

Oznaczanie hydroksymetylofurfuralu w miodzie metoda Winklera

Hydroksymetylofurfural (HMF) – 5(hydroksymetylo)-2-furaldehyd, w postaci czystej występuje jako igiełki lub płatki o zapachu kwiatów rumianku lub w postaci bezbarwnego syropu, podrażniającego oczy. HMF jest bardzo słabo lotny, rozpuszczalny bardzo dobrze w wodzie, alkoholach, acetonie, octanie metylu i DMF, rozpuszcza się także w eterze i chloroformie. HMF w wysokich stężeniach jest cytotoksyczny, powoduje podrażnienia oczu, górnych dróg oddechowych, skóry i błon śluzowych. Związek ten jest znany również jako genotoksyczny i rakotwórczy, ale mechanizmy jego toksycznego działania nadal pozostają niejasne. HMF tworzy się z heksoz w trakcie ogrzewania i przechowywania żywności bogatej w cukry.

Celami ćwiczenia jest oznaczenie HMF w miodzie

1. Odczynniki, sprzęt i aparatura

- ❖ zlewki o pojemności,
- ❖ spektrofotometr,
- ❖ kuweta kwarcowa,
- ❖ waga,
- ❖ pipety,
- ❖ kolbki miarowe
- ❖ p-toluidyna
- ❖ Kwas barbiturowy
- ❖ $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$
- ❖ $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$
- ❖ herbata, kawa
- ❖ mieszadło magnetyczne

1. Przygotowanie roztworów:

Roztwór p-toluidyny:

Rozpuścić 10 g p-toluidyny w 50 ml 2-propanolu w łaźni wodnej. Przeleć roztwór do kolbki miarowej o pojemności 100 ml, dodać 10 ml lodowatego kwasu octowego. Po doprowadzeniu mieszaniny do temperatury pokojowej uzupełnić kolbkę 2-propanolem do kreski.

Roztwór jest gotowy do użycia po przechowywaniu w ciemnym szkle przez 24 h.

Roztwór kwasu barbiturowego:

Odważyć 500 mg kwasu barbiturowego i rozpuścić na gorąco w łaźni wodnej w 70 ml wody w kolbie miarowej na 100 ml. Ostudzić roztwór i uzupełnić wodą do kreski.

Roztwór Carreza I: rozpuścić 15 g $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ w wodzie w kolbie na 100 ml

Roztwór Carreza II: rozpuścić 30 g $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ w wodzie w kolbie na 100 ml.

3. Wykonanie oznaczenia:

Przygotowanie próbek miodu

Odważyć 10 g miodu w zlewce i rozpuścić w 20 ml wody mieszając zawartość przy użyciu mieszadła magnetycznego. Przenieść otrzymany roztwór miodu do kolbki na 50 ml, dodać po 1 ml roztworu Carreza I i II i dopełnić wodą do kreski. Całość wymieszać i przesączyć przez filtr papierowy, odrzucając pierwszych 10 ml przesączu.

Oznaczenie

Odmierzyć po 2 ml przesączu do dwóch fiolek, dodać po 5 ml roztworu p-toluidyny. Następnie do jednej fiołki dodać 1 ml wody (ślepa próba), zaś do drugiej 1 ml kwasu barbiturowego. Całość wymieszać i zmierzyć absorbancję przy 550 nm w przeświadku 3-4 min po dodaniu kwasu barbiturowego.

4. Obliczenie zawartości HMF

Zawartość obliczyć ze wzoru:

$$\text{HMF [mg/kg]} = (192 \cdot A \cdot 10) / \text{masa odważonego miodu [g]}$$

A- absorbancja próbki z kwasem barbiturowym

192 – wartość uwzględniająca współczynnik rozcieńczenia i molowego współczynnika absorpcji