



UNIWERSYTET GDAŃSKI
WYDZIAŁ CHEMII

Pracownia studencka
Katedry Analizy Środowiska

Instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych

Ćwiczenie nr 1

Analiza zawartości szczawianów oraz tanin w różnych gatunkach herbat

Analiza żywności II

Gdańsk, 2017

1. Wstęp teoretyczny

Produkty odżywcze, oprócz składników odżywczych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu, zawierają wiele substancji mogących niekorzystnie wpływać na organizm ludzki. **Substancje antyodżywcze** to substancje, które mogą ograniczać bądź uniemożliwiać wykorzystanie składników odżywczych ze spożywanych produktów przez organizm i/lub wpływać szkodliwie na nasze zdrowie.

Do substancji antyodżywczych, obecnych w produktach roślinnych i zwierzęcych należą:

- związki pochodzenia naturalnego,
- związki toksyczne, przenikające do żywności wskutek zanieczyszczenia środowiska, np. poprzez zabiegi nawożenia pól uprawnych oraz procesów technologicznych,
- niektóre substancje celowo dodawane do żywności (dodatki do żywności).

Substancje antyodżywcze w zależności od składników odżywczych, w stosunku do których wykazują takie antyodżywcze działanie, przyjęto dzielić na grupy utrudniające wykorzystanie białka, witamin, składników mineralnych i węglowodanów [1].

Mechanizm ich działania jest bardzo różny. Substancje utrudniające wykorzystanie białek i węglowodanów mają charakter inhibitorów enzymów trawiennych, takich jak trypsyna, chymotrypsyna, amylazy; te które utrudniają wykorzystanie witamin to enzymy (askorbinaza, tiaminaza) powodujące rozkład witamin do związków nieaktywnych lub związki tworzące z witaminami nieprzyswajalne w przewodzie pokarmowym połączenia (awidyna w stosunku do biotyny, o-dihydroksyfenole w stosunku do tiaminy) [1]. Inny mechanizm działania wykazują związki o budowie podobnej do struktury witamin, które wchodząc w przemiany metaboliczne zamiast witamin nie mogą spełniać ich funkcji (dikumarol w stosunku do witaminy K, aminopteryna w stosunku do folianów). Do substancji odżywczych utrudniających wykorzystanie składników mineralnych zalicza się przede wszystkim te, które tworzą z nimi trudno rozpuszczalne połączenia (kwas szczawiowy, fityniany, taniny, wielofosforany, polifenole) oraz konkurujące z nimi w procesach wchłaniania lub wychwytywania przez tkanki docelowe (siarkocyjaniny), a także wpływające na gospodarkę tymi pierwiastkami (siarkocyjaniany, węglowodory polichlorowe, karbaminiany) [1].

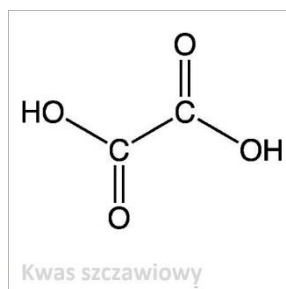
Oprócz substancji antyodżywczych naturalnie występujących w produktach spożywczych takie działanie mogą wykazywać substancje celowo do nich dodawane (np. fosforany) lub trafiające jako zanieczyszczenia.

Przedmiotem niniejszego ćwiczenia będą wybrane, naturalnie występujące substancje antyodżywcze.

2.1. Kwas szczawiowy i szczawiany

Kwas szczawiowy (Rys. 1) zaliczany jest do naturalnych substancji o działaniu antyodżywczym w stosunku do składników mineralnych [1-3]. Jest on kwasem dikarboksylowym, który tworząc nierozpuszczalne sole z metalami dwu- i trójwartościowymi, powoduje zmniejszenie ich wykorzystania z pożywienia. Wchłania się łatwo z przewodu pokarmowego. Szczawian wapnia wchłania się po

częściowym rozkładzie w żołądku. Im wyższa kwasowość soku żołądkowego, tym więcej szczawianu wapnia ulega rozkładowi.



Rys. 1. Struktura kwasu szczawiowego

Kwas szczawiowy powstaje w roślinach na drodze biosyntezy z substratów takich, jak: kwas askorbinowy, tryptofan, hydroksyprolina, seryna i etyloamina. Żywność pochodzenia zwierzęcego zawiera go stosunkowo mało. Produktami zaliczanymi do bogatoszczawianowych są: rabarbar, szpinak, szczaw, orzechy, soja, a także używki – kawa (szczególnie naturalna i mocna), herbata (długo parzona czarna, zwłaszcza liściasta) oraz kakao (Tabela 1).

Tabela 1. Zawartość kwasu szczawiowego oraz jego stosunek molowy do wapnia w niektórych produktach.

Produkt	Zawartość kwasu szczawiowego (mg/100g)	Zawartość wapnia (mg/100g)	Stosunek molowy [mEq(COOH) ₂ /mEqCa]
Buraki, korzeń	124-450	18-30	5,10
Kalafior	0-21	150-200	0,03
Kapusta pekińska	0-6	60-100	0,02
Marchew	5-60	30-50	0,36
Rabarbar	275-1336	40-50	8,50
Salata	5-20	73-90	0,06
Szczaw	270-730	35-40	5,60
Szpinak	320-1260	80-122	4,30
Ziemniaki	20-141	10-34	1,60
Herbata	300-2000	400-500	1,13
Kakao	500-900	100-150	2,60
Kawa	50-150	10-15	3,90

Liczne dane literaturowe wskazują na istnienie związku pomiędzy nadmiernym spożyciem szczawianów, a takimi chorobami, jak: kamica nerkowa, wytrącanie się stałych kryształów szczawianów wapnia, uszkodzenie systemu immunologicznego, jak również autyzm, czy różne odmiany artretyzmu [1-3]. Wchłanianie szczawianów z żywności jest zróżnicowane, np. z liści botwiny 0,7 – 2,3%, szpinaku 4,5 – 6,2%, herbaty 1,9 – 4,7% do 9% . Dopuszczalne dzienne spożycie (ADI) szczawianów w diecie dorosłej osoby wynosi ok. 250 mg/dobę, natomiast osoby ze zwiększonym ryzykiem do tworzenia kamieni nerkowych nie powinny przekraczać dziennej dawki 40 – 50 mg szczawianów w ciągu doby. Oszacowanie ilości szczawianów w codziennej diecie jest istotne zwłaszcza w przypadku osób

narażonych na kamicę nerkową. W badaniach przeprowadzonych wśród osób na tradycyjnej diecie, dowiedziono, że 85% szczawianów w diecie kobiet i 80% w diecie mężczyzn pochodzi z kawy i herbaty, a jedynie 15-20% z innych produktów. Dieta mieszana dostarcza 100 – 150 mg szczawianów dziennie, natomiast wegetariańska – 191 mg. Kwas szczawiowy w organizmie człowieka pochodzi nie tylko z pożywienia; jest on końcowym produktem metabolizmu m.in. kwasu askorbinowego [1-3].

W licznych badaniach zalecane jest spożycie naparów kawy czy herbaty z dodatkiem mleka w ilości 160 mg wapnia/100 cm³ (25 cm³ odtłuszczonego mleka). Istotne jest także dziennie przyjmowanie ok. 2,5 dm³ płynów. W wyniku procesu gotowania warzyw w wodzie ilość szczawianów obniża się w nich o ok. 50% [1-3].

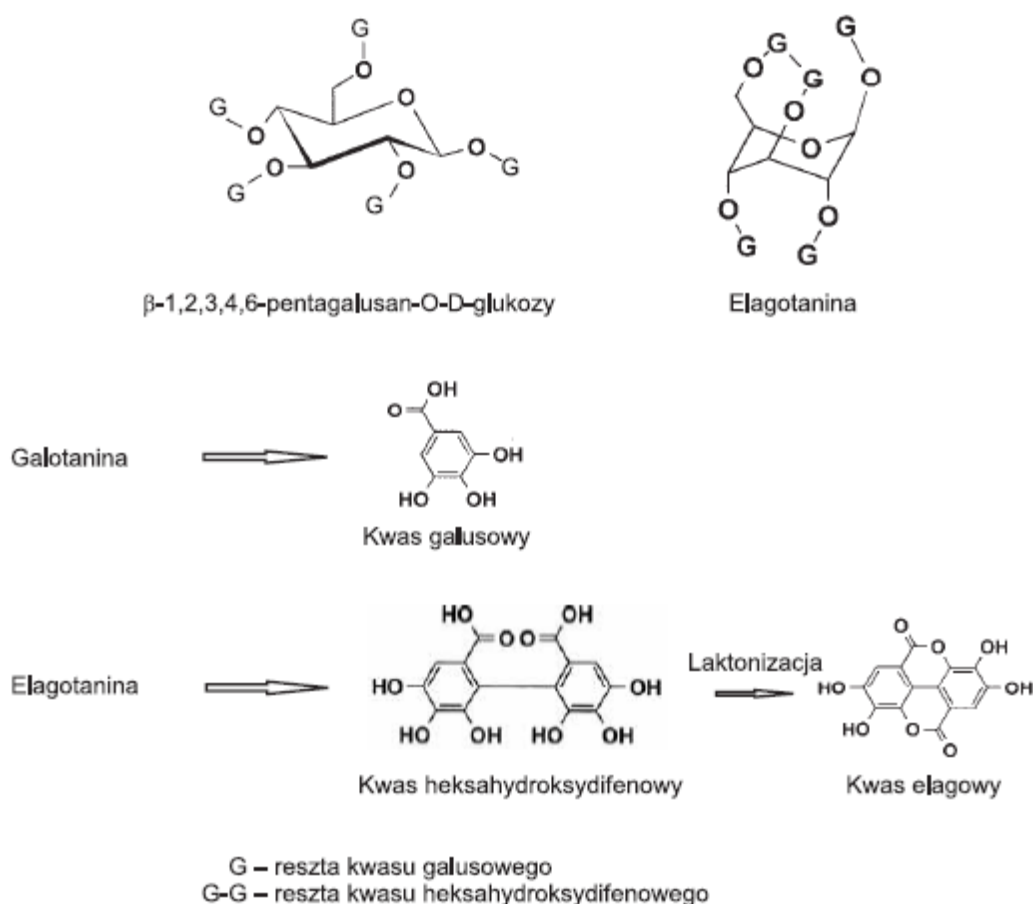
Antyodżywcze działanie kwasu szczawiowego jest uwarunkowane nie tylko zawartością jonów szczawianowych w pożywieniu, ale również stosunkiem molowym kwasu szczawiowego do pierwiastków, z którymi tworzy on nierozpuszczalne sole. Biorąc pod uwagę stosunek molowy kwasu szczawiowego do wapnia produkty spożywcze można podzielić na trzy grupy:

- produkty, w których zawartość kwasu szczawiowego wielokrotnie przekracza zawartość wapnia – stosunek molowy $(\text{COOH})_2 / \text{Ca} > 2$ (szpinak, szczaw, rabarbar, botwina, buraki, herbata, kawa, kakao). Wapń występujący w tych produktach jest praktycznie niedostępny, a ponadto nadmiar kwasu może wiązać wapń z innych produktów spożywanych jednocześnie lub jony szczawianowe mogą być wchłaniane do krwi. Szczególnie w sytuacji zbyt małej podaży wapnia w diecie oraz witaminy D spożyty kwas szczawiowy może wywoływać szkodliwe działanie.
- produkty, których zawartość kwasu szczawiowego jest prawie równoważna zawartości wapnia – stosunek molowy $(\text{COOH})_2 / \text{Ca}$ wynosi 1-2 (ziemniaki, owoce jagodowe). Wapń jest praktycznie w nierozpuszczalnej, ale spożywanie tych produktów nie ogranicza biodostępności wapnia z innych produktów.
- produkty, których zawartość kwasu szczawiowego jest niższa niż zawartość wapnia – stosunek molowy $(\text{COOH})_2 / \text{Ca} < 1$ (sałata, kapusta, kalafior, marchew, niektóre rośliny strączkowe) [1-3]. Z uwagi na dużą zawartość wapnia pomimo, iż zawierają kwas szczawiowy, są źródłem tego pierwiastka.

Aby ochronić organizm przed nadmiernymi stratami składników mineralnych (wapnia) należy: ograniczyć spożywanie produktów, w których stosunek molowy kwasu szczawiowego do wapnia jest większy niż 2 lub wykluczyć je z diety, uzupełnić dietę w wapń poprzez spożywanie dodatkowej ilości produktów bogatych w ten składnik, takich jak: mleko i przetwory mleczne. Ze względu na stwierdzone negatywne właściwości powyższych związków, spożywanie nadmiernej ilości produktów bogatych w szczawiany nie jest wskazane szczególnie w warunkach nieprawidłowego funkcjonowania wątroby, nerek, trzustki i gruczołów wydzielania wewnętrznego [1-3].

2.2. Taniny

Taniny tworzą dużą grupę związków o skomplikowanej i zróżnicowanej strukturze chemicznej [4-5]. Można je zdefiniować jako polifenole o masie cząsteczkowej od 500 do 3000 Da, w większości rozpuszczalne w wodzie, zdolne do tworzenia kompleksów z białkami, polisacharydami, a także jonami metali. Taniny dzieli się zwykle na dwie podstawowe grupy, taniny hydrolizujące i niehydrolizujące [5]. W centrum cząsteczki tanin hydrolizujących znajduje się monosacharyd (glukoza lub inne poliole, np. cukier rozgałęziony – hamamelozą, kwas szikimowy, chinowy, a nawet pektyny), którego grupy hydroksylowe, częściowo lub całkowicie, zestryfikowane są resztami kwasu galusowego lub jego pochodnymi, np. kwasem m-digalusowym. Taniny te są łatwo hydrolizowane przez słabe kwasy i zasady lub enzymy do monomerycznych produktów. W zależności od rodzaju powstających produktów wyróżnia się galotaniny i elagotaniny. Galotaniny są najprostszymi taninami, zawierającymi w swojej cząsteczce glukozę i estrowo związany z nią kwas galusowy. Przykładem tego rodzaju związków jest kwas taninowy ($C_{76}H_{52}O_{46}$). Częścią rdzeniową jego cząsteczki jest pentagalusan glukozy (Rys. 2), do którego kolejne jednostki kwasu galusowego przyłączone są poprzez wiązania depsydowe. W wyniku rozkładu galotanin powstaje glukoza i kwas galusowy [5].



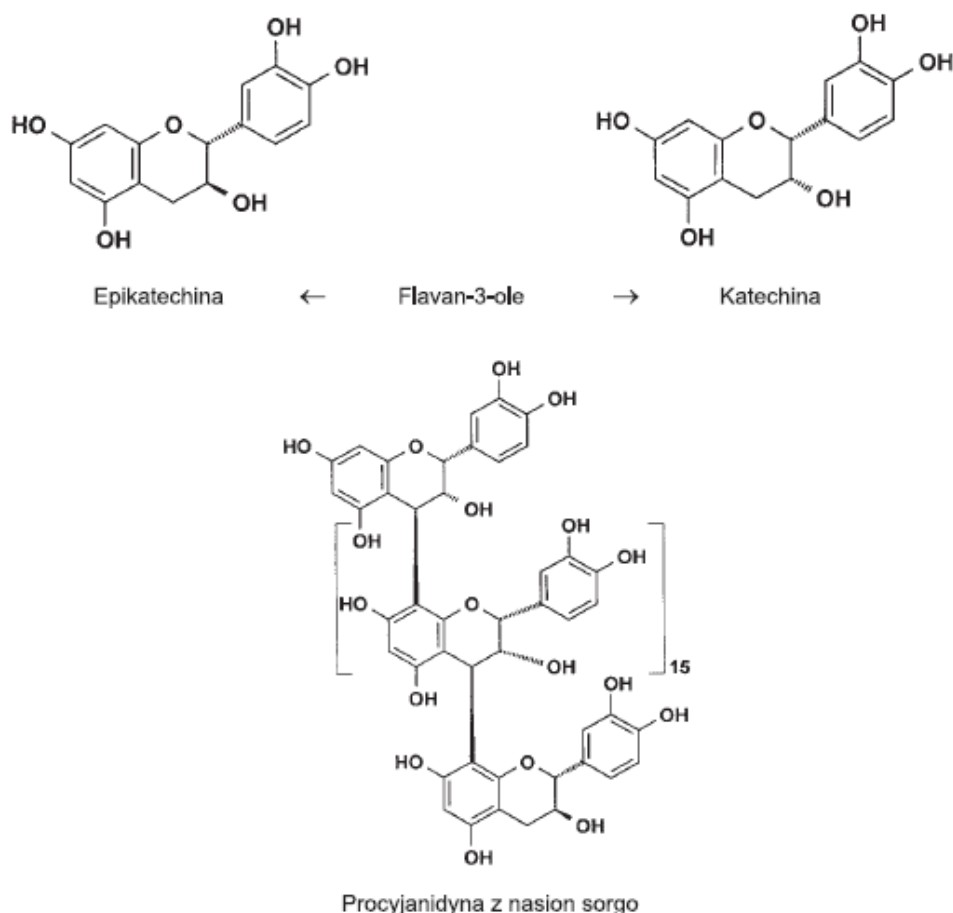
Rys. 2 Taniny hydrolizujące [5]

Galotaniny występują w większych ilościach w korze drzew, np. specjalnych odmian dębu oraz w galasówkach, czyli naroślach na liściach sumaka (*Rhus semialata*) – kwas taninowy, galotanina chińska;

dębu (*Quercus infectoria*) – galotanina turecka i w liściach sumaka (*R. coriaria*, *R. typhina*). Związki te są składnikiem taniny handlowej – heterogennego preparatu będącego mieszaniną estrów galusanowych [5].

Najprostsze elagotaniny są estrami polioli i kwasu heksahydroksydifenowego, który w roztworze wodnym spontanicznie ulega laktonizacji do kwasu elagowego (Rys. 2). Podczas hydrolizy elagotanin uwalniana jest glukoza i kwas elagowy razem z kwasem galusowym, a czasem także inne kwasy przypominające strukturą kwas galusowy. Elagotaniny występują między innymi w owocach chebulowca (*Therminalia sp.*) – kwas chebulinowy, drewnie kasztanowca (*Castanea sativa*), dębu oraz w strąkach *Caesalpinia spinosa*.

Taniny niehydrolizujące (skondensowane, proantocyjanidyny) są pochodnymi flawonoidów, zróżnicowanej grupy metabolitów o charakterystycznym szkielecie węglowym C₆-C₃-C₆. Proantocyjanidyny są oligomerami lub polimerami struktur flawonoidowych, głównie flawan-3-oli, (-)-epikatechiny i (+)-katechiny (Rys. 3), flawan-3,4-dioli lub mieszaniny obydwu. W przeciwieństwie do tanin hydrolizujących nie zawierają jednostek cukrowych. Występują w niedojrzałych owocach wielu gatunków, nasionach zbóż, roślin oleistych i strączkowych. Wykorzystywane w handlu skondensowane taniny ekstrahowane są, m.in. z drewna akacji australijskiej (*Acacia mollissima* i *A. mearnsii*) oraz drzewa *Schinopsis lorentzii*, kory sosny i dębu [5].



Rys. 3. Struktura tanin skondensowanych [5]

Niektórzy autorzy wyróżniają dodatkowo trzecią grupę – taniny katechinowe, których przykładem są polifenole występujące w zielonych liściach herbaty [5]. Mają one charakterystyczny dla tanin skondensowanych szkielet węglowy i nie zawierają reszt cukrowych. Należą do nich monomeryczne flawan-3-ole, np. (+)-katechina, (-)-epikatechina, (+)-galokatechina i (-)-epigalokatechina lub ich estrowe pochodne, np. 3-galusany (-)-epikatechiny i (-)-epigalokatechiny. Ta ostatnia grupa związków łatwo ulega hydrolizie enzymatycznej pod wpływem tanazy.

Związki te są szeroko rozpowszechnione w królestwie roślin, także w żywności pochodzenia roślinnego [5]. Taniny możemy znaleźć w winie, herbacie, orzechach. Są też w wielu owocach jagodowych, takich jak borówki, truskawki, maliny, żurawiny. Bogate w taniny są m.in. winogrona, granaty, jabłka oraz nasiona roślin strączkowych, szczególnie te o kolorowej okrywie jak fasola czerwona, fasola czarna, soczewica. Występują również w gryce, a także w gorzkiej czekoladzie i kakao [4]. Mogą występować w drewnie, korze, korzeniach, liściach, owocach oraz galasówkach. Gromadzą się głównie w wakuolach i wosku powierzchniowym, tak umiejscowione nie oddziałują na metabolizm rośliny, aż do chwili uszkodzenia jej tkanek.

Najważniejsza rola tanin wiąże się z zabezpieczeniem roślin przed patogenami, roślinożercami i niekorzystnymi warunkami środowiska [5]. Dobrze udokumentowana jest ich aktywność przeciwdrobnoustrojowa. Taniny, szczególnie skondensowane, są toksyczne dla wielu grzybów, bakterii i wirusów i mało podatne na rozkład mikrobiologiczny; opóźniają przez to proces rozkładu materii organicznej. Mechanizm toksyczności tanin obejmuje ich właściwości ściągające, co pozwala im tworzyć kompleksy z enzymami lub substratami, działanie na błonę komórkową mikroorganizmów i możliwość wiązania jonów metali. Taniny nadają cierpki, ściągający smak, m.in. niedojrzałym owocom, herbacie, winu, piwu i ziarnu kakaowemu, występując zaś w łodygach i liściach powodują, że te części roślin są mniej smaczne dla roślinożerców. Charakterystyczna cierpkość jest wynikiem tworzenia kompleksów tanin z białkami, a szczególnie bogatymi w prolinę białkami śliny i błon śluzowych zwierząt [5].

Taniny zaliczane są także do substancji antyżywnościowych, co wynika przede wszystkim z ich zdolności do tworzenia kompleksów z różnymi makromolekułami. Duża zawartość garbników, a w szczególności tanin skondensowanych powoduje obniżenie spożycia produktów spożywczych wywołane pogorszeniem smaku (wspomniana już interakcja tanin z białkami śliny) oraz zmniejszenie wartości odżywczej poprzez obniżenie strawności zawartych w nich białek i węglowodanów spowodowane ich skompleksowaniem. W warunkach *in vitro* taniny hamują aktywność enzymów trawiennych i enzymów mikroorganizmów żwacza [5].

W przewodzie pokarmowym produkty rozkładu tanin hydrolizujących są toksyczne i powodują zatrucia u ludzi i zwierząt. Taniny wykazują również działanie toksyczne i bakteriostatyczne w stosunku do mikroflory żwacza. Zostało to opisane dla kilku gatunków, takich jak *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrisolvens* i *Ruminobacter amylophilus*. Taniny wpływają ponadto na biologiczną dostępność witamin (m. in. A i B12) i związków mineralnych. Wykazano, że tworzą nierozpuszczalne kompleksy z żelazem

i wskutek tego, na przykład spożywanie nadmiernych ilości herbaty może prowadzić do wystąpienia anemii spowodowanej zmniejszeniem przyswajalności żelaza [5].

Należy wszakże podkreślić, że wszystkie wymienione konsekwencje występują tylko w sytuacji wysokiego poziomu tanin w diecie. Przy przeciętnej, zbilansowanej diecie bogatej w białko i mikroelementy, negatywne efekty nie mają znaczącego wpływu na nasz organizm. Ponadto ssaki, podobnie jak mikroorganizmy, wykształciły wiele mechanizmów obronnych pozwalających im przystosować się do stosunkowo dużych ilości tanin w pożywieniu. Niewielka ilość tanin może nawet wpływać korzystnie, np. na wzrost i kondycję przeżuwaczy, a nawet ludzi. Okazuje się, że związki te mogą chronić przed różnego rodzaju nowotworami, a także spowalniać tempo podziału komórek rakowych. Wykazują aktywność przeciwbakteryjną i są w stanie modyfikować mikroflorę jamy ustnej i jelit eliminując organizmy patogenne. Silne działanie przeciwutleniające tanin powoduje neutralizację wolnych rodników uszkadzających podstawowe struktury komórek. Aktywność przeciwutleniająca tanin ma duże znaczenie także w przedłużaniu trwałości żywności. Przykładem jest czerwone wino, które dzięki taninom może leżakować wiele lat i nie ulega utlenieniu.

2. Wykonanie ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest oznaczenie substancji antyżywnościowych występujących naturalnie w produktach spożywczych. Ćwiczenie podzielono na dwie części. W pierwszej sprawdzana będzie zawartość szczawianów rozpuszczanych w różnych gatunkach herbat; w drugiej zawartość tanin.

2.1. *Oznaczanie zawartości szczawianów rozpuszczalnych w herbacie*

Celem ćwiczenia jest oznaczenie zawartości szczawianów rozpuszczalnych w naparach herbaty oraz określenie stopnia wiązania wapnia przez kwas szczawiowy.

Materiał do ćwiczeń:

Herbata - różne rodzaje: czarna, czerwona, zielona, ziołowa.

Odczynniki:

5% roztwór chlorku wapnia (CaCl_2),

Aceton,

10% roztwór kwasu siarkowego (H_2SO_4),

0,02 N roztwór nadmanganianu potasowego (KMnO_4). Sposób przygotowania:

Sprzęt:

Biureta – 1 szt.

Probówki wirówkowe poj. 30 ml – 4 szt.

Pipety poj. 5 ml (3 szt.), 10 ml (4 szt.)

Kolby stożkowe poj. 100 ml - – 4 szt.

Zlewki poj. 250 ml – 1 szt.

Sączki bibułowe

Lejki szklane – 4 szt.

Bagietki szklane – 4 szt.

Aparatura:

Łaźnia wodna o temperaturze 100°C – 1 szt.

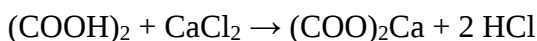
Wirówka – 1 szt.

Waga techniczna – 1 szt.

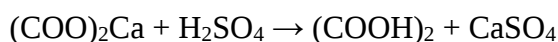
Zasada metody:

Szczawiany rozpuszczalne wmywane są z produktu wodą na gorąco, a szczawiany ogółem roztworem kwasu solnego. Oznaczenie polega na:

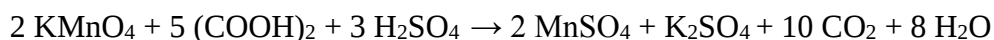
1. Wytrąceniu nierozpuszczalnego szczawianu wapnia w postaci osadu buforowym 5% roztworem CaCl_2 :



2. Rozpuszczeniu na gorąco szczawianu wapnia w 10% roztworze kwasu siarkowego:



3. Miareczkowaniu na gorąco 0,02 M KMnO_4



Wykonanie oznaczenia:

Odważyć na wadze technicznej 4 g herbaty. Zalać 100 ml wrzącej destylowanej wody. Odczekać 5 min. Następnie napar przesączyć, 10 ml naparu przenieść do probówki wirówkowej. Dodać 5 ml 5% roztworu CaCl_2 i 5 ml acetonu, wymieszać. Wstawić do lodówki na 30 min. Powstały osad szczawianu wapnia odwirować w wirówce przy 3000 obr./min. przez 10 min. Płyn znad osadu wylać, a osad przenieść ilościowo do kolby stożkowej poj. 100 ml za pomocą 5 ml 10% kwasu siarkowego i rozpuścić na gorąco w łaźni wodnej. Miareczkować natychmiast (na gorąco) 0,02 N roztworem nadmanganianu potasowego do uzyskania różowej barwy, utrzymującej się ok. 1 min.

Na podstawie uzyskanych wyników:

- Obliczyć ilość rozpuszczalnego kwasu szczawiowego w 100 g produktu przyjmując, że 1 ml 0,02 N KMnO_4 odpowiada 0,90 mg $(\text{COOH})_2$
- Podać jaka ilość wapnia jest wiązana przez kwas szczawiowy zawarty w naparze przygotowanym z 4 g badanego produktu, przyjmując, że 90 mg kwasu szczawiowego wiąże 40 mg wapnia.
- Podać, ile mleka należy dodać do naparu sporządzonego z 4 g produktu, aby wapń zawarty w mleku związał rozpuszczalny kwas szczawiowy z naparu (100 g mleka zawiera 120 mg wapnia).
- Otrzymane wyniki przedyskutować z danymi literaturowymi, zwracając szczególną uwagę na różnice w zawartości kwasu szczawiowego w różnych gatunkach herbat.

- Zaproponować sposoby zmniejszania antyodżywczej działalności kwasu szczawiowego.

Wyniki przedstawić w tabeli:

Produkt	Zawartość kwasu szczawiowego [mg/100g]	Ilość wapnia wiązane przez kwas szczawiowy w naparze otrzymanym z 3 g produktu

2.2. *Oznaczanie zawartości tanin w herbacie*

Celem ćwiczenia jest oznaczenie zawartości tanin w naparach różnych herbaty za pomocą analizy miareczkowej [6]. Zasada oznaczania oparta jest na metodzie AOAC [7].

Materiał do ćwiczeń:

Herbata - różne rodzaje: czarna, czerwona, zielona, ziołowa.

Odczynniki:

Roztwór żelatyny. Sposób przygotowania: 25 g żelatyny wytrząsać przez 1 godzinę z nasyconym roztworem NaCl. Następnie całość ogrzewać do rozpuszczenia żelatyny, schłodzić i uzupełnić nasyconym roztworem NaCl do 1 litra.

Roztwór barwnika indygo-karmina

Nasycony zakwaszony roztwór NaCl. Sposób przygotowania: 25 ml stężonego kwasu siarkowego dodać do 975 ml nasyconego roztworu NaCl.

0,02 N roztwór nadmanganianu potasowego (KMnO₄)

Sproszkowany kaolin.

Sprzęt:

Biureta – 1 szt.

Pipety poj. 5 ml (4 szt.)

Cylinder miarowy 15 ml - 1 szt.

Cylinder miarowy 500 ml - 1 szt.

Kolby stożkowe poj. 1000 ml - 4 szt.

Kolby stożkowe lub zlewki poj. 100 ml - 4 szt.

Filtry strzykawkowe - 4 szt.

Wytwarzanie naparów herbaty

Wykorzystać przesączone napary herbat uzyskane w ćwiczeniu 2.1.

Oznaczanie zawartości tanin w herbacie

Pobrać 5 ml przesączonego naparu herbacianego i przenieść do kolby stożkowej pojemności 1000 ml. Dodać 12,5 ml roztworu barwnika indygo-karmina oraz 375 ml wody destylowanej. Uzyskany roztwór miareczkować za pomocą mianowanego roztworu 0,02 N KMnO₄. Zabarwienie roztworu

miareczkowanego zmieniać się będzie od niebieskiego, poprzez żółty do jasnoróżowego (koniec miareczkowania). Objętość roztworu 0,02 M KMnO_4 „Y” ml zużyta podczas tego miareczkowania odpowiada całkowitej zawartości tanin oraz związków o podobnych właściwościach.

Aby oznaczyć zawartość związków o podobnych właściwościach ale nie tanin, należy pobrać 10 ml naparu herbacianego i przenieść do kolby stożkowej pojemności 1000 ml. Dodać 5 ml roztworu żelatyny, 10 ml zakwaszonego roztworu NaCl oraz 1 g sproszkowanego kaolinu. Mieszaninę należy wytrząsać przez 15 min i przefiltrować przez filtr strzykawkowy. Do 12,5 ml tak uzyskanego filtratu dodać 12,5 ml roztworu barwnika indygo-karmina oraz 375 ml wody destylowanej. Roztwór miareczkować za pomocą mianowanego roztworu 0,02 N KMnO_4 do jasnoróżowego (koniec miareczkowania; „X” ml).

Objętość roztworu 0,02 N KMnO_4 zużytą do zmiareczkowania tanin wyznaczyć bazując na wartościach Y i X.

Zawartość tanin obliczyć na podstawie następujących zależności:

1 ml 0,02 N KMnO_4 odpowiada 0,595 ml 0,1 N roztworu kwasu szczawiowego

1 ml 0,1 N roztworu kwasu szczawiowego odpowiada 0,0042 g tanin

3. Literatura

- [1] Anna Brzozowska (Red): *Toksykologia żywności. Przewodnik do ćwiczeń*. Wydanie IV uzupełnione. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 2010.
- [2] Ćwiczenie nr 4. Naturalne substancje antyodżywcze w produktach spożywczych. Dostęp on-line: http://www.farmacja.umed.wroc.pl/sites/default/files/farmacja/files/Toksyk_Cwiczenie_4.pdf (data dostępu 31.01.2017).
- [3] Monika Michalak-Majewska: analiza zawartości szczawianów w popularnych naparach herbat i kaw. *Bromat. Chem. Toksykol.* – XLVI(1) 74-79, 2013.
- [4] Doceńmy cierpki smak tanin. Dostęp on-line: <http://naukawpolsce.pap.pl/aktualnosci/news.395568.docenmy-cierpki-smak-tanin.html> (data dostępu 31.01.2017).
- [5] Małgorzata Pleszczyńska, Janusz Szczodrak: Taniny i ich rozkład enzymatyczny. *Biotechnologia* 1(68) 152-165, 2005.
- [6] Jyotismita Khasnabis, Chandan Rai, Arindam Roy: Determination of tannin content by titrimetric method from different types of tea. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(6) 238-241, 2015.
- [7] AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Analytical Chemists, Arlington, USA, 1980.