

Claudia Girnth-Diamba, Karen Lunden, Hanne Thomsen, Liselotte Unger, Lykke Thostrup, Michael Bom Frost, Lone Brinkmann Sørensen, Marie Kielsgaard

CG, Solroed Gymnasium, Solroed Center 2, DK 2680 Solroed Strand, Danmark

Frukt som blir brun – test av några antioxidanter

Vill du ha brun fruktjuice? Vi testar hur några metoder och kemikalier motverkar att frukt och grönsaker blir bruna.

Syfte

Ändamålet med den här laborationen är att undersöka hur man kan undvika att frukt och vissa grönsaker blir bruna. I experimentet skall vi testa hur effektiva tre substanser med antioxidativa egenskaper är. Den mest effektiva substansen är den som redan vid mycket låga koncentrationer motverkar att frukten blir brun. Eftersom den bruna färgen beror på enzymatisk aktivitet undersöker vi även denaturering av enzymet med hjälp av värme.

När växter skadas, t.ex. av insektsbett, kommer växtcellernas innehåll i kontakt med syre i luften. Växtcellerna innehåller fenoler som polymeriseras av aktiva enzymer till bruna substanser som liknar melanin – en polymer som finns i hud hos mörka människor eller i det mörka yttre skelettet (exoskelettet) hos insekter. Reaktionen är beroende av syre som co-faktor. Substanser, som "fångar" syret innan det kan användas av enzymer, kallas för ANTIOXIDANTER.

Introduktion

När växter skadas kommer innehållet i cellerna i kontakt med syre i luften. Syret reagerar med olika ämnen, t.ex. fenoler som finns i cellvakuolen, och enzymer omvandlar dem till en mörk polymer. Reaktionen katalyseras av enzymer som kallas fenolaser (eller fenoloxidaser).

När man framställer juice från växter är denna typ av reaktion inte önskvärd, eftersom vi inte vill dricka brun juice. Den enzymatiska processen som gör juicen brun kan stoppas om man förstör enzymerna genom att koka frukten eller grönsakerna. Man kan också förhindra reaktionen med hjälp av antioxidanter som askorbinsyra (C-vitamin), citronsyra, natriumsulfit eller natriumdisulfat. Antioxidanterna fungerar genom att samla upp syret och reagera med det, innan processen att göra frukten brun, hinner starta.

Det finns emellertid en skillnad mellan att tillsätta antioxidanter till mat för att hålla den fräsch och att äta antioxidanter som kosttillskott. Syre orsakar många olika sorters skador i levande organismer. Syreatomer bildas vid biokemiska reaktioner. Dessa atomer kallas "radikaler" och de kan förstöra organiska ämnen genom

Korrespondens:
E-post: claudia.girnth@newmail.dk

bildandet av farliga peroxider. Den mest kända peroxiden är väteperoxid, H_2O_2 . Enzymet katalas som finns i alla celler förstör väteperoxid genom att omvandla det till vatten och syre. Bildandet av peroxider i levande organismer skadar organiska substanser och kan till och med orsaka cancer.

När matvaror, som består av växter (eller svamp som t.ex. champinjoner), blir bruna är det ett resultat av enzymet fenoloxidas. Hos insekter gör detta enzym insektens cuticula brun och hård och ger på så sätt ett skydd mot UV-ljus. Hos andra djur och människor verkar enzymet i pigmentceller (melanocyter), som finns i huden, och skyddar även här mot skador som kan orsakas av UV-ljus.

Det är annorlunda i växter. Den bruna ytan bildas när växten har skadats. Enzymet fenoloxidas förekommer i cellväggen och när denna skadas kommer fenoloxidaset i kontakt med cellvätskan och den brungörande processen startar – om det finns tillgång till syre. Antioxidanternas uppgift är alltså att fånga upp syret innan det når enzymet. På så sätt motverkas oxidering av fenolerna och processen som gör växtcellen brun avbryts. En teori är att bildandet av melanin i växter skyddar mot bakterie- och svampinfektioner i sår, till skillnad från dess funktion hos djur.

I vissa fall vill vi att växter ska bli bruna. Vi vet att den brungörande processen i tobaksblad som under fermentering orsakas av samma enzymer och ämnen som tidigare beskrivits, ger tobaken sin speciella smak (som vissa av oss uppskattar – trots hälsoriskerna). Den bruna färgen i te är också resultatet av reaktionen mellan fenoloxidas och fenoler, t.ex. tannin.

Material

Skall användas per grupp eller person

Kemikalier:

100 ml av följande lösningar:

- 1 % askorbinsyralösning (C-vitamin)
- 1 % citronsyralösning
- 1 % natriumsulfit, $NaSO_3$ (det går även att använda natriumdisulfid, $Na_2S_2O_5$)

Förbered lösningarna samma dag som de ska användas (koncentrationen är vikt per volym = 1 g i 100 ml vatten). Du kan göra en 10 % stamlösning och späda 10 ml + 90 ml (1 %) samt 1 ml + 99 ml (0.1 %).

Övrigt material

- Äpplen, potatis, bananer och/eller andra färglösa frukter och grönsaker
- 2 bägare (100 ml) av värmetåligt glas, för experiment 1
- 6 plastmuggar (minst 100 ml), för experiment 2
- Ett rivjärn

- Vita plasttallrikar eller vitt hushållspapper
- Kokplatta
- Mätcylinder
- Plastskepar för omrörning
- Kökssil (eventuellt går det att använda en sked istället)

Metod

Några viktiga saker att tänka på:

Proceduren och kemikalierna är beräknade för 1 sorts frukt eller grönsak per person eller grupp. Mängden frukt som behövs är ungefär av samma storlek som 3 pingisbollar. OBS! Blanda till en större volym av lösningarna om en grupp vill undersöka mer än en frukt eller grönsak samtidigt. Använd 10 % stamlösningar – endast 100 ml av en 10 % stamlösning räcker till 8–9 spädningar.

Metod del 1

Deaktivering av enzymer med hjälp av värme

1. Fyll en bägare med 100 ml kallt vatten.
2. Fyll ytterligare en bägare med 100 ml vatten och värm på kokplattan.
3. När vattnet kokar kan du gå vidare till nästa steg.
4. Riv frukten utan att skala den först.
5. Dela upp den rivna frukten i tre lika stora högar, vardera hög ska vara av samma storlek som en pingisboll.
6. Lägg en av frukthögarna i det kokande vattnet och stäng sedan av värmen.
7. Lägg en av de andra frukthögarna i kallt vatten.
8. Lämna frukten i det varma respektive det kalla vattnet i 10 minuter.
9. Lämna den tredje frukthögen orörd på en tallrik.
10. Efter 10 minuter tas den rivna frukten upp ur vattnet med hjälp av en sil eller en sked och placeras på varsin vit papperstallrik eller vitt hushållspapper.
11. Titta efter färgförändringar efter 30, 60 och 90 minuter. Färgförändringen mäts enligt en skala där vitt är 0 och helt brunt är 5.

Metod del 2

Test av tre olika antioxidanter

1. Förbered 6 olika lösningar: en 1 % lösning och en 0,1 % lösning vardera av de tre substanserna.
2. Riv en portion frukt till varje lösning, d.v.s. 6 portioner, och lägg den rivna frukten i de olika lösningarna.
3. Rör runt och vänta 5 minuter.
4. Ta upp den rivna frukten med hjälp av en sked eller en sil, och lägg frukten på en vit papperstallrik eller vitt hushållspapper.
5. Titta efter färgförändringar efter 30, 60 och 90 minuter.
6. Färgförändringen mäts enligt en skala där vitt är 0 och helt brunt är 5.

Resultat

Utvärdera färgförändringen på en skala från 0 till 5 där 0 betyder ingen färgförändring och 5 betyder att frukten är helt brun (riven frukt som bara lämnats i luft i 90 minuter). Om du är osäker på vilken färgförändring som har skett kan du jämföra med en skala som du gör av te, teets färg är nämligen också beroende av polyfenoler.

Du kan också fotografera för senare utvärdering, men kom ihåg att artificiellt ljus i ett laboratorium kan ge ett felaktigt intryck av färgen.

Presentera färgförändringen efter 90 minuter som stapeldiagram där du jämför 0,1 % och 1 % lösningarna. Använd behandling med varmt och kallt vatten samt obehandlad frukt som kontroller.

Resultat del 1

BEHANDLING	30 min	60 min	90 min
Ingen			
10 min i kallt vatten			
10 min i kokande vatten			

Resultat del 2

BEHANDLING	30 min	60 min	90 min
1,0 % citronsyra			
0,1 % citronsyra			
1,0 % askorbinsyra			
0,1 % askorbinsyra			
1,0 % natriumsulfit			
0,1 % natriumsulfit			

Guide till protokollet:

Frukt som blir brun – test av några antioxidanter

Vill du ha brun fruktjuice? Vi testar hur några metoder och kemikalier motverkar att frukt och grönsaker blir bruna.

Pedagogiska tips

Experimentet är relativt enkelt och kräver ingen specifik laboratorievana eller kunskap om kemikalier. Det är dock en fördel om eleverna har fått en introduktion till vad antioxidanter är. Förhoppningen är att experimentet ska leda till en diskussion om antioxidanter som konserveringsmedel i mat och om vilka antioxidanter som är lämpliga att använda. Ytterligare perspektiv kan man få av att diskutera om det är lämpligt att använda antioxidanter för att berika kosten (s.k. functional food).

Diskussion

Låt eleverna söka information om de tre olika substanserna i läroböcker och/eller på internet och diskutera deras egenskaper och möjliga risker med att använda dem som antioxidanter i mat – alla tre är trots allt livsmedelstillsatser, vare sig de är kemikalier eller naturliga substanser.

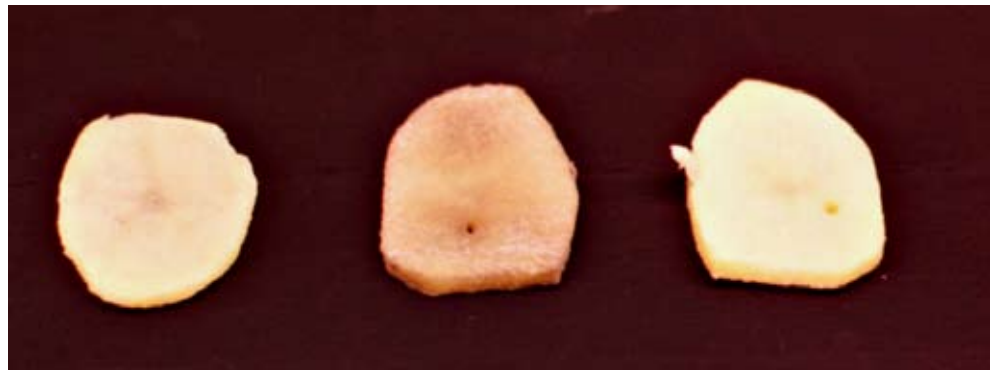
Resultatfigurer

De tre figurerna nedan visar potatis efter olika behandlingar med antioxidanter.

0,1 % askorbinsyra
ljusbrun

0,1 % citronsyra
mörkbrun

0,1 % natriumsulfit
ljus, ingen färgförändring



Slutsats

Följande frågor kan ställas:

1. Vilken substans är bäst på att förhindra att frukten blir brun? Förklara varför.
2. Vilken är den mest hälsosamma substansen att använda, är det samma som i fråga 1? Motivera ditt val.
3. Varför används olika koncentrationer av lösningarna? Kan du förklara detta med dina resultat som referens?
4. Det är möjligt att en av antioxidanterna är ännu effektivare än kokning – försök att förklara detta fenomen.
5. Om du har använt olika sorters frukt, finns det skillnader mellan dem? Om ja, förklara varför.

Ytterligare försök

Det går att testa olika sorters frukt och grönsaker, med undantag för de som är starkt färgade.

Praktiska tips



Säkerhetsföreskrifter

Det föreligger inga särskilda föreskrifter för kemikalierna som används i experimentet. För att vara på den säkra sidan, undvik att äta överbliven frukt – inget ätande i labbet.

Förvaring av material

Alla antioxidanter oxideras snabbt i syre – naturligt. De har ingen lång hållbarhet, framförallt inte C-vitamin. För att vara säker på att de fungerar ordentligt, köp små mängder av askorbinsyra och citronsyra och gör ny lösning några timmar före experimentet.

Bortskaffande av avfall

Packa ner alla rester i en plastpåse, knyt åt ordentligt och släng i soptunna. Lösningarna kan hållas ut i vasken.

Förberedelser och tidsåtgång

Förberedelserna tar 45 minuter och experimentet tar 45 minuter, samt ytterligare 90 minuter för att bedöma hur bruna frukterna blir.

Felsökning

Var försiktig med frukt som innehåller höga halter organiska syror, de kan vara ickereaktiva – testa i god tid före experimentet. Det kan vara svårt att bedöma hur bruna frukterna blir utan att jämföra med ett referenssystem. Eftersom den bruna färgen i te är nästan samma som den i frukt kan man göra ett referenssystem med olika spädningar av te. Använd t.ex. en tepåse som legat 5 minuter i 200 ml kokande vatten som 100 %, och späd till 50 %, 25 %, 10 % och 2 %.

Övrig information

För ytterligare litteratur på engelska och danska, se

www.kvt.dk/forskning/oevelsehaefte.aspx.

Tack

Protokollet togs fram 2005 för lärarutbildning i ett samarbete mellan FaDB (Dansk förening för biologer), Kemiläraryrkesförbundet och Köpenhamns Universitet. Framtagandet av en kurs för lärare sponsrades av Danska utbildningsministeriet (GYM23 Reformprojekt 2004 – projektnummer 107224) som en del av en ny undervisningsreform.

Materialet är baserat på danskt material med namnet "Hvorfor bliver frugten brun og kødet gråt?", skrivet av Claudia Girnth-Diamba, Karen Lunden, Hanne Thomsen, Liselotte Unger, Lykke Thostrup, Michael Bom Frost, Lone Brinkmann Sørensen, Marie Kielsgaard i samarbete med forskare och public relations-personal vid Köpenhamns universitet, avdelningen för Life Science. Författarna tackar universitetet för möjligheten att anpassa materialet för Volvoxprojektet.

Stort tack till våra engelska kollegor för värdefull hjälp med den engelska översättningen. Tack också till Bjørn Fahnøe och eleverna vid Solroedgymnasiet för test och revision av protokollet sedan det publicerats på danska.



Protokollet är en del av Volvoxprojektet (FOOD AND NUTRITION) som bildades under Europeiska Kommissionens Sjätte Ramverksprogram.

Mer om antioxidanter

Oxidativ stress

C-vitamin är ett exempel på en antioxidant. Det finns även antioxidanter som inte är vitaminer. Antioxidanter neutraliserar fria radikaler och annat reaktivt syre, samt kväveföreningar. Dessa ämnen bildas i kroppen vid normala oxidativa, metaboliska processer, t.ex. förbränning av näringsämnen och i samband med sjukdom, rökning, förgiftning, mediciner, vissa typer av mat, alkohol och strålning. Dessa kraftigt reaktiva ämnen kan vara väldigt skadliga. De kan ge förändringar i struktur och funktion av cellmembran, lipoproteiner, proteiner, kolhydrater, RNA och DNA etc. Oxidativ stress kan på så sätt bidra till utveckling av t.ex. hjärt- kärlsjukdomar och cancer. Interaktionen mellan antioxidanter som är vitaminer och icke-vitaminer är viktig för att få en maximal effekt i försvaret mot fria radikaler i kroppen. När antioxidanter interagerar uppstår en synergieffekt, d.v.s. en effekt som är större än summan av effekten av varje enskild antioxidant. Det räcker antagligen inte att äta antioxidanter i tablettform utan det är nödvändigt att äta varierat (se nedan).

Naturliga antioxidanter i maten

- C-vitamin (askorbinsyra) – i frukt och grönsaker
- E-vitamin – i vegetabiliska oljor, nötter, frön, fet fisk, äggula och grova spannmål
- Karotenoider (t.ex. betakaroten) – i röda frukter och grönsaker
- Flavonoider – i gula frukter och grönsaker
- Fytoestrogener – i baljväxter och grova spannmål
- Manganeser – i grönbladiga grönsaker, baljväxter och grova spannmål
- Zink – i kött, mjölkprodukter och grova spannmål
- Selenol – i fisk, skaldjur, ägg och fågel

Fenoloxidaskemi

Enzymet oxiderar t.ex. den essentiella aminosyran tyrosin (kemiskt sett en fenol med OH-grupper på en bensenring) till DOPA (dihydroxyfenolalanin) under upptag av syre. Det tidigare namnet på enzymet var därför tyrosinas. DOPA omvandlas till dopachinon under frisättning av vatten. Förutom tyrosin kan även andra fenoler omvandlas till den här typen av chinoner. Chinoner reagerar vidare i en icke-enzymatisk reaktion till svartbruna högmolekylära ämnen som kallas melaniner. Melaniner är nätverk bestående av tusentals olika chinoner.