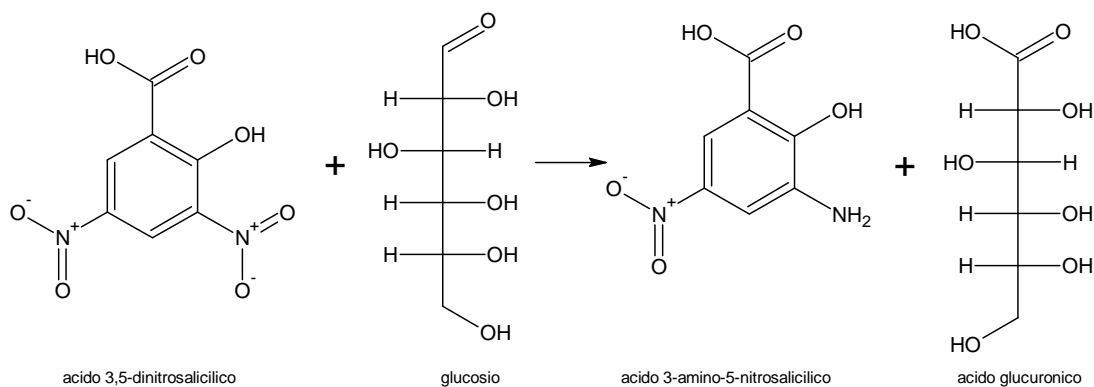


Analisi dei carboidrati: misura della percentuale di zuccheri riducenti e di amido nella banana

In questa prova vengono analizzati l'amido e gli zuccheri riducenti liberi (fruttosio e glucosio) contenuti nelle banane in vari stadi di maturazione: verdi, mature e molto mature.

Per l'analisi degli zuccheri riducenti liberi verrà utilizzato l'acido 3,5 dinitrosalicilico (DNS) in presenza di sodio potassio tartrato.

Il saggio con DNS è un saggio colorimetrico che si basa su una reazione redox: viene sfruttata l'ossidazione del gruppo aldeidico presente nel glucosio e del gruppo chetonico presente nel fruttosio (zuccheri riducenti); contemporaneamente l'acido 3,5-dinitrosalicilico viene ridotto, in condizioni alcaline, ad acido 3-amino-5-nitrosalicilico, un composto rossastro (acido 3-amino-5-nitrosalicilico) che assorbe a 540 nm.



La classe verrà divisa in tre grandi gruppi di lavoro: ciascun gruppo lavorerà su un frutto a maturazione diversa (banana verde, banana gialla matura e banana giallo-marrone con evidenti punti marroni). I dati raccolti (percentuale di amido e percentuale di zuccheri riducenti liberi) verranno confrontati e discussi.

Preparazione dei reattivi

Standard di glucosio (1.0 mg/mL)

Pesare circa 0,10 grammi di glucosio e portarlo in soluzione con circa 50 mL di acqua distillata.

Agitare fino a completa dissoluzione e travasare quantitativamente in un matraccio tarato da 100 mL, portando successivamente a volume. Calcolare la concentrazione effettiva di glucosio, utilizzando il dato della pesata (Questa soluzione è sufficiente per 20 studenti).

DNS

Sciogliere 2 grammi di acido 3,5-dinitrosalicilico in 40 mL di una soluzione di NaOH 2M e 100 mL di acqua distillata. Sciogliere 60 grammi di tartrato di sodio e potassio nella soluzione del DNS e portare il tutto ad un volume finale di 200 mL con acqua distillata. Conservare in un contenitore ben chiuso, per proteggere il reagente dall'azione della CO₂. (Questa soluzione è sufficiente per 10 studenti).

I fase: Isolamento degli zuccheri solubili dalle banane

Si pesa circa 1 grammo di banana sulla bilancia tecnica a due cifre decimali (Nota: non è necessario pesare esattamente 1 grammo di frutto ma è importante conoscere esattamente la massa misurata).

Si omogeneizza la banana con 10 mL di acqua distillata utilizzando un omogeneizzatore a mano. Si versa l'omogeneizzato in una provetta da centrifuga, si risciacqua l'omogeneizzatore con altri 10

mL di acqua distillata, si omogeneizza ancora se necessario e si versa il contenuto in una seconda provetta da centrifuga.

Si centrifuga a 3500 giri al minuto per 15 minuti.

Si decanta il surnatante in una beuta da 100 mL. Si lava il pellet con 10 mL di acqua distillata aiutandosi con una bacchetta di vetro e si centrifuga di nuovo per 15 minuti.

Si aggiunge il nuovo surnatante a quello raccolto precedentemente mentre il pellet si conserva per la fase successiva.

Utilizzando un cilindro graduato si misura attentamente il volume del surnatante raccolto e si segna questo valore per i calcoli finali.

Si versa la soluzione nuovamente nella beuta e si etichetta come "Estratto di banana". Conservare in frigo.

II fase: Isolamento dell'amido insolubile

Quasi tutto il residuo insolubile della banana è costituito da amido. Per isolare l'amido dal campione si risospende il pellet con 10 mL utilizzando una bacchetta di vetro. Si prepara un filtro per il Büchner (pesare prima di filtrare ed annotare la massa), si filtra la sospensione, si sciacquano le provette con altri 10 mL di acqua distillata e si versano sul filtro, cercando di trascinare più solido possibile. L'ultimo lavaggio si effettua con acetone, che aiuterà il pellet ad asciugarsi più in fretta. Smontare l'apparecchio per la filtrazione e trasferire con attenzione il filtro su un vetrino d'orologio, il quale verrà posto in un essiccatore. Pesare nel secondo turno di laboratorio.

III fase: Preparazione della curva di taratura per la misura del contenuto di zuccheri riducenti

Preparare una soluzione standard di glucosio (ne bastano 5 mL per gruppo) che abbia una concentrazione di 1,0 mg/mL. Preparare una serie di provette come indicato dallo schema:

N° provetta	mL di standard	mL di acqua distillata
Bianco	0,0	1,0
1	0,2	0,8
2	0,4	0,6
3	0,6	0,4
4	0,8	0,2
5	1,0	0,0

Si aggiungono poi in ogni provetta 2 mL di DNS. Si pongono in bagnomaria bollente per 5 minuti, al termine dei quali si immergono in bagno freddo. Si aggiungono 5 mL di acqua distillata e si agita accuratamente. Si effettuano le letture a 540 nm.

IV fase: Misura della quantità di zuccheri riducenti nell'estratto di banana

La quasi totalità degli zuccheri solubili presenti nell'estratto sono riducenti (glucosio e fruttosio) con tracce di saccarosio (non riducente). Ignoreremo quest'ultimo dato che la sua concentrazione rimane pressoché costante durante la maturazione.

A seconda del grado di maturazione della banana sarà necessario diluire in maniera più o meno marcata il campione. Più la banana è matura, più alta sarà la quantità di zuccheri riducenti presenti.

Ogni gruppo preparerà quattro provette (1 bianco più tre campioni) secondo lo schema seguente:

Banana acerba

Provetta	mL acqua distillata	mL di estratto
Bianco	1,0	0,0
1,2,3	0,5	0,5

Banana matura

Provetta	mL acqua distillata	mL di estratto
----------	---------------------	----------------

Bianco	1,0	0,0
1,2,3	0,8	0,2

Banana molto matura

Provetta	mL acqua distillata	mL di estratto
Bianco	1,0	0,0
1,2,3	0,9	0,1

Si procede poi esattamente come per la costruzione della retta di taratura (2 mL di DNS, bagnomaria bollente per 5 minuti, eccetera...).

Fase V: Determinazione della percentuale di zuccheri riducenti e di amido

Utilizzando la curva di taratura si determina la concentrazione di zuccheri riducenti presenti nei campioni. Si calcola la media.

Si determina la massa del filtro più l'amido e per differenza si ottiene l'amido filtrato. Si calcola la percentuale di amido presente nel campione.

Fonte:

Journal of Chemical Education

Carbohydrate Analysis:

Can We Control the Ripening of Bananas?

S. Todd Deal,* Catherine E. Farmer, and Paul F. Cerpovicz

Department of Chemistry, Georgia Southern University, Statesboro, GA 30460; *STDeal@gasou.edu