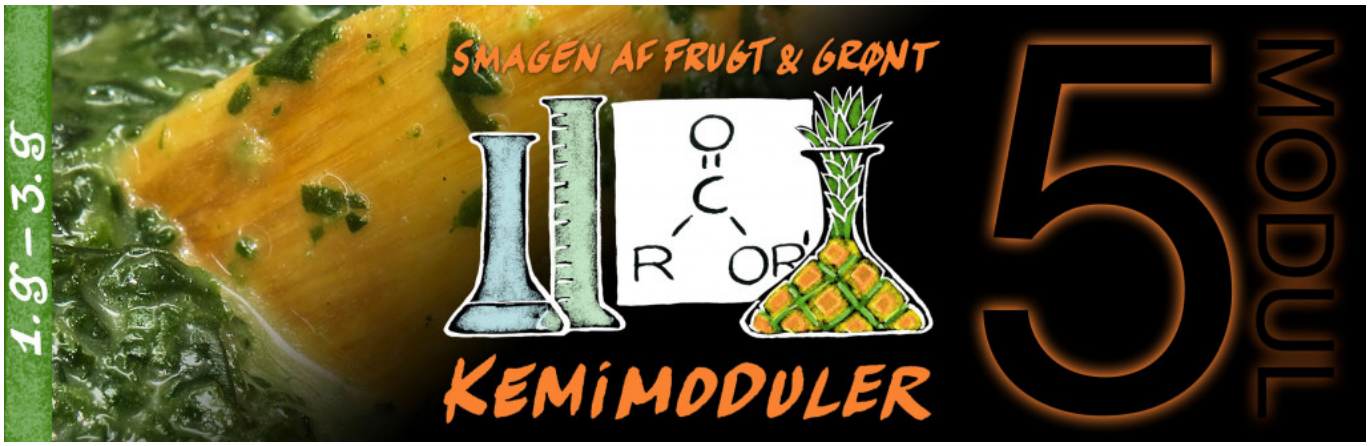
Analyse af farvestoffer i fødevarer

Forfattere: Lone Berg
Redaktør: Thomas Brahe



Introduktion:
Der arbejdes med elevernes forståelse af, hvordan man kan analysere, hvilken farve der er i stoffet. I denne forbindelse skal de bl.a. selv lave en øvelsesvejledning.

Aktivitet med dialogoplæg og billeder

1	Lærergennemgang af analyse af koncentration af farvestof og type farvestof (15 min.). Faglige begreber: Lys, absorbans, absorbansspektrum, Lambert-Beers lov.
2	Gruppearbejde starter. A. Opsamling på arbejdsspørgsmål til artiklen "Naturlige farvestoffer i fødevarer" (10 min.)

NORDEA FONDEN
Vi støtter gode liv



Download artiklen her.

Noter:

1. Hvad er farven på frugt og grøntsager afhængig af?
2. Hvad er fordelen ved at bruge HPLC til at bestemme mængden af anthocyanin i en fødevare fremfor f.eks. at bruge et spektrofotometer?
3. Hvorfor kan det være svært at forudse farven af en fødevare, hvis den tilsættes anthocyaniner?

3 Gruppearbejde fortsætter.

B. Besvarelse af eksamensopgave om "Chlorofyl i spinat" (30 min.).


Forløb: Smagen af frugt og grønt: Smagsbegrebet undersøgt og overvejet
Modul 5 (kemi): Analyse af farvestoffer i fødevarer
Forfatter: Lone Berg
Side: 1/3

Øvelse:
Chlorofyl i spinat

Spinats grønne farve skyldes chlorophyl, som findes i flere varianter, bl.a. chlorophyl a og chlorophyl b. Chlorophyl spiller en afgørende rolle i fotosyntesen, hvor chlorophyl a og chlorophyl b absorberer ved lidt forskellige bølgelængder og har forskellige roller i omdannelsen af carbondioxid og vand til glucose og dioxygen.

Nedenfor ses strukturen af chlorophyl b.

[Download øvelsesarket her](#).

[Download ark med besvarelser her](#).

4	Gruppearbejde afsluttes. C. Udarbejdelse af øvelsesvejledning til bestemmelse af chlorofylindholdet i spinat (30 min.).
5	Opsamling på klassen (5 min.).

Forberedelser

For eleverne gælder:

- Læs artiklen "Naturlige farvestoffer i fødevarer".
- Læs s. 183-188 i Basiskemi B

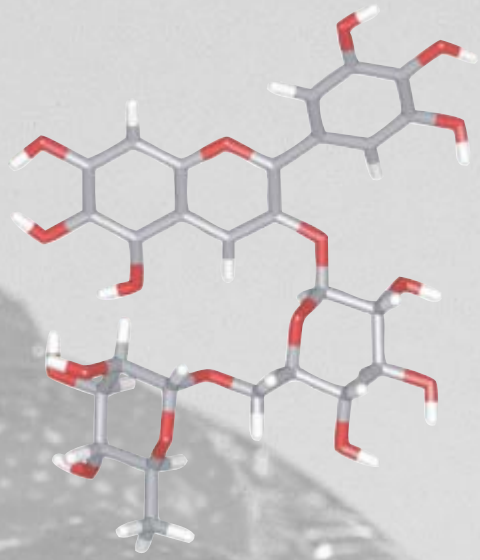
Kopiark

Kopiark:

Naturlige farvestoffer i fødevarer.pdf
Kopiark - Øvelse - Modul 5 Kemi - Smagen af frugt og grønt.pdf
Chlorophyl i spinat besvarelse.pdf

Grøn Viden

Markbrug nr. 255 • Maj 2002



Naturlige farvestoffer i fødevarer

Rikke Nørbæk, Afdeling for Prydplanter og Vegetabilske Fødevarer

Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri
Danmarks JordbrugsForskning

Forsidefigur: 3-D struktur af anthocyanin

Der er farvestoffer i alle spiselige planter og de har stor indflydelse på vores oplevelse af maden. Anthocyaniner hører til blandt en gruppe af farvestoffer kaldet flavonoiderne og kendes som de røde og blå farver i frugt og grønsager. Vi bruger bl.a farven som mål for kvaliteten af en vare og det er på mange måder anthocyaniner, som er den egentlige inspirationskilde til den kunstige farvetilsætning i madvarer.

Anthocyaniner er antioxidanter og anses af nogle for at have potentielle positive helseeffekter. Hver dag indtager vi et stort udvalg af disse gennem mad og drikke, men de kemiske forbindelser bag den farve vi ser og indtager er ukendte for de fleste.

Naturlige farvestoffer

Der findes 4 grupper af naturlige farvestoffer i frugt og grønt: Anthocyaniner (røde/blå), se figur 1, og andre flavonoider (gule/farveløse), karotenoider (gule/orange/røde), betalainer (røde/gule) og klorofyl (grønne). Anthocyaniner er den mest udbredte gruppe af røde, blå og violette pigmenter. For eksempel er mange bær, æbler, rødkål, rødløg, frugtsaft og rødvin farvet, fordi de indeholder anthocyaniner, se foto 1. Det er særlige karotenoider, som giver anledning til rødfarvning i tomater og paprika, men langt mere udbredt er de orangegule karotenoider, som eksempelvis er tilstede i gulerødder og kartofler. Betalainer er en anden type naturlige røde farvestoffer. De findes i rødbeder, rød spinat og kaktusfrugt, se figur 2.



Foto 1. Frugt og grønt med indhold af anthocyanin

Struktur og måling

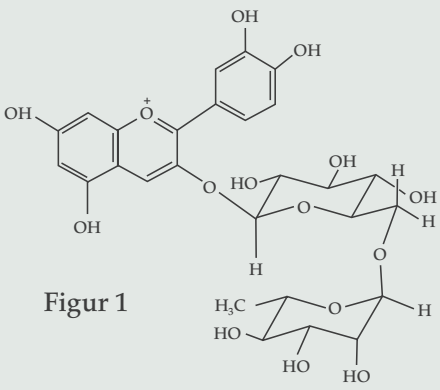
Anthocyaniner er komplicerede polyfenoler og består hovedsageligt af 3 enheder:
1. aglykon (anthocyanidin),
2. sukker(e)
3. og ofte syrer, se figur 1.

Farven på frugt og grønsager afhænger af pH og koncentrationen og samspillet mellem anthocyaniner og andre forbindelser (co-pigmenter), som forekommer i plantecellerne. Variation af pH og i indhold af co-pigment betyder, at måling af farven i sig selv ofte ikke er velegnet til bestemmelse af mængden af anthocyanin i en fødevare. Man bør derfor i stedet benytte nyere metoder såsom højtryksvæskekromatografi (HPLC).

Ved HPLC fremkommer anthocyaninerne som separate toppe på et kromatogram. Hvert farvestof vises som en top med en bestemt placering og farve, og størrelsen af toppen viser, hvor meget der er af stoffet, se figur 3.

Indhold af anthocyanin i frugt og grønsager

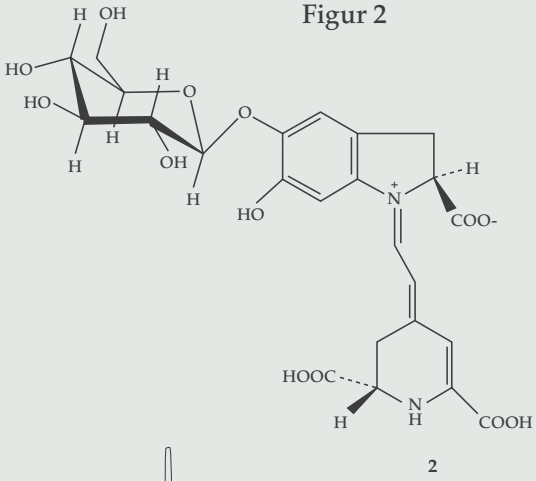
Der findes få undersøgelser som omhandler, hvor store mængder anthocyaniner og andre flavonoider vi spiser og resultaterne stemmer dårligt overens specielt fra ældre undersøgelser fra før det blev almindeligt at benytte HPLC. Selvom der findes mængder af data, der viser indholdet af anthocyanin i de enkelte fødevarer, er disse bestemmelser usikre og i nogen tilfælde modstridende. Solbær, blåbær, jordbær, brombær, hyldebær og surkirsebær regnes for at være gode anthocyanin-



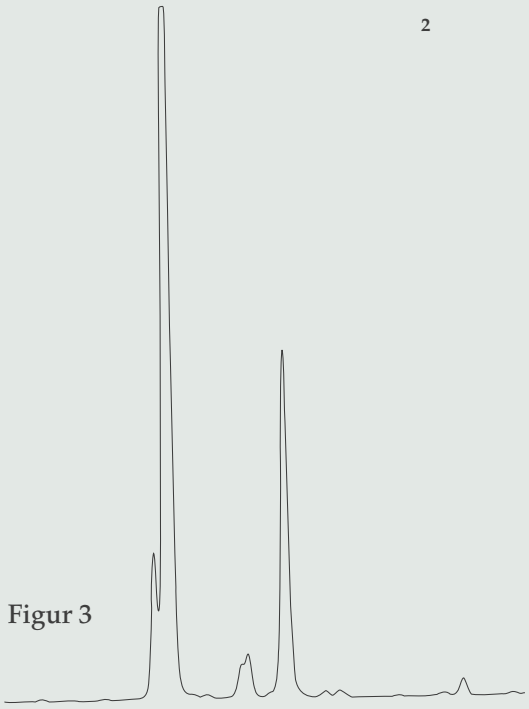
Figur 1

1

Figur 2



2



Figur 3

Figur 1. Et almindeligt forekommende anthocyanin i frugt og bær er cyanidin 3-rutinosid

Figur 2. beta-karoten fra gulerod (1), betanin fra rødbede (2)

Figur 3. Udsnit af HPLC kromatogram, der viser fordelingen af anthocyaniner i surkirsebær

Grøn Viden indeholder informationer fra Danmarks JordbrugsForskning.

Grøn Viden udkommer i en mark-, en husdyr- og en havebrugsserie, der alle henvender sig til konsulenter og interesserede jordbrugere.

Abonnement tegnes hos
Danmarks JordbrugsForskning
Forskningscenter Foulum
Postboks 50, 8830 Tjele
Tlf. 89 99 16 15 / www.agrsci.dk

Prisen for 2002:
Markbrugsserien kr. 225, husdyrbrugsserien og havebrugsserien kr. 125.

Adresseændringer meddeles særskilt til postvæsenet.

Michael Laustsen (ansv. red.)
Anders Correll (redaktør)

Layout:
Ulla Nielsen og Jette Ilkjær

Tryk: Rounborgs grafiske hus

ISSN 1397-985X

NORDISK MILJØMÆRKNING 541-443

kilder sammen med grønsager som rødkål og rødløg. Frugtsaft og rødvin kan indeholde høje koncentrationer af anthocyaniner og andre flavonoider.

Anthocyaniner og sundhed

Det har længe været kendt, at bestemte befolkninger har mindre forekomst af hjerte- og kar-sygdomme, end man ville forvente ud fra fedtindholdet i kosten (det franske paradoks). Nogle forskere mener, at dette skyldes en antioxidativ effekt af indholdet af anthocyaniner og andre fenoliske forbindelser i rødvin. Dog har mange forsøg på at bekræfte denne antagelse endnu ikke påvist, at anthocyaniner påvirker sundhed eller overhovedet bliver optaget i kroppen i noget væsentligt omfang. Men der er enighed om, at frugt og grønsager generelt gavner sundheden, så når anthocyaniner med tiltrækkende farver får os til at spise mere af de sunde fødevarer, bidrager de i hvert fald til en sundere kost.

Udseendet er vigtigt for æblevalget

Når forbrugeren skal vælge en æblesort spiller farven en stor rolle. Farven forbindes med spisekvaliteten, således at en given farve medfører en speciel forventning til smag, sprødhed og saftighed. Vi har vist, at mange danske børn fortrækker æbler med en klar farve enten røde eller grønne. Derimod fandt kun en mindre gruppe børn, at mørkerøde/vinrøde æbler var attraktive og ligeledes havde gule, ikke skinnende æbler mindre appeal til børn.

Anthocyaniner som farvetilsætning i madvarer

Hovedformålet med tilsætning af farvestoffer til fødevarer er at gøre produktet mere attraktivt. Syntetiske farvestoffer er billige at producere i store mængder og ofte mere stabile end de fleste naturlige farvestoffer. Specielt for anthocyaniner kan det være svært at forudsige farven ved tilsætning til en fødevare, pga. pH-afhængighed og co-pigmentering. De seneste år er interessen for at erstatte de kunstige produkter med naturlige farvestoffer vokset, da der er stigende ønske blandt forbrugere for at undgå brugen af syntetiske farvestoffer. Der findes markedsførte anthocyaninholdige ekstrakter af f.eks. drueskaller, hyldebær, blå/sorte gulerødder, rødkål og radiser. Anthocyaniner i fødevarer har E-værdi 163.

Konklusion

- Anthocyaniner er de mest udbredte røde og blå farvestoffer i naturen. De kan måles ved højtryksvæskekromatografi (HPLC).
- Anthocyaniner findes i grønsager, frugt og bær.
- Der findes ikke mange sikre data omkring vores daglige indtag af anthocyaniner.
- Kvantitative bestemmelser viser stor variation af anthocyanin-indhold inden for frugt og grønt.
- Som farvetilsætning i madvarer har anthocyaniner E-nummer 163.

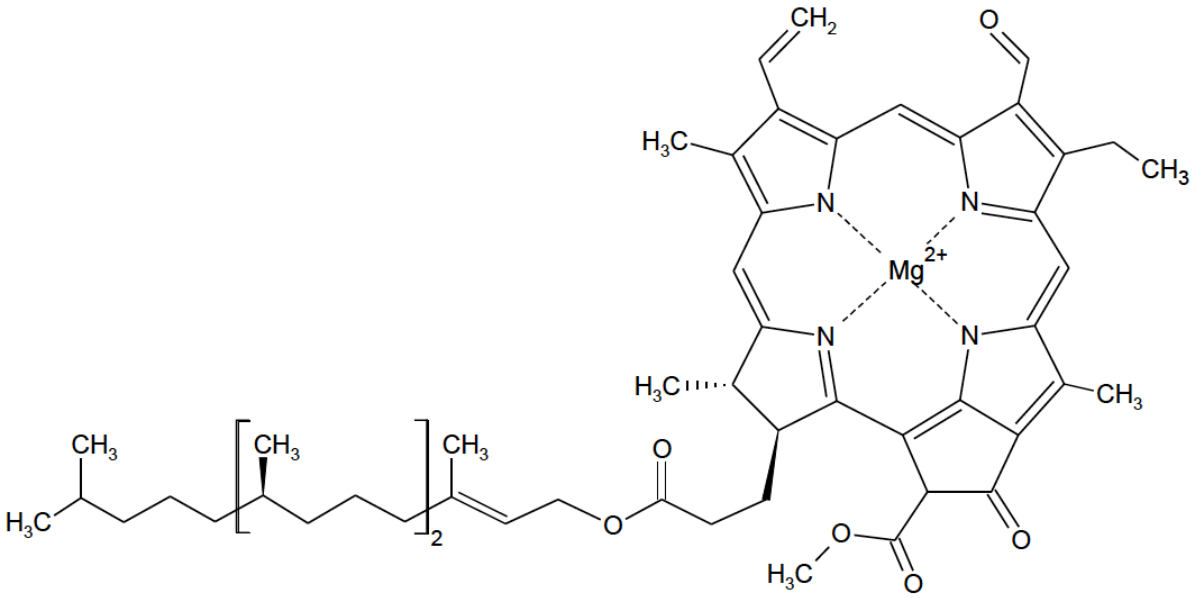


Øvelse: Chlorofyl i spinat



Spinats grønne farve skyldes chlorophyl, som findes i flere varianter, bl.a. chlorophyl a og chlorophyl b. Chlorophyl spiller en afgørende rolle i fotosyntesen, hvor chlorophyl a og chlorophyl b absorberer ved lidt forskellige bølgelængder og har forskellige roller i omdannelsen af carbondioxid og vand til glucose og dioxygen.

Nedenfor ses strukturen af chlorophyl b.



chlorofyl b

M = 907,47g/mol

Chlorophyl a adskiller sig kun ganske lidt fra chlorophyl b. Den molare masse for chlorophyl a er 893,49 g/mol.

a) Marker alle de oxygenholdige funktionelle grupper i chlorophyl b. Angiv, hvilke stofklasser de tilhører. Benyt bilag 3.

I et laboratorium skal indholdet af chlorophyl a og chlorophyl b bestemmes ved spektrofotometri.

Først fremstilles en række standardopløsninger af chlorophyl b opløst i acetone. Absorbansen af standardopløsningerne måles i et spektrofotometer ved bølgelængden 645 nm. Kuvettebredden er 1,00 cm.

NORDEA FONDEN
Vi støtter gode liv

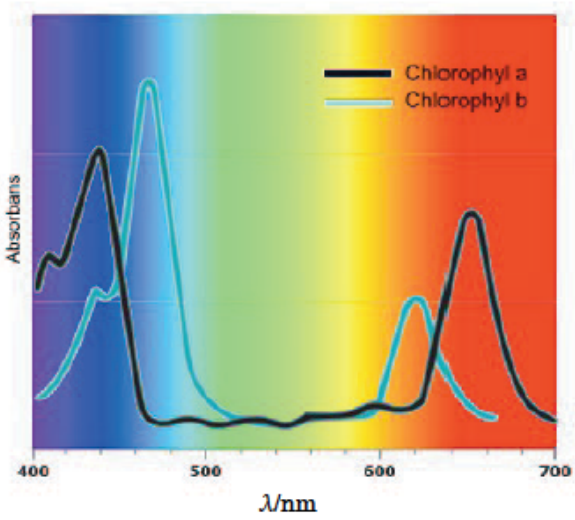
Standardopløsningernes koncentrationer og de målte absorbanser ses i tabel 1.

Tabel 1:

c(chlorophyl b)/ μM	5	10	15	20	25
Absorbans	0,208	0,416	0,621	0,828	1,035

b) Vis, at den molare absorptionskoefficient for chlorophyl b ved 645 nm er $4{,}13 \cdot 10^4\ M^{-1} \cdot cm^{-1}$.

Absorptionsspektrene for chloro- phyl a og chlorophyl b overlapper hinanden, som det fremgår af fi- guren.



Derfor bestemmes de molare absorptionskoefficienter for chlorophyl a ved 645 nm og ved 663 nm og for chlorophyl b ved 663 nm på samme måde, som beskrevet ovenfor.

Resultaterne er vist i tabel 2.

Tabel 2:

λ/nm	ε(chlorophyl a)/($M^{-1} \cdot cm^{-1}$)	ε(chlorophyl b)/($M^{-1} \cdot cm^{-1}$)
645	$1{,}50 \cdot 10^4$	$4{,}13 \cdot 10^4$
663	$7{,}33 \cdot 10^4$	$8{,}41 \cdot 10^3$

2,00 g frisk spinat ekstraheres med acetone, og ekstraktet overføres til en 100 mL målekolbe, hvorefter der fyldes op til stregen med acetone. Ekstraktet indeholder en blanding af chlorophyl a og chlorophyl b.

Absorbansen af spinatekstraktet måles ved de to bølgelængder, og resultaterne er vist i tabel 3. Absorbansen fra chlorophyl i spinatekstraktet er summen af absorbanserne fra chlorophyl a og chlorophyl b.

Tabel 3:

λ/nm	A
645	0,469
663	0,998

c) Marker alle de oxygenholdige funktionelle grupper i chlorophyl b. Angiv, hvilke stofklasser de tilhører. Benyt bilag 3.

NORDEA FONDEN
Vi støtter gode liv

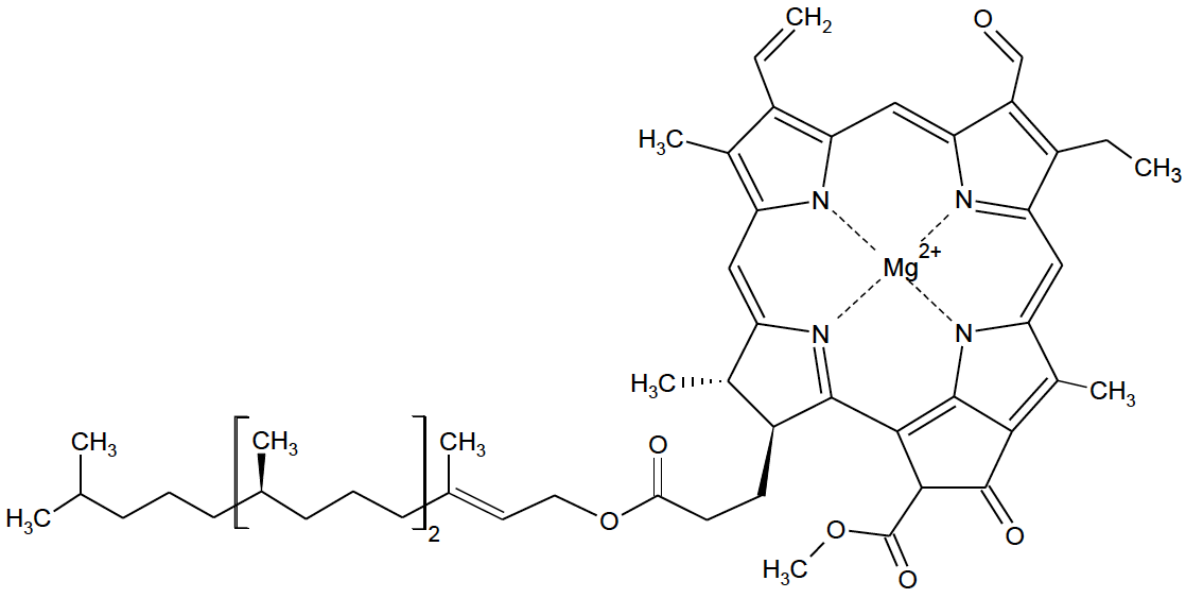
Bilag 3

Ark nr. _____ af i alt _____ ark

Navn: _____

Klasse: _____

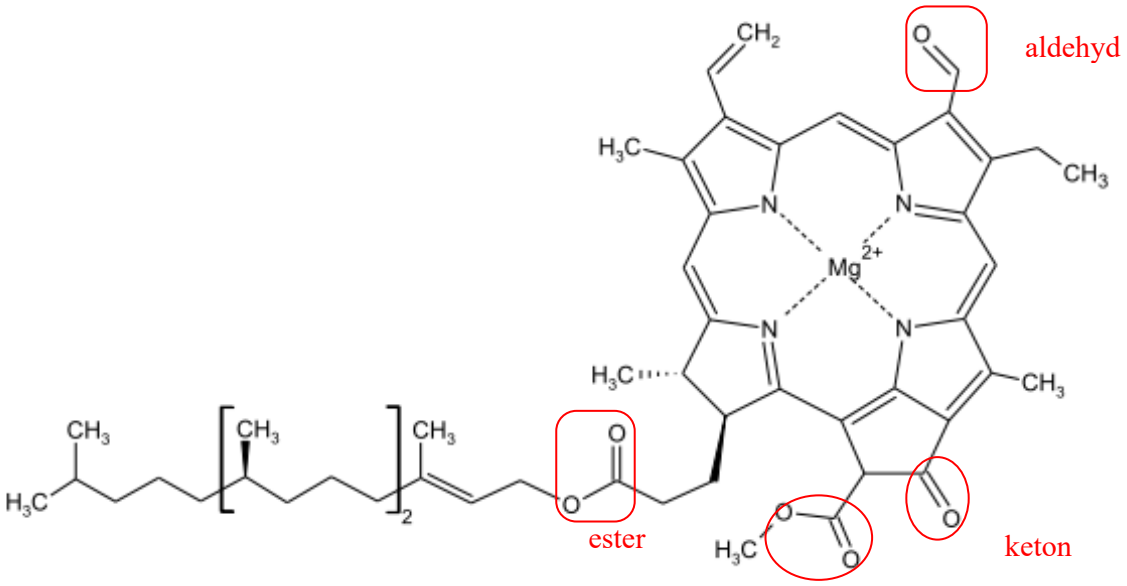
Skole/kursus: _____



chlorofyl b

OPGAVE 4 Chlorofyl i spinat

Nedenfor ses strukturen af chlorophyl b.



chlorophyl b

M = 907,47 g/mol

Chlorophyl a adskiller sig kun ganske lidt fra chlorophyl b. Den molare masse for chlorophyl a er 893,49 g/mol.

a) Marker alle de oxygenholdige funktionelle grupper i chlorophyl b.
Angiv, hvilke stofklasser de tilhører.
Benyt bilag 3.

Er gjort på molekylet ovenfor.

I et laboratorium skal indholdet af chlorophyl a og chlorophyl b bestemmes ved spektrofotometri.

Først fremstilles en række standardopløsninger af chlorophyl b opløst i acetone. Absorbansen af standardopløsningerne måles i et spektrofotometer ved bølgelængden 645 nm. Kuvettebredden er 1,00 cm.

Standardopløsningernes koncentrationer og de målte absorbanser ses i tabel 1.

Tabel 1

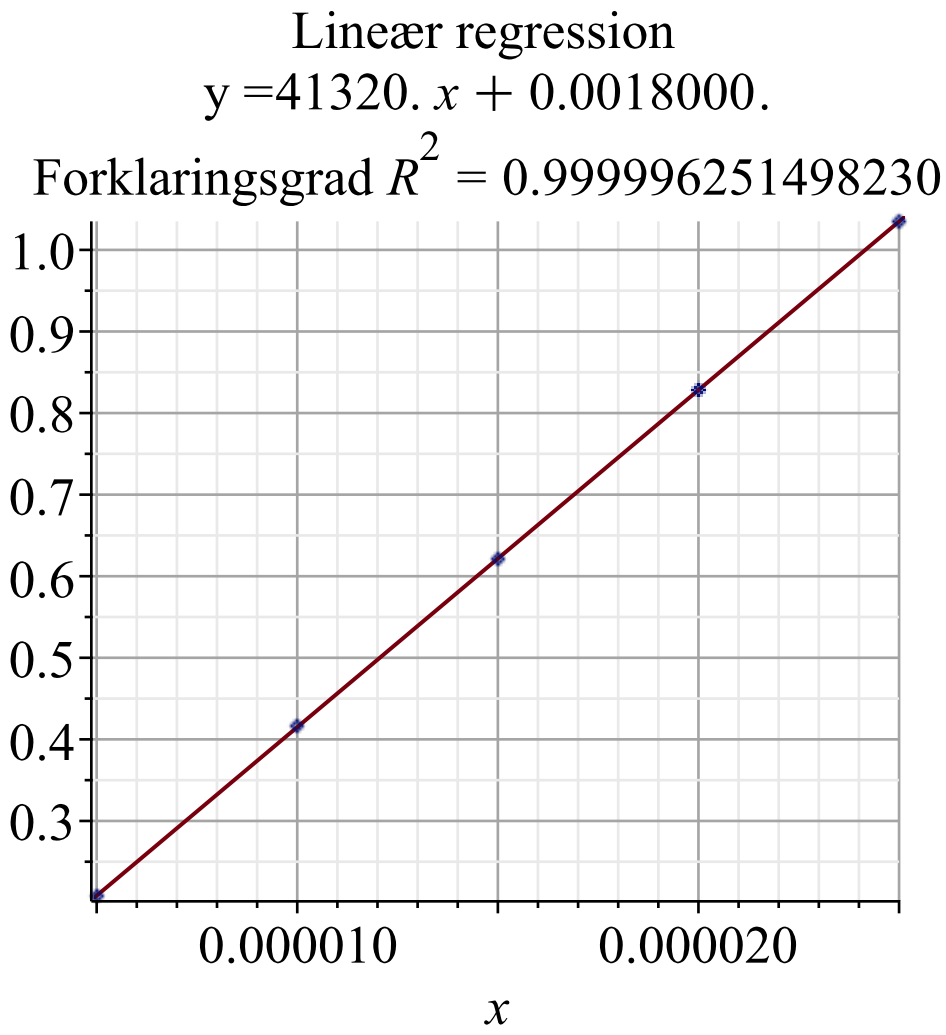
c(chlorophyl b)/ μM	5	10	15	20	25
Absorbans	0,208	0,416	0,621	0,828	1,035

b) Vis, at den molare absorptionskoefficient for chlorophyl b ved 645 nm er $4{,}13 \cdot 10^4\ \mathrm{M^{-1} \cdot cm^{-1}}$.

Ifølge Lambert-Beers lov gælder
$A = \varepsilon_\lambda \cdot [S] \cdot l$, hvor l er kuvettebredden, [S] er den aktuelle stofmængdekoncentration og A er absorbansen.
Der er ligefrem proportionalitet mellem koncentrationen af stoffet og absorbansen. Idet kuvettebredden er 1,00cm svarer den molare absorptionskoefficient ε_λ til hældningskoefficientens talværdi, der fås ved proportionel regression på dataene.

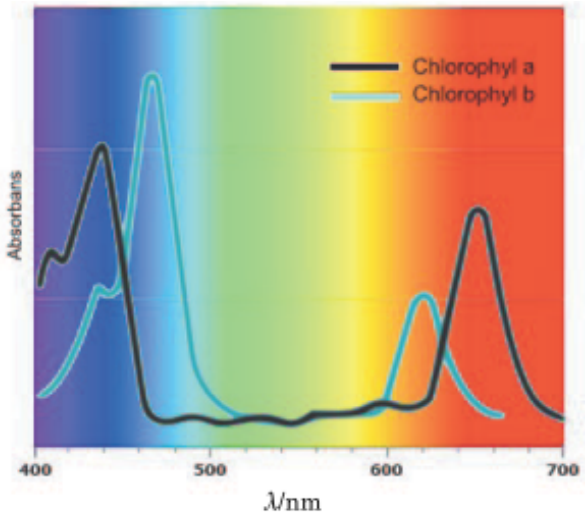
$with(Gym)$:

$L1 := [5 \cdot 10^{-6}, 10 \cdot 10^{-6}, 15 \cdot 10^{-6}, 20 \cdot 10^{-6}, 25 \cdot 10^{-6}]$:
$L2 := [0.208, 0.416, 0.621, 0.828, 1.035]$:
$LinReg(L1, L2)$



og dermed er den molare absorptionskoefficient lig $4{,}132 \cdot 10^4\, M^{-1} \cdot cm^{-1}$.

Absorptionsspektrene for chlorophyl a og chlorophyl b overlapper hinanden, som det fremgår af figuren.
Derfor bestemmes de molare absorptionskoefficienter for chlorophyl a ved 645 nm og ved 663 nm og for chlorophyl b ved 663 nm på samme måde, som beskrevet ovenfor.
Resultaterne er vist i tabel 2.



Tabel 2

λ/nm	ε(chlorophyl a)/($M^{-1} \cdot cm^{-1}$)	ε(chlorophyl b)/($M^{-1} \cdot cm^{-1}$)
645	$1{,}50 \cdot 10^4$	$4{,}13 \cdot 10^4$
663	$7{,}33 \cdot 10^4$	$8{,}41 \cdot 10^3$

2,00 g frisk spinat ekstraheres med acetone, og ekstraktet overføres til en 100 mL målekolbe, hvorefter der fyldes op til stregen med acetone. Ekstraktet indeholder en blanding af chlorophyl a og chlorophyl b.

Absorbansen af spinatekstraktet måles ved de to bølgelængder, og resultaterne er vist i tabel 3. Absorbansen fra chlorophyl i spinatekstraktet er summen af absorbanserne fra chlorophyl a og chlorophyl b.

Tabel 3

λ/nm	A
645	0,469
663	0,998

c) Beregn indholdet af chlorophyl a og af chlorophyl b i spinat. Resultaterne skal angives i mg/100 g spinat.

Vi har to sammenhænge givet fra tabel 3, ved 645nm og ved 663 nm. Dette er to ligninger med to ubekendte som løses

$0.469 = 1.50 \cdot 10^4 \cdot c_a + 4.13 \cdot 10^4 \cdot c_b,\ 0.998 = 7.33 \cdot 10^4 \cdot c_a + 8.41 \cdot 10^3 \cdot c_b \xrightarrow{\text{solve}}$

$\{c_a = 0.00001284774606,\ c_b = 0.000006689680608\}$

Resultaterne er angivet i mol/L og skal angives i mg/100g spinat. Volumenet var angivet til 100 mL, så stofmængderne må være

$$n_a := 0.1\ L \cdot 0.00001284774606\ \frac{mol}{L}$$

$$0.000001284774606\ mol \quad \textbf{(1)}$$

$n_b := 0.1\ L \cdot 0.000006689680608\ \frac{mol}{L}$

$$6.689680608\ 10^{-7}\ mol \quad \textbf{(2)}$$

Disse stofmængder var i 2 g spinat, hvorved det må være 50 gange så stort i 100 g spinat

De molare masser er opgivet til $M_a := 893.49\ \frac{g}{mol}$: og $M_b := 907.47\ \frac{g}{mol}$:

Herved er massen af chlorofyl a i 100 g spinat er

$m_a := n_a \cdot M_a \cdot \frac{100\ g}{2\ g}$

$$0.05739666315\ g \quad \textbf{(3)}$$

massen af chlorofyl b er

$m_b := n_b \cdot M_b \cdot \frac{100\ g}{2\ g}$

$$0.03035342230\ g \quad \textbf{(4)}$$

Derved er indholdet af chlorofyl a 57,4 mg/100g spinat og indholdet af chlorofyl b er 30,3 mg/100g spinat.