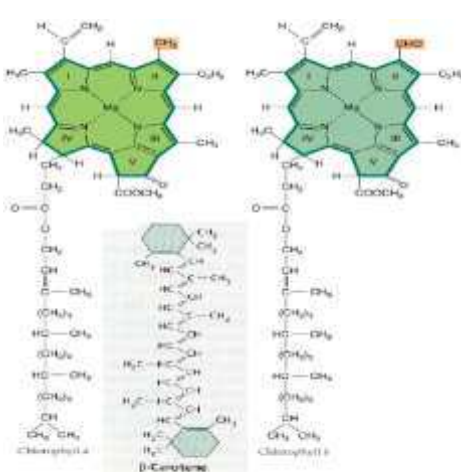


<p>Tema 5</p>	<p>5-FRUTAS Y VERDURAS</p>
<p>Ficha 18</p>	<p>5.1 Separación de los pigmentos vegetales</p>
<p>Material y reactivos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hojas de espinacas • Acetona • Hexano • NaOH 1M • HCl 1M • Tampón pH 7 • Mortero • Buchner • Kitasatos • Tubos de ensayo • Capilares de vidrio • Frascos de vidrio con tapa, (pueden servir botes de vidrio de conservas) <p>Opcional; espectrofotómetro</p>	<p style="text-align: center;">INTRODUCCIÓN</p> <p>El color de las frutas y verduras se deben a los pigmentos vegetales que poseen, entre ellos: las clorofilas, las antocianinas y los carotenos. Todos ellos son grandes moléculas que tienen diferentes funciones en las células vegetales y también tienen diferentes propiedades químicas. Conocerlas nos ayudarán a comprender cuál es la mejor forma de cocinar las verduras.</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;"><small>Fuente: tomada de BUCHSBAUM, GRAYSON & JONES. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Biologists. Rockville, Maryland, USA, 2000.</small></p> <p>La clorofila es una molécula que consta de dos partes. Una es un anillo de átomos de carbono e hidrógeno que tiene un catión magnesio en su centro: ésta es la parte coloreada de la molécula. La segunda está constituida por una cadena de 16 átomos de carbono unidos a átomos de hidrógeno, y no tiene color.</p> <p>La clorofila es una molécula muy sensible a distintas operaciones culinarias. En particular, es sensible a la acción del calor. Esto es debido a que, al calentar las verduras, se produce un daño en las estructuras celulares y provoca que los ácidos que se encuentran presentes de forma natural en el interior de las células entren en contacto con la clorofila, produciendo un cambio en la coloración.</p>

Además, al calentar las verduras se produce otra modificación en la estructura de la clorofila. Uno de los enzimas presentes en las células de los tejidos verdes de las plantas es la clorofilasa. Este enzima rompe la molécula de clorofila por el punto de unión entre las dos partes que hemos descrito. La clorofilasa está normalmente separada físicamente de la clorofila, pero, durante la cocción, al degradarse las estructuras celulares, la clorofilasa y la clorofila entran en contacto.

La parte del anillo, coloreada, es soluble en agua, y esto hace que, durante la cocción, se coloreé el medio acuoso, y que las verduras pierdan intensidad de color.

Los carotenoides son una familia de pigmentos que son los responsables de los colores amarillos y naranjas de muchas flores, frutas y verduras, así como del color rojo de los tomates. Desde el punto de vista químico, los carotenoides se subdividen en dos grupos: los carotenos, que están compuestos únicamente por carbono e hidrógeno, y las xantofilas, que contienen también oxígeno. Entre los carotenos tenemos el beta-caroteno, que da el color naranja al fruto del madroño o a la zanahoria, y el licopeno, responsable del color rojo del tomate. Y, entre las xantofilas, tenemos la zeaxantina, que le da el color amarillo al maíz. Los carotenoides son sustancias solubles en grasas e insolubles en agua. Son relativamente estables frente al tratamiento térmico y, por eso, las carlotas mantienen su color cuando se cuecen en agua. Sin embargo, cuando se hace un sofrito con tomate, el aceite toma un color rojo-naranja debido a la disolución del licopeno.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1- Colocar las hojas de espinacas en un mortero, y añadir 10 mL de acetona, que es el disolvente extractante. Molturar la mezcla hasta que el disolvente adquiera un color verde intenso.

2- Filtrar con un Buchner o decantar.

A-EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

3- Reservar 2 mL del filtrado para la cromatografía en papel y otros 2mL introducirlos en un frasquito o tubo de ensayo. Al frasquito o tubo de ensayo con el extracto de acetona añadir 2 mL hexano, agitar unos segundos y dejar reposar 10 minutos. Se observará que los pigmentos se irán separando según su afinidad por cada uno de los dos disolventes inmiscibles. Si la acetona presenta un color verdoso se vuelve a extraer con hexano.

Opcional: realizar el espectro UV-vis para comprobar las bandas. (Barrido de 400nm a 800nm)

4-Influencia del pH en el cambio de color.

Colocar en tres tubos de ensayo 1mL del extracto de hexano, obtenido de la experiencia anterior y añadir a cada tubo una de las siguientes disoluciones: 1mL de NaOH 1 M, 1 mL de HCl 1 M y 1 mL de disolución tampón pH= 7, agitar comprobar el color.

B-CROMATOGRAFIA EN PAPEL

5- Recortar un rectángulo de papel de filtro de 2 cm x 10 cm, se marca con un lápiz una línea a 1 cm de la base y con ayuda de un capilar se añaden en un mismo punto de la base, 10 gotas del extracto del apartado 3, dejando secar la gota al aire, cada vez que se coloque en el papel, con el fin de que se evapore la acetona.

6- Se introduce el papel, en el frasco de cromatografía o frasco de conservas, que contendrá 10 mL de una disolución 8:2 de hexano: acetato de etilo y se cierra.

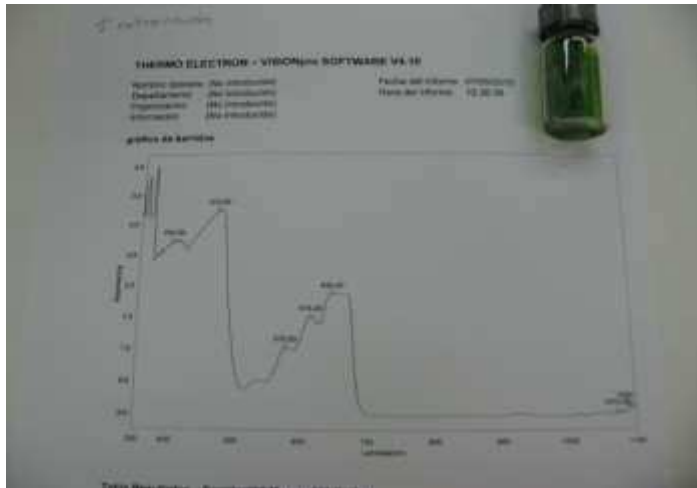
Los pigmentos se separarán según su afinidad con el disolvente

CUESTIONES

- En el apartado 3 después de realizar la extracción líquido-líquido ¿Qué color presenta la acetona y el hexano? ¿Qué pigmentos están disueltos en cada disolvente?
- ¿Hay diferencia de color en los tubos de la experiencia del apartado 4? ¿A qué es debido?
- Busca información sobre el procedimiento de cocción de las verduras y relaciónalo con la experiencia anterior.
- Describe el resultado obtenido en la cromatografía de papel, ¿cuál es la sustancia más apolar y la menos?

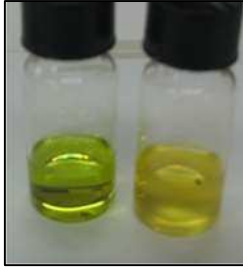
RESULTADOS

a) Las clorofilas son insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos. En esta práctica se utiliza la acetona como disolvente extractante porque extrae todos los pigmentos de la hoja, tanto las clorofilas como los carotenoides.



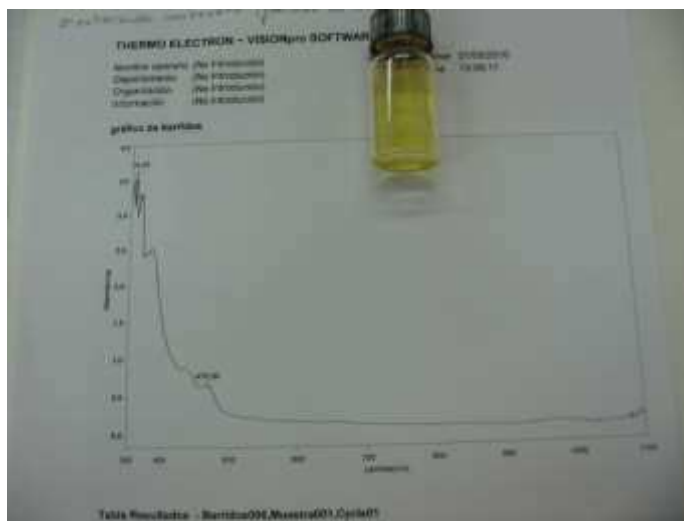
En la foto se observa el extracto de acetona y el espectro UV-Vis

Para separarlos se utiliza otro disolvente inmiscible con la acetona como el hexano, que presenta diferente afinidad por alguno de los pigmentos.

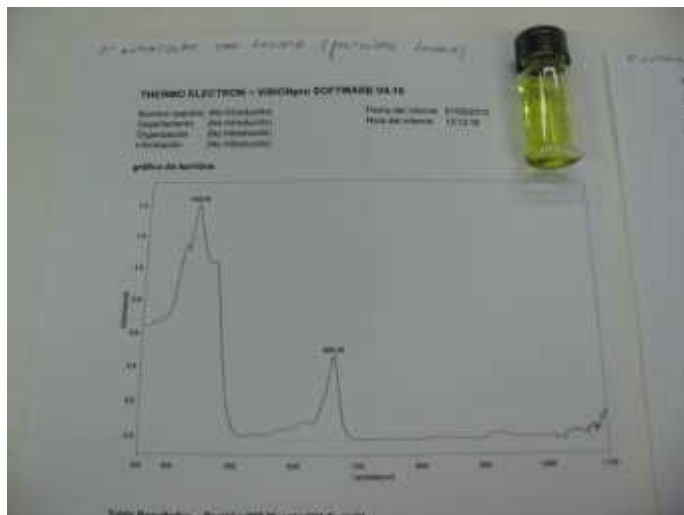


En la foto se observan las fracciones ya separadas de la acetona de color amarillo y el hexano de color verde.

Se puede realizar el espectro para comprobar las bandas:



2º extracción fracción de la acetona



2º extracción fracción del hexano

La banda con el máximo a 664 nm, nos indica la presencia de clorofila.

b) En la experiencia del apartado 4 se comprueba que el extracto que está en contacto con la disolución 1M (a la izquierda de la imagen) adquiere un color parduzco. El color en los dos otros

tubos, con disolución tampón pH 7 (en la parte central de la foto) y con la disolución de NaOH 1M (a la derecha de la foto), permanece el color verde.



Para entender este cambio, debemos conocer la estructura de la molécula de la clorofila, que consta de dos partes:

Una es un anillo de átomos de carbono e hidrógeno que tiene un catión magnesio en su centro: ésta es la parte coloreada de la molécula. La segunda está constituida por una cadena de 16 átomos de carbono unidos a átomos de hidrógeno, y no tiene color.

Cuando los ácidos entran en contacto con la clorofila, el catión magnesio es reemplazado en el centro del anillo por un catión hidrógeno. Esto provoca un ligero cambio estructural en esta parte coloreada de las moléculas de clorofila y, debido a ello, hay un cambio de color de las mismas.

El resultado es que las verduras adquieren una coloración verde grisácea o verde bronce bastante menos agradable que la coloración original. Este cambio de color se puede producir tanto al saltar las verduras como al cocerlas en agua. Y los cambios se ven intensificados, por supuesto, si el agua de cocción es ácida.

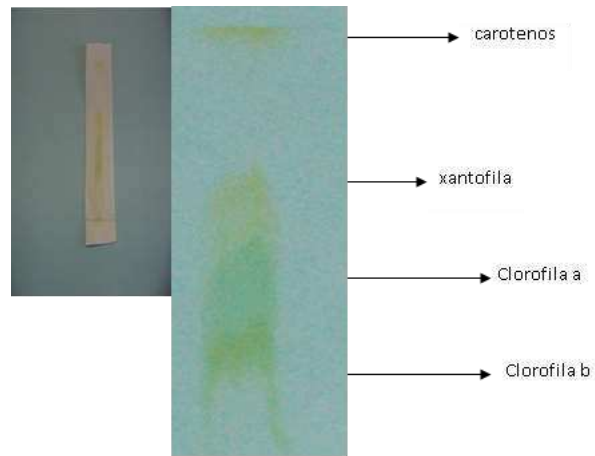
Además, también pueden producirse los cambios si las verduras sin calentar se ponen en contacto con un ácido: cuando tenemos una ensalada y la aliñamos empleando vinagre, se produce un cambio de color progresivo.

Y la experiencia también nos dice que la extensión de estos cambios depende de la temperatura y el tiempo de cocción, así como de la acidez del medio de cocción.


c) Algunas de las indicaciones que se hacen en los libros de cocina sobre la forma más adecuada de cocer las verduras son las siguientes:

- Se recomienda cocinar los vegetales con mucha agua, para hacer que los ácidos vegetales naturales que pasan al agua se diluyan y lograr, de esta forma, que el medio de cocción no sea muy ácido.
- Se indica, además, que hay que dejar el recipiente abierto, con el fin de permitir que escapen los ácidos volátiles: si el recipiente se dejara tapado, estos ácidos condensarían y pasarían de nuevo al agua de cocción.
- Se señala que lo adecuado es cocer entre 5 y 7 minutos: de esta manera se evita la degradación de la clorofila, y la verdura queda tierna; si la pieza a cocer es grande, se recomienda cortar en trozos para que quede en su punto en esas condiciones.
- Se recomienda añadir la verdura sobre grandes cantidades de agua hirviendo. De esta forma la temperatura del agua de cocción apenas baja, con lo que las verduras se calientan rápidamente a temperaturas elevadas. La clorofilasa así tiene muy poco tiempo para actuar. La clorofilasa es una enzima presente en las células de los tejidos verdes de las plantas. Este enzima rompe la molécula de clorofila por el punto de unión entre las dos partes que hemos descrito (el anillo y la cadena). La clorofilasa está normalmente separada físicamente de la clorofila, pero, durante la cocción, al degradarse las estructuras celulares, la clorofilasa y la clorofila entran en contacto. Si se emplea poca agua, o si se empieza la cocción con agua fría, entonces la verdura tarda más en calentarse, y la clorofilasa tiene más tiempo para actuar
- La parte del anillo, coloreada, es soluble en agua, y esto hace que, durante la cocción, se coloree el medio acuoso, y que las verduras pierdan intensidad de color. La actividad de este enzima aumenta hasta hacerse máxima a una temperatura de unos 70°C; a temperaturas superiores su actividad disminuye debido a que este enzima, una proteína, se desnaturaliza, es decir, su estructura se modifica de forma irreversible, y deja de ejercer su función
- Finalmente, en el caso de las ensaladas, se recomienda aliñarlas en el momento de servir: si se hace antes nos podemos encontrar con cambios de color y, también, con una pérdida de turgencia de los tejidos vegetales por salida de agua de los mismos por ósmosis.

d) El resultado de la cromatografía de papel es el siguiente:



Se observan 4 bandas; las dos superiores de color amarillo-anaranjado (corresponden a los carotenos y las xantofilas) y las dos inferiores de color verde (a las clorofilas).

Tema 5	FRUTAS Y VERDURAS
Ficha 19	5.2 Las antocianinas: Indicador de pH de extracto de col lombarda
	<h2 style="color: #E67E22;">INTRODUCCIÓN</h2>
	<p>Las antocianinas son los pigmentos responsables del color en muchas flores, frutas y verduras. Constan de una sustancia polifenólica, denominada antocianidina, que está unida a un azúcar. A veces solo están presentes en las capas superficiales de células de los frutos o tubérculos, como en las variedades de patatas con piel roja y carne blanca; otras veces se encuentran también en las células del interior, como en las variedades de patatas de carne púrpura azulado.</p> <p>El medio en el que se encuentran estas antocianinas es ácido y el color predominante que presentan es el rojo. Al cocinar un tejido vegetal se dañan sus estructuras celulares y, dado que las antocianinas son solubles en agua, pasan con facilidad al agua de cocción.</p> <p>Además del efecto de dilución, el agua de cocción suele ser algo alcalina y, en esas condiciones, las antocianinas presentan un tono azulado. Esto se debe a que estos compuestos presentan formas ligeramente distintas en función de la naturaleza ácido base del medio acuoso en el que se encuentran, y estas formas tienen colores totalmente distintos.</p> <p>La col lombarda contiene antocianinas que son solubles en agua. El extracto acuoso que resulta de hervirlas, se puede utilizar como indicador químico, por su variación de color con el pH.</p>

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Material y reactivos

- Col lombarda
- Vaso de precipitados de 1L
- Embudo cónico.
- Disoluciones a diferente pH

1. Cortar unas hojas de lombarda (cuanto más oscuras mejor)
2. Se cuecen en un recipiente con un poco de agua durante al menos 10 minutos.
3. Se retira el recipiente del fuego y se deja enfriar.
4. Filtrar el líquido.
5. El líquido filtrado lo utilizamos como indicador, para ello introducir unas gotas del extracto en diferentes disoluciones con diferente pH y comprobar el cambio de color.
6. Al filtrado se puede añadir un volumen de etanol 96 % (10 mL de etanol en 100 mL de filtrado) para su conservación.

CUESTIONES

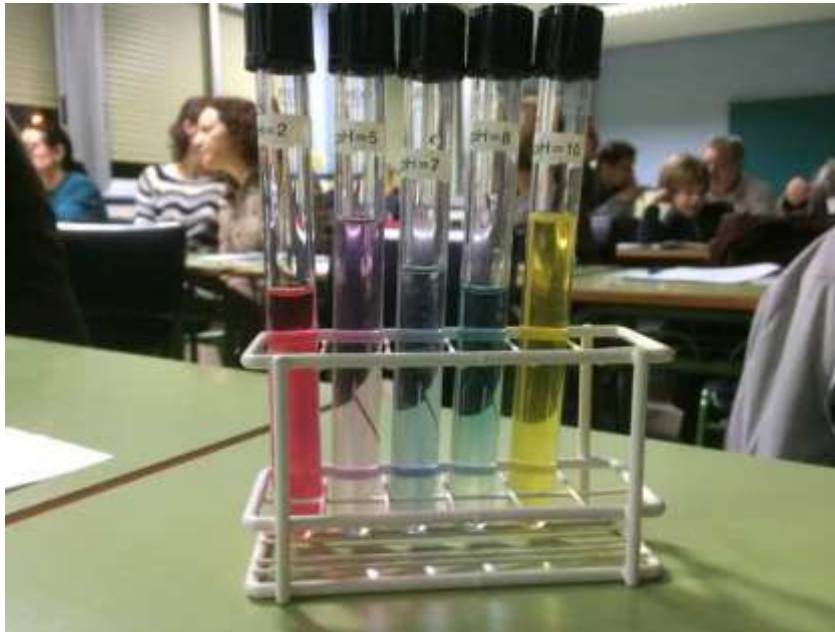
Indicar el color que presenta el extracto de col lombarda al añadir unas gotas de las distintas disoluciones a diferentes pH.

pH	2	5	7	8	11
Color del extracto					

- a) Comprobar el color que adquiere el extracto cuando se mezcla con diferentes alimentos, clara de huevo, vinagre, zumo de limón, etc. Y otros productos como medicamentos (antiácidos para el estómago, aspirina) y bicarbonato.

RESULTADOS

a) Los colores obtenidos al mezclar la col lombarda con las disoluciones a diferentes pH han sido las siguientes:



pH	2	5	7	8	11
Color del extracto	<u>rojo</u>	<u>violeta</u>	<u>azul</u>	<u>verde</u>	<u>amarillo</u>

Tema 5

FRUTAS Y VERDURAS

Ficha 20

5.3 Análisis volumétrico de vitamina C en zumos

INTRODUCCIÓN

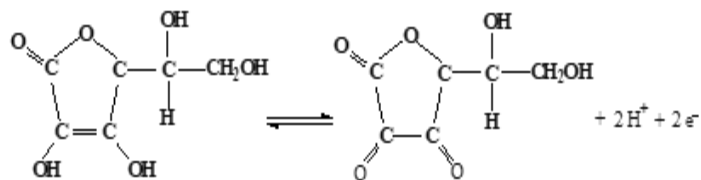
Los alimentos no solo proporcionan nutrientes esenciales para la vida, sino también toda una serie de compuestos bioactivos. En los alimentos derivados de las plantas, estos compuestos se denominan fitoquímicos, y sus efectos beneficiosos se han asociado con sus propiedades antioxidantes.

Las células están constantemente expuestas a una serie de agentes oxidantes, algunos esenciales para la vida. Estos agentes pueden estar presentes en el aire, los alimentos y el agua, y otros son producidos por actividades metabólicas en las propias células.

El factor clave es mantener un balance entre oxidantes y antioxidantes para mantener unas condiciones fisiológicas óptimas.

El ácido ascórbico (L-ascórbico) o vitamina C es un potente antioxidante natural que se encuentra presente en grandes cantidades en los zumos cítricos y de muy extensa aplicación como aditivo alimentario. Su deficiencia prolongada en la dieta de los humanos origina una enfermedad conocida como escorbuto.

La vitamina C es un reductor que se oxida con cierta facilidad, en presencia de oxidantes, para dar ácido dehidroascórbico



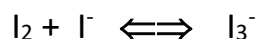
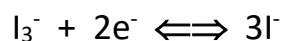
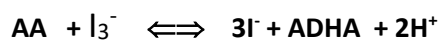
Esquemáticamente se puede escribir la ecuación en la forma:

Semireacción de oxidación:

(AA ácido ascórbico, ADHA ácido dehidroáscorbico)

El ácido dehidroascórbico tiene actividad de vitamina C, pero una vez formado, se hidroliza rápidamente en ácido dicetogulónico que carece de actividad antioxidante.

Los métodos químicos para la determinación del ácido ascórbico se basan principalmente en su carácter reductor. En esta práctica se utiliza una yodimetría utilizando el I_2 como oxidante. Debido a la baja solubilidad del I_2 , se disuelve añadiendo IK que al reaccionar se forma el triyoduro potásico.

**Semireacción de reducción:****Reacción global**

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Material y reactivos:

- Bureta 10mL,
- Erlenmeyer 250 mL
- Probeta 10mL
- Disolución triyoduro potásico. 0,01M (valorada)
- Disolución de almidón

Procedimiento:

1-Si el zumo tiene pulpa, se deberá filtrar previamente.

2- Se pipetea 10 mL (Vz) de zumo y se introducen en un erlenmeyer de 100 mL se diluye con aproximadamente 40 mL de agua destilada. (Recordar que este volumen de agua añadida no interviene en la valoración)

3-Se añaden 2-3 mL de la disolución de almidón.

4-Se introduce la disolución de yodo 0,01 M en la bureta, se enrasa.

5-Se añade la disolución de triyoduro con agitación continua, a la disolución del zumo, hasta cambio de color de la disolución (color azul), debido a que el exceso de yodo, forma con el almidón un complejo coloreado.

Se anota los mililitros de triyoduro potásico, que ha consumido la muestra. (VI)

Cálculos

Los resultados se expresan en miligramos de ácido ascórbico/100 ml de muestra.

$$\text{mg de ácido ascórbico /100 mL} = \text{VI} \times \text{M} \times 176,13 \times 100 / \text{Vz}$$

Siendo:

M = Molaridad de la disolución de iodo

VI = volumen de triyoduro en mL.

Vz = volumen de la muestra mL

1-Análisis de zumos envasados.

Realizar el análisis de vit C en zumos envasados y comparar con el valor que se indica en el envase. Para ello homogeneizar el zumo antes de tomar la muestra y proceder como en apartados los anteriores.

2-Comprobar la estabilidad de la vitamina C frente al oxígeno atmosférico, la temperatura.

Se pueden hacer diferentes pruebas:

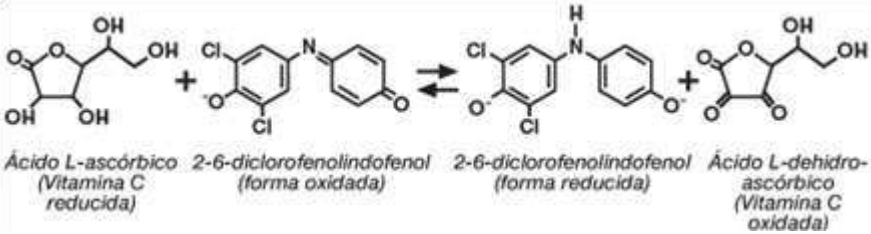
-Dejar una parte del zumo en un vaso sin tapar, toda la noche y otro en un envase cerrado y comparar la pérdida de vit C.

-Se puede calentar hasta ebullición una parte del zumo y comparar como se degrada con el calor. (es muy importante medir el volumen antes y después de calentar y si es necesario completar con agua para compensar la pérdida, ya que el zumo se habrá concentrado)

CUESTIONES

- a) Describe cómo se prepara la disolución de triyoduro de potasio 0.01M. Y la forma de normalizarla.
- b) Resultados de las valoraciones de los zumos comerciales.
- c) Comentar como afecta el calentamiento y la exposición al oxígeno a la concentración de vitamina C en los zumos.
- d) Si no se dispusiera de la disolución de triyoduro, cómo se podría realizar esta experiencia con productos caseros.

RESULTADOS

TEMA 5	FRUTAS Y VERDURAS
Ficha 21	5.4 ¿Cómo afectan los métodos de cocción a la vitamina C?
<p>Material y reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bureta 10mL • Erlenmeyer • Ácido oxálico 0,25 M • HCl 1M • Extractos vit C • (DIP) • 2,6 Dicloroindofenol 	<p>INTRODUCCIÓN</p> <p>El ácido ascórbico está presente en forma natural en muchas frutas y verduras, se degrada por oxidación, influyendo en este proceso diversos factores como la Tª, la concentración de sales, de azúcar, el pH, catalizadores metálicos (Cu y Fe), la concentración de oxígeno, etc además debido su elevada solubilidad en el agua g/mL se produce mucha perdida de esta vitamina en las verduras al disolverse en al agua de cocción.</p> <p>Para el análisis realizaremos una volumetría redox, la reacción es la siguiente:</p>  <p>Ácido L-ascórbico (Vitamina C reducida) + 2-6-diclorofenolindofenol (forma oxidada) ⇌ 2-6-diclorofenolindofenol (forma reducida) + Ácido L-dehidro-ascórbico (Vitamina C oxidada)</p>
	<p>PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL</p> <p>Análisis de la vit C en la col cruda</p> <p>1-Pesar 5 g de col cruda en un mortero, se añaden 10 mL de solución de ácido oxálico. Macerar durante 3 min añadir 10 mL más de ácido oxálico y macerar nuevamente.</p> <p>2-Filtrar la mezcla macerada y recoger el extracto.</p>

Para preparar un litro se disuelven 210mg de NaHCO₃ y a continuación 250mg de DIP agitar y filtrar)

3-El extracto (todo el volumen) se introduce en un Erlenmeyer y se valora con la disolución de DIP hasta color rosado durante 5".

Análisis de la vit C en la col hervida

4- Hervir 100 mL de agua en un vaso de 250mL se añaden 8 g de col y se hierven 15 min.

5- Se decanta, se recoge el filtrado que una vez frío se valora con la disolución de DIP hasta color rosado durante 5".

6- La col hervida se introduce en un mortero, se añaden 10 mL de solución de ácido oxálico y se macera durante 3 min añadir 10 mL más de ácido oxálico y macerar nuevamente.

7- Filtrar y el extracto (todo el volumen) se introduce en un erlenmeyer y se valora con la disolución de DIP hasta color rosado durante 5".

Análisis de la vit C en la col cocida al vapor.

4- Cocer al vapor 8 g de col durante 15 min.

5- El baño de agua que generaba el vapor, una vez frío se valora con la disolución de DIP hasta color rosado durante 5".

6-La col hervida se introduce en un mortero, se añaden 10 mL de solución de ácido oxálico y se macera durante 3 min añadir 10 mL más de ácido oxálico y macerar nuevamente.

7-Filtrar y el extracto filtrado (todo el volumen) se introduce en un Erlenmeyer y se valora con la disolución de DIP hasta color rosado durante 5"

CUESTIONES

a) Completar la siguiente tabla;

muestra	m(g)	V DIP	ácido ascórbico(mg)	Acido ascorb mg/100g
Col cruda				
Col hervida				
Agua de cocción				
Col vapor				
Agua del baño vapor				

- b) 1-Calcular el porcentaje de ácido ascórbico que ha pasado al agua y la que se ha quedado en la col cocida.
- c) ¿Qué conclusiones se obtienen de este experimento respecto a la forma más adecuada de cocinar las verduras?
- d) ¿Cuál es el porcentaje de la vitamina C degradada en cada uno de los procesos de cocción?

RESULTADOS

