekstrakcie związków lotnych wykonać metodą chromatografii gazowej (GC-FID) i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (GC-MS).

Zawartość kumaryny ( $K$ ) w napoju alkoholowym obliczyć wg wzoru:

$$K = \frac{M_w \times P_z \times f_z}{A \times P_w} \times 100$$

gdzie:  $M_w$  – masa wzorca (tridekan) dodanego do próbki otrzymanego ekstraktu,

$P_z$  – powierzchnia pików oznaczanego składnika - kumaryny (%),

$f$  – współczynnik korekcyjny kumaryny,

$A$  – masa analizowanej próbki (bez dodatku wzorca),

$P_w$  – powierzchnia pików wzorca (%).

Ustalić, czy zawartość kumaryny w badanym napoju alkoholowym jest zgodna z ustalonymi normami.

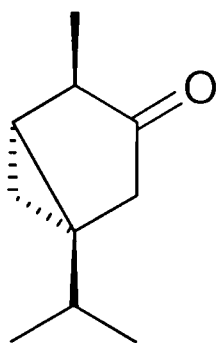
## Literatura

1. Brzozowska A. (pod red.), Toksykologia żywności, Przewodnik do ćwiczeń, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 1996.
2. Ashurts P.R., Food Flavorings, Asper Publishers, Inc. Geihersburg, Maryland 1999.
3. Burdock G.A., Handbook of Flavor Ingredients, 4<sup>th</sup> edition, CRC Press US 2002.
4. Kulesza J., Góra J., Tyczkowski A., Chemia i technologia związków zapachowych, Wydawnictwo przemysłu lekkiego i spożywczego, Warszawa 1961.
5. Leland J.C. i inni, Natural Products from Plant, Taylor & Francis, London 2006.
6. Rowe D.J., Chemistry and technology of flavors and fragrances, Blackwell publishing Oxford, UK 2005.
7. Stevens R., An introduction to the cumulative subject Index, Flavour Fragr. J., 14, 260-261, 1999.
8. Witkiewicz Z., Podstawy Chromatografii, Wydawnictwo WNT, Warszawa 2005.
9. Witkiewicz Z., Hepter J., Chromatografia gazowa, Wydawnictwo WNT, Warszawa 2001.

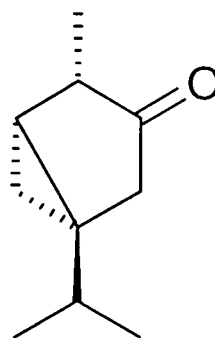
## 10. OZNACZANIE $\alpha$ - I $\beta$ -TUJONU W OLEJKACH ETERYCZNYCH

### 10.1. Właściwości fizykochemiczne $\alpha$ - i $\beta$ -tujonu

$\alpha$ - i  $\beta$ -Tujon to związki organiczne należące do grupy tlenowych pochodnych węglowodorów monoterenów (czyli zawierających 10 atomów węgla). Związki te występują w wielu roślinach – są składnikami licznych olejków eterycznych, m.in. szałwii (*Salvia officinalis*), piołunu (*Artemisia absinthium*), bylicy (*Artemisia vulgaris*), wrotyczu pospolitego (*Tanacetum vulgare*), tui (*Thuja occidentalis*). Tujony oznaczane są także w napoju alkoholowym z domieszką wyciągu z piołunu – absyncie, zwanym też piołunówką.



$\alpha$ -tujon



$\beta$ -tujon

Tujony

W większych dawkach związki te wywołują wzmożoną czynność kory mózgowej, połączoną z niepokojem ruchowym i drażliwością. Zatrucie tujonami często jest związane z pojawieniem się stanów podniecenia i psychoz, a spośród narządów zmianom zwyrodnieniowym ulega przede wszystkim układ nerwowy. Ich działanie farmakologiczne jest związane z interakcjami z receptorem GABA (rodzaj receptorów błonowych). W kontrolowanych dawkach tujon może służyć jako środek przeciw pasożytniczy, antybakteryjny i fungistatyczny, a w optymalnych dawkach działa korzystnie na organizm.

Zatrucia  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujonem były częstym zjawiskiem, zwłaszcza we Francji, gdzie do wyrobu bardzo popularnego napoju alkoholowego – absyntu, stosowano olejek eteryczny z piołunu. Aktualnie, w większości krajów Unii Europejskiej absynt jest legalny, pod warunkiem, że stężenie tujonów nie przekracza w nim 10 mg/dm<sup>3</sup>. W USA absynt był zakazany, jednak obecnie został dopuszczony do sprzedaży.



Tujony jako czyste składniki nie mogą być dodawane do żywności. Mogą natomiast być w produktach spożywczych, jako integralny składnik surowców, z których wyprodukowano żywność. Tujony są bowiem składnikami smakowo-zapachowymi charakterystycznymi dla wielu gatunków roślin (m.in. bylic) i ich olejków eterycznych. Napoje i środki spożywcze utworzone z takich surowców mogą zawierać maksymalnie 0,5 mg  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujonu w 1 kg surowca.

## 10.2. Występowanie $\alpha$ - i $\beta$ -tujonu w środowisku i ich toksyczność

$\alpha$ - i  $\beta$ -Tujony są nieodłącznym składnikiem niektórych wódek, likierów i nalewek ziołowych, np. nalewki szalwiowej, absyntu (piołunówki, absyntówki), nalewki z bylicy pospolitej lub estragonu. Oto dopuszczalne limity tych związków w napojach alkoholowych:

- 5 mg/kg w napojach alkoholowych z nie więcej niż 25% objętości alkoholu,
- 10 mg/kg w napojach alkoholowych z więcej niż 25% objętości alkoholu,
- 25 mg/kg w środkach spożywczych zawierających preparaty na bazie szalwii,
- 35 mg/kg w gorzkich napojach alkoholowych.

Zatrucia tujonami mają miejsce w przypadku nadmiernego spożycia alkoholi z dodatkiem ekstraktów lub olejków eterycznych roślin zawierających ten składnik, ponadto przy przedawkowaniu preparatów opartych na żywotniku (*Thuja*) i jałowcu (*Juniperus*). Następuje wówczas podrażnienie przewodu pokarmowego, ból brzucha, nudności z wymiotami, biegunka, zapalenie nerek z podrażnieniem układu moczowego, częstomocz, a nawet krwimocz, następnie zatrzymanie moczu. U zatrutych czasem występuje też wysypka na skórze, zaczerwienione plamy, pokrzywka przechodząca w wyprysk sączący. Ponadto długotrwałe, duże dawki olejku szalwiowego lub wyciągów z szalwii przyjmowane doustnie mogą wywołać nudności, wymioty, konwulsje, otępienie. Olejek jest dopuszczalny do stosowania w produktach spożywczych z zastrzeżeniem określającym dopuszczalne stężenie tujonów w końcowym produkcie.

$\alpha$ - i  $\beta$ -tujon są głównymi składnikami szalwii lekarskiej. Rodzaj szalwii (*Salvia*) obejmuje ponad 500 gatunków. Większość uprawiana jest w celach ozdobnych. Znaczenie przemysłowe mają trzy spośród nich: szalwia lekarska (*Salvia officinalis* L.), szalwia muszkatołowa (*S. sclarea* L.) i szalwia hiszpańska (*S. lawandulaefolia* Vahl.).

Szalwia lekarska jest znanym od dawna lekiem ziołowym stosowanym w lecznictwie ludowym i medycynie oficjalnej. Napar z liści był lekiem przeciwgorączkowym, przeciwzapalnym i wykrztuśnym. Obecnie surowcem farmakopealnym są liście szalwii oraz ulistnione szczyty pędów, wysuszone w temperaturze

35°C, standaryzowane na zawartość olejku eterycznego (1-2%). Olejek z szalwii ma następujące właściwości:

- silnie rozkurczowe (określone w badaniach na świnkach morskich),
- przeciwbakteryjne wobec niektórych szczepów chorobotwórczych,
- przeciwgrzybiczne wobec grzybów patogennych,
- antyoksydacyjne.

Głównymi składnikami olejku liści szalwii lekarskiej są:  $\alpha$ -tujon (2-46%) i  $\beta$ -tujon (2-30%), kamfora (2-25%) oraz 1,8-cyneol (2-20%). Na zawartość poszczególnych składników wpływ ma wiele czynników, takich jak: miejsce i czas zbioru rośliny, warunki glebowe i klimatyczne.

Olejek i liście szalwii są używane do aromatyzowania konserw mięsnych i rybnych, mięsa, drobiu, kiełbas, serów, ostrych sosów oraz napojów alkoholowych – win i likierów. Szalwia jest popularną przyprawą kuchenną w Anglii, Niemczech i USA. Znany jest szalwiowy ocet i szalwiowe masło. W przemyśle perfumeryjnym do konstruowania kompozycji typowo męskich, składnik wód kolońskich i toaletowych. W przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym ekstrakty z szalwii są stosowane do maseczek oczyszczających i ściągających, a olejek do aromatyzowania leków, past do zębów oraz jako środek odkażający. Olejek stosowany jest również w aromaterapii ze względu na odkażające i przeciwbólowe działanie. Olejek ma świeży ziołowo-korzenny, ciepły, nieco kamforowy zapach. Nutę świeżą, ziołową nadają  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujony, a korzenno-drzewną humulen, kariofilen i wiridiflorol.

### **10.3. Wydzielanie $\alpha$ - i $\beta$ -tujonu z liści szalwii lekarskiej oraz identyfikacja związków metodami chromatograficznymi**

#### **10.3.1. Cel i zasada metody**

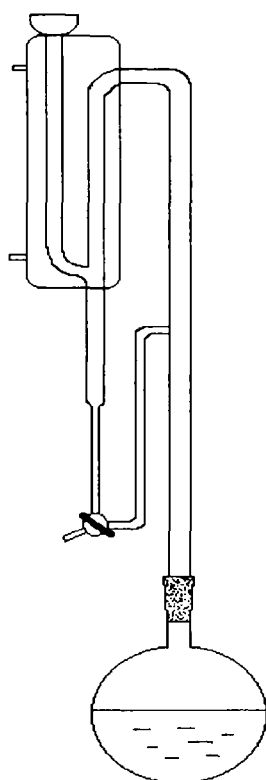
Celem ćwiczenia jest wydzielenie olejku eterycznego z liści szalwii lekarskiej, identyfikacja i określenie zawartości  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujonów oraz obliczenie, jaka maksymalna ilość uzyskanego olejku może zostać wykorzystana do aromatyzowania 1 dm<sup>3</sup> gorzkiej wódki (z zachowaniem ustalonych norm).

Metodą wykorzystywaną do wydzielenia tujonów jest destylacja z parą wodną. Destylacja z parą wodną jest najstarszą, znaną i wykorzystywaną od wieków metodą izolowania lotnych składników roślin w postaci olejków eterycznych, które według definicji są mieszaninami wtórnych metabolitów roślin pozyskiwanych tą techniką. Wyjątkiem są olejki eteryczne otrzymane przez wyciskanie z owoców cytrusów. Mieszaniny lotnych związków uzyskiwane z roślin innymi metodami (np. ekstrakcja rozpuszczalnikami organicznymi i destylacja z parą

wodną otrzymanego produktu lub ekstrakcja gazami w stanie nadkrytycznym) noszą miano olejków lotnych. Olejki eteryczne i lotne mogą być mieszaninami nawet kilkuset składników.

Destylacja z parą wodną jest procesem, w którym wysokowrzące składniki olejku można wydzielić w temperaturze niższej niż 100°C. Metoda ta jest stosowana zarówno w przemyśle, jak i w laboratorium do izolowania olejków eterycznych, których składniki charakteryzują się słabą rozpuszczalnością w wodzie, lotnością z parą wodną i odpornością przed rozkładem w warunkach procesu. Metoda polecana jest również do wydzielenia olejków lotnych z olejów i tłuszczów.

Otrzymywanie olejków eterycznych w warunkach laboratoryjnych przeprowadza się w szklanym aparacie, zwanym aparatem Derynga, widocznym na rysunku umieszczonym poniżej.



*Aparat Derynga*

Metoda polega na oddestylowaniu olejku eterycznego z ogrzewanej w kolbie mieszaniny surowca olejkodajnego i wody. Substancje lotne destylują wraz z parą wodną, a następnie są kondensowane i jako lżejsze od wody i nie mieszające się z nią, zbierane są w odpowiednim fragmencie aparatury. Główną zaletą destylacji z parą wodną jest uzyskanie produktu pozbawionego składników nielotnych.

Rutynowa analiza olejku eterycznego opiera się na wykorzystaniu metody GC i GC-MS (patrz ćwiczenie pt. Oznaczanie kumaryny w napojach alkoholowych). Na podstawie chromatogramu gazowego (GC) oznaczamy zawartość procentową

poszczególnych związków chemicznych tworzących olejek eteryczny, oznaczamy także tzw. indeks retencji (uzależniony od czasu retencji związku z kolumny chromatograficznej, obliczony na podstawie retencji wzorców: alkanów). Ta ostatnia informacja wraz z widmem masowym (GC-MS) stanowi cechę charakterystyczną danego związku. Istnieją bogate bazy danych zarówno indeksów retencji, jak i widm masowych składników olejków pozwalające jednoznacznie przypisać je odpowiednim związkom chemicznym.

### 10.3.2. Odczynniki, aparatura i materiał badany

#### Odczynniki

- a) środek suszący –  $\text{MgSO}_4$ ,

#### Aparatura

- a) kolba okrągłodenna,  $1 \text{ dm}^3$ ,
- b) aparat Derynga,
- c) czasza grzejna,
- d) transformator,
- e) 2 gumowe węże,
- f) fiolka.

#### Materiał badany

Liście szalwii lekarskiej.

### 10.3.3. Opis wykonywanego ćwiczenia

Zważyć 50 g surowca roślinnego, rozdrobnić go i wprowadzić do kolby. Zalać wodą do maksymalnie 2/3 pojemności kolby. Napełnić skalowaną rurkę aparatu Derynga wodą, podłączyć gumowe węże i zamontować aparat w kolbie. Włączyć ogrzewanie i destylować 2,5 h od momentu rozpoczęcia wrzenia. Odczytać objętość zebranego w rurce skalowanej olejku i zebrać go do fiolki. Następnie dodać środka suszącego.

Olejek poddać analizie metodą GC i GC-MS. Z uzyskanych wydruków odczytać dla  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujonu odpowiednio indeks retencji oraz widmo masowe, ustalić który pik na wydruku chromatogramu odpowiada tujonom. Z chromatogramu gazowego odczytać zawartość procentową  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujonu.

### 10.3.4. Opracowanie wyników

Określić wydajność (w%) olejku eterycznego z szałwii lekarskiej.

Obliczyć, jaką maksymalną ilość wydzielonego na zajęciach olejku eterycznego można zaromatyzować 1dm<sup>3</sup> gorzkiej wódki, tak aby nie przekroczyć ustalonych dopuszczalnych norm na zawartość tujonów.

### Literatura

1. Ashurts P.R., Food Flavorings, Asper Publishers, Inc. Geihersburg, Maryland 1999.
2. Burdock G.A., Handbook of Flavor Ingredients, 4<sup>th</sup> edition, CRC Press US 2002.
3. Góra J., Lis A., Najcenniejsze olejki eteryczne, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 2005.
4. Klimek D., Olejki eteryczne, Wydawnictwo Przemysłu Lekkiego i Spożywczego, Warszawa 1957.
5. Leland J.C. i inni, Natural Products from Plant, Taylor & Francis, London 2006.
6. Rowe D.J., Chemistry and technology of flavors and fragrances, Blackwell publishing Oxford, UK 2005.
7. Stevens R., An introduction to the cumulative subject Index, Flavour Fragr. J., 14, 260-261, 1999.
8. Wright C.W., Artemisia, Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles, Taylor & Francis, London 2002.

## 11. PYTANIA KONTROLNE

1. Jakie zastosowania posiada chrom?
2. Podaj wpływ chromu III na organizm człowieka.
3. Podaj wpływ chromu III na organizm roślinny.
4. Podaj przykłady negatywnego działania chromu VI na organizm człowieka.
5. Jakie są źródła występowania chromu?
6. W jakich produktach spożywczych występuje chrom?
7. Opisz właściwości fizykochemiczne glinu.
8. Na czym polega toksyczność glinu?
9. Opisz zastosowanie glinu i jego związków w przemyśle i życiu człowieka.
10. Glin, a choroba Alzheimera, opisz zależność.
11. Charakterystyka kobaltu i źródła jego skażeń w środowisku.
12. Rola kobaltu w fizjologii roślin i zwierząt.
13. Charakterystyka chemiczna produktów sojowych.
14. Zasada spektrofotometrycznego oznaczania jonów kobaltu (II).
15. W jakich produktach spożywczych występuje miedź?
16. Opisz właściwości fizykochemiczne miedzi?
17. Miedź, a choroba Wilsona, opisz zależność.
18. Opisz zastosowanie miedzi i jej związków w przemyśle i życiu człowieka.
19. Jakie są źródła występowania niklu?
20. Jakie zastosowanie posiada nikiel?
21. Podaj źródła emisji niklu.
22. Podaj drogi narażenia i skutki toksyczne działania niklu i jego związków na organizm człowieka?
23. Opisz sposoby działania substancji wolotwórczych.
24. Jakie są zalecenia dziennego spożycia jodu w Polsce dla osób dorosłych?
25. Jakie istnieją typy związków o udowodnionym i potencjalnym działaniu wolotwórczym?
26. Opisz działanie tiocyjanianów jako goitrogenów.
27. Jakie są cele barwienia żywności?
28. Czego używa się do barwienia żywności?
29. Która grupa barwników wykazuje największe działanie toksyczne i co jest tego powodem?
30. Opisz dwa syntetyczne barwniki organiczne: żółcień pomarańczową i czerwień koszenilową.
31. W jaki sposób można jakościowo i ilościowo oznaczyć barwniki syntetyczne w artykułach spożywczych?

32. W jakich produktach roślinnych i spożywczych występuje kumaryna oraz jak jest limitowana w środkach spożywczych?
33. Jaki jest cel stosowania metody GC i GC-MS?
34. Opisz zasadę analizy metodą chromatografii gazowej.
35. Opisz toksyczność  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujonu.
36. Jakie właściwości posiada olejek eteryczny z szaławii lekarskiej?
37. Co to jest olejek eteryczny i olejek lotny?
38. Jakie warunki musi spełnić związek, aby mógł destylować z parą wodną?

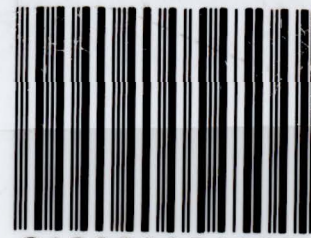


107845



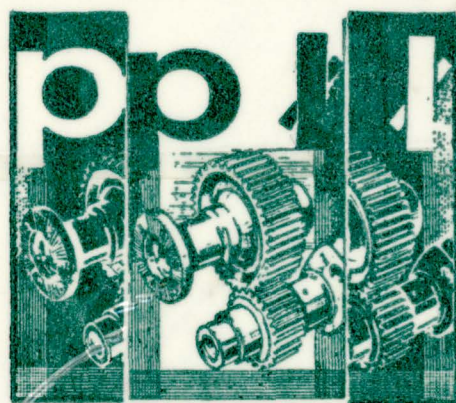
Biblioteka Główna

PL



210000294088

107 945



EXLIBRIS

politechnika łódzka • łódź • biblioteka

ISBN 978-83-7283-363-1