

Laboratorium 3

Toksykologia żywności

Literatura zalecana:

Orzeł D., Biernat J. (red.) 2012. Wybrane zagadnienia z toksykologii żywności. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Wrocław. Str.: 155 – 159; 198 – 201, 203.

Zadanie 1. Oznaczanie migracji formaldehydu z papieru opakowaniowego

Odczynniki, szkło laboratoryjne:

Formalina

0,1M r-r J₂ w KJ

0,5M r-r KOH

0,5M r-r HCl

0,1M Na₂S₂O₃ (tiosiarczan sodu)

0,5% r-r skrobi

r-r soli disodowej kwasu chromotropowego w H₂SO₄

Zlewki, lejki, kolby miarowe 100 cm³ i 1000 cm³, probówki, pipety, kolby stożkowe ze szlifem, cylindry, bagietki.

Wykonanie:

Oznaczenie zawartości formaldehydu w formalinie

1. Do kolby miarowej o pojemności 100cm³ odważyć 1g formaliny
2. Uzupełnić wodą dest. do kreski i dokładnie wymieszać
3. Pobrać 5cm³ otrzymanego r-u do kolby stożkowej ze szlifem.
4. Dodać 25cm³ 0,1N r-u jodu i 10 cm³ 0,5N r-u KOH. Kolbę zamknąć, dokładnie wymieszać i pozostawić na 15 min.
5. Dodać 10,5 cm³ 0,5N HCl
6. Miareczkować nadmiar jodu za pomocą 0,1N Na₂S₂O₃ do chwili odbarwienia się mieszaniny, dodając pod koniec miareczkowania roztwór skrobi.
7. Zawartość formaldehydu w formalinie obliczyć ze wzoru:

$$X \text{ (mg/cm}^3\text{)} = [(25 - V) \cdot 1,5] \div 5,$$

gdzie:

V – objętość 0,1N Na₂S₂O₃ zużytego do miareczkowania (cm³),

25 – objętość dodanego r-u jodu (cm³),

1,5 – ilość formaldehydu odpowiadająca 1cm³ r-u jodu (mg/cm³),

5 – rozcieńczenie

Przygotowanie krzywej wzorcowej

1. Do kolby miarowej na 1000 cm³ odmierzyć taką ilość formaliny, która zawiera 1g aldehydu mrówkowego i uzupełnić wodą destylowaną do 1000 cm³
2. 10 cm³ takiego r-u przenieść do kolby miarowej na 100 cm³ i uzupełnić wodą destylowaną do kreski (w 1cm³ powstałego r-u znajduje się 0,1 mg formaldehydu)
3. Z tak powstałego r-u sporządzić w kolbach miarowych na 100 cm³ roztwory o stężeniu formaldehydu: 0,25 µg/cm³, 0,5 µg/cm³, 1 µg/cm³, 2,5 µg/cm³, 5 µg/cm³, 7,5 µg/cm³ i 10 µg/cm³
4. Z każdego z r-ów pobrać do oddzielnej probówki 1 cm³, dodać 5 cm³ r-u soli disodowej kwasu chromotropowego w H₂SO₄ i dokładnie wymieszać,
5. Probówki wstawić na 20 min. do łaźni wodnej o temp. 60°C,
6. Przenieść probówki do temp. pokojowej na 60 min.
7. Zmierzyć absorbancję powstałego fioletowego związku wobec wody, przy długości fali
8. $\lambda = 565 \text{ nm}$, w kuwecie o długości drogi optycznej 1 cm³.

Wykonanie oznaczenia migracji formaldehydu z badanego papieru opakowaniowego

1. Zważyć ok. 20g papieru pakowego i pociąć na kawałki o wymiarach ok. 2 cm · 1 cm.
2. Kawałki papieru umieścić w kolbie stożkowej ze szlifem o pojemności 500 cm³, dodać 350 cm³ wody destylowanej, dokładnie wymieszać i pozostawić na 24 godziny w temp. pokojowej.
3. Wyciąg przesączyć do kolby stożkowej ze szlifem, o pojemności 500 cm³,
4. Pobrać do probówki 1 cm³ przesączu, dodać 5 cm³ r-u soli disodowej kwasu chromotropowego w H₂SO₄ i dokładnie wymieszać.
5. Probówki wstawić na 20 min. do łaźni wodnej o temp. 60°C.
6. Przenieść probówki do temp. pokojowej na 60 min.
7. Zmierzyć absorbancję powstałego fioletowego związku wobec wody, przy długości fali
8. $\lambda = 565 \text{ nm}$, w kuwecie o długości drogi optycznej 1 cm³.
9. Odczytać z krzywej wzorcowej zawartość formaldehydu odpowiadającą zmierzonej wartości absorbancji. Ostateczny wynik podać w µg formaldehydu / dm² papieru i w µg formaldehydu / kg papieru.
10. Ocenić wielkość migracji formaldehydu z badanych papierów opakowaniowych i związane z tym zagrożenie.

Zadanie 2. Oznaczanie zawartości kwasu benzoowego w wybranych napojach

Odczynniki, szkło laboratoryjne

Chloroform

nasycony r-r NaCl

10% r-r NaOH

10% r-r HCl

bezwodny alkohol etylowy

1% r-r fenoloftaleiny

0,01M r-r NaOH

10% r-r skrobi

0,02M r-r jodu

zlewki o poj. 150 cm³, cylindry o poj. 100 cm³, kolby miarowe o poj. 100 cm³, pipety, rozdzielacze, krystalnice, kolby stożkowe o poj. 200 cm³, zestaw do miareczkowania

Wykonanie:

1. Do zlewki wprowadzić 50 cm³ badanego produktu i 40 cm³ nasyconego r-u NaCl.
Pozostawić na 10 min.
2. Zobojętnić zawartość zlewki 10% r-r NaOH wobec papierka lakmusowego.
3. Przenieść r-r do kolby miarowej o poj. 100 cm³ i uzupełnić do kreski nasyconym r-em NaCl.
4. Dokładnie wymieszać i pozostawić na 30 min.
5. Pobrać 20 cm³ i przenieść do rozdzielacza o poj. 100 cm³. Zakwasić 1 cm³ 10% r-r HCl.
6. Ekstrahować chloroformem 3-krotnie po 5 cm³ mieszając zawartość rozdzielacza ruchem obrotowym (NIE WYTRZĄSAĆ!).
7. Ekstrakty zebrać do krystalnicy i odparować chloroform na łaźni wodnej pod wyciągiem.
8. Pozostałość w krystalnicy (w kolbie) rozpuścić w 10 cm³ alkoholu etylowego i przenieść do kolby stożkowej o poj. 200 cm³.
9. Dodać 2 cm³ wody destylowanej i 2 krople fenoloftaleiny.
10. Roztwór miareczkować 0,01M r-em NaOH do zmiany zabarwienia.
11. Obliczyć zawartość benzoesu sodu (mg/dm³) uwzględniając zastosowane naważki i rozcieńczenia oraz zależność: 1 cm³ 0,01M NaOH = 0,00144 g bezwodnego benzoesu sodu.
12. Porównać z dopuszczalną zawartością kwasu benzoowego w badanym produkcie

Zadanie 3. Oznaczanie wolnego SO₂ w occie

Odczynniki, szkło laboratoryjne

10% r-r skrobi

0,02M r-r jodu

pipety, kolby stożkowe o poj. 200 cm³, zestaw do miareczkowania

Wykonanie:

1. Odmierzyć 50 cm³ octu do kolby stożkowej o poj. 200 cm³.
2. Dodać 2 cm³ 10% r-ru skrobi i miareczkować 0,02M r-em jodu do wystąpienia niebieskiego zabarwienia utrzymującego się przez przynajmniej 30 sek.
3. Obliczyć zawartość wolnego SO₂ (mg/dm³) w badanym occie, uwzględniając, że 1cm³ 0,02M r-u jodu odpowiada 0,64 mg SO₂.

Zadanie 4. Oznaczanie liczby nadtlenkowej tłuszczów (tzw. liczba Lea)

Liczba nadtlenkowa określa ilość pojawiających się nadtlenków w wyniku utleniania (autooksydacji) nienasyconych kwasów tłuszczowych wchodzących w skład tłuszczu. Liczba ta pokazuje stopień zepsucia tłuszczu (zjełczenia). Im jest większa tym zepsucie tłuszczu jest większe. Przy daleko posuniętym procesie jęłczenia, w przechowywanym tłuszczu mogą powstawać substancje toksyczne.

Odczynniki, szkło laboratoryjne:

chloroform

kwas octowy lodowaty

nasycony r-r KJ

skrobia

0,025 M Na₂S₂O₃

kolby stożkowe ze szlifem, cylindry miarowe, pipety, zestawy do miareczkowania

Wykonanie:

1. W kolbie stożkowej ze szlifem o poj. 250cm³ odważyć 5g oleju rzepakowego.
2. Dodać cylindrem 10cm³ chloroformu i 15cm³ kwasu octowego lodowatego oraz pipetą 1cm³ nasyconego r-u KJ.
3. Zawartość kolby wytrząsać 1 min. i odstawić w ciemne miejsce na 5 min.

- Po tym czasie dodać 30-40 cm³ wody destylowanej, 1 cm³ r-u skrobi jako wskaźnika i miareczkować 0,025 M r-em Na₂S₂O₃ do zaniku ciemnofioletowego zabarwienia.
- Równocześnie wykonać ślepią próbę odczynnikową.
- Obliczyć liczbę nadtlenkową badanego tłuszczu wg wzoru:

$$LN = [(V - V_0) \cdot c]/m$$

gdzie:

V – ilość 0,025 M r-u Na₂S₂O₃ zużyta do miareczkowania próby badanej (cm³)

V₀ – ilość 0,025 M r-u Na₂S₂O₃ zużyta do miareczkowania próby ślepej (cm³)

m – naważka (w kg)

c – stężenie r-u Na₂S₂O₃ użytego do miareczkowania (mM/dm³)

- Porównać wartości liczb nadtlenkowych badanych tłuszczów i wyciągnąć wnioski

Zadanie 5. Wykrywanie fosforanów w Coca-Coli

Odczynniki, szkło laboratoryjne:

węgiel aktywny

stężony HNO₃

molibdenian (VI) amonu = heptamolibdenian amonu = (NH₄)₆Mo₇O₂₄ (25g w 175cm³ H₂O)

papierek wskaźnikowy pH

kolby stożkowe ze szlifem o poj. ok. 250 cm³, probówki, pipety, szklane bagietki, lejki, bibuła filtracyjna,

Wykonanie:

- Do kolby stożkowej wlać 100 cm³ Coca-Coli i dodać płaską łyżeczkę węgla aktywnego
- Dokładnie wymieszać i odstawić na ok. 10 min.
- Otrzymaną mieszaninę przesączyć przez bibułę filtracyjną.
- 5 cm³ przesącza wlać do probówki i ostrożnie dodawać pipetą kilka kropli stężonego HNO₃.
- Uzyskany roztwór ogrzewać do wrzenia i odstawić do ostudzenia.
- Po ostudzeniu dodać kilka kropli molibdenianu amonu. Pojawienie się żółtego osadu świadczy o obecności jonów fosforanowych
- Zanurzyć szklaną bagietkę w przesączu uzyskanym w pkt. c i przenieść na papierek wskaźnikowy celem określenia pH Coca-Coli.