

## Лабораторна робота № 10

### Тема: Визначення аскорбінової кислоти (вітаміну С) в капусті та ретинолу (вітаміну А) в риб'ячому жирі. Методи визначення інших вітамінів

#### I. Теоретична частина

**Вітаміни** — біоорганічні сполуки, що є життєво необхідними компонентами обміну речовин; на відміну від інших біомолекул, вітаміни не синтезуються в організмі людини і тварин, або синтезуються в незначній кількості, тому вони повинні надходити з компонентами харчування. На відзнаку від таких поживних речовин, як вуглеводи, ліпіди та білки, вітаміни належать до *мікрокомпонентів* харчування, їх добові потреби для людини складають міліграмові або мікрограмові кількості.

Залежно від фізико-хімічних властивостей (розчинності у воді або в ліпідах) вітаміни поділяють на дві великі групи: водорозчинні та жиророзчинні.

##### **Водорозчинні вітаміни**

*Вітамін B<sub>1</sub>* (тіамін; антиневритний вітамін),

*Вітамін B<sub>2</sub>* (рибофлавін).

*Вітамін PP* (вітамін B<sub>5</sub>; ніацин; нікотинамід; антипелагрічний вітамін).

*Вітамін B<sub>6</sub>* (піридоксин; антидерматитний вітамін).

*Вітамін B<sub>12</sub>* (кобаламін; антианемічний вітамін).

*Фолієва кислота* (птероїлглутамат; антианемічний вітамін).

*Вітамін H* (біотин; антисеборейний, антидерматитний вітамін).

*Пантотенова кислота* (вітамін B<sub>3</sub>; антидерматитний вітамін).

*Вітамін C* (аскорбінова кислота).

*Вітамін P* (рутин; вітамін проникності).

##### **Жиророзчинні вітаміни**

*Вітамін A* (ретинол; аксерофтол; вітамін росту).

*Вітамін K* (філохінон; антигеморагічний вітамін).

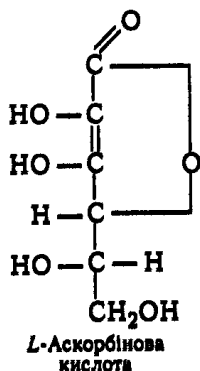
*Вітамін E* (α-токоферол; вітамін розмноження).

*Вітамін F* (комплекс поліненасичених жирних кислот).

*Вітамін D* (кальциферол; антирахітний вітамін).

##### **Вітамін С.**

За хімічною будовою вітамін С є γ-лактоном 2,3-дигідро-*L*-гулонової кислоти. Емпірична назва вітаміну — *аскорбінова кислота* вказує на його профілактичну дію щодо *цинги*, або *скорбуту* — специфічного патологічного процесу, спричиненого екзогенною недостатністю вітаміну. У водних розчинах *L*-аскорбінова кислота (*L*-АК) зворотно перетворюється на дегідроформу — *L*-дегідроаскорбінову кислоту (*L*-ДАК), яка повністю зберігає біологічні властивості вітаміну С; подальші окислювальні перетворення *L*-ДАК є незворотними і призводять до утворення похідних, що не мають вітамінних властивостей.



##### **Біологічні властивості та механізм дії**

Біологічна дія вітаміну С переважно пов'язана з гідроксилуванням біомолекул в ході таких біохімічних перетворень:  
- біосинтезу *колагену*, а саме в посттрансляційній модифікації білка з утворенням зрілого *колагену* шляхом гідроксилування залишків проліну та лізіну до відповідних гідроксіамінокислот; в процесі гідроксилування проліну до 4-гідроксіпроліну бере участь Fe<sup>2+</sup>-аскорбатзалежний фермент

*пролілгідроксилаза*, роль вітаміну С полягає в регенерації відновленої форми іона заліза, необхідного для каталітичного циклу;

- біосинтез дофаміну, норадреналіну та адреналіну (етапи гідроксилювання в циклі та бічному кільці катехоламінів);
- біосинтезу стероїдів (численні реакції гідроксилювання на етапах утворення холестерину та біологічно активних стероїдних гормонів);
- біосинтезу серотоніну (реакція гідроксилювання триптофану);
- катаболізму тирозину (через стадію утворення гомогентизинової кислоти).

#### **Джерела та добова потреба**

Вітамін С міститься в більшості продуктів харчування, особливо рослинного походження (табл. додатку Д), і недостатність у вітаміні розвивається, як правило, за умов нераціональної дієти (відсутність свіжих рослинних продуктів) або неправильної кулінарної підготовки харчових блюд. Особливо шкідливими для вмісту *L*-АК є термічна обробка продуктів в умовах високої температури, наявності кисню (кисню) та металів (нагрівання продуктів у металевому посуді).

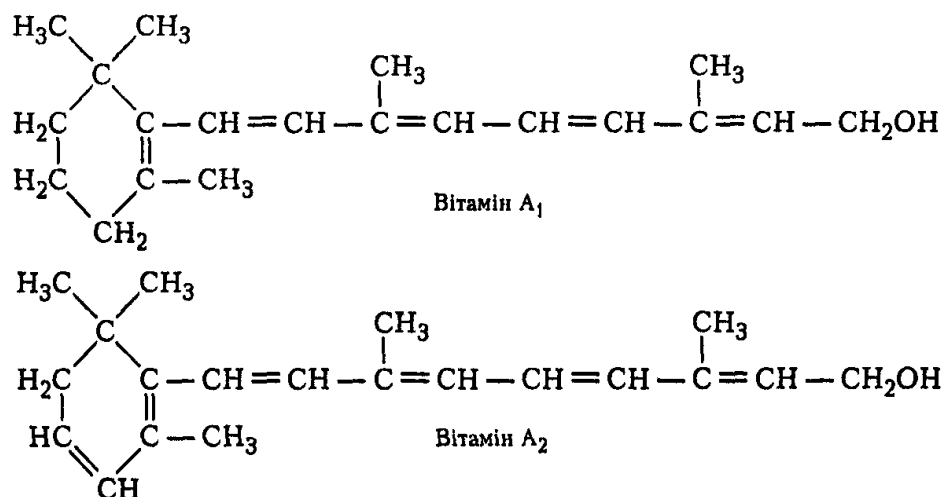
Добова потреба в *L*-аскорбіновій кислоті становить 50-70 мг.

#### **Вітамін А. Хімічна будова та біологічні джерела**

Сполуки, що мають біологічні властивості вітаміну А, є похідними  $\beta$ -іону. Дві молекулярні форми вітаміну А (*вітамери*) —  $A_1$  та  $A_2$  є циклічними ненасиченими спиртами (транс-ізмери), що мають як бічний радикал гідрофобну діізопреноїдну групу, завдяки якій ці сполуки розчиняються в ліпідному бішарі мембран.

Обидві сполуки проявляють повний спектр біологічних ефектів вітаміну А, проте вітамін  $A_1$  є дещо активнішим.

У рослинних організмах містяться *провітаміни* (біологічні попередники) вітаміну А — жовті пігменти  $\alpha$ ,  $\beta$  та  $\gamma$ -каротини (вперше були виявлені в моркві — *carota*; лат.). Найбільш активним провітаміном вітаміну А є  $\beta$ -каротин, при гідролізі якого за участю ферменту  $\beta$ -каротинази стінки тонкої кишки та печінки людини утворюються дві молекули вітаміну  $A_1$ .



#### **Біологічні властивості**

Після надходження в організм людини (з тваринною їжею або у вигляді рослинних каротинів) ретинол та дегідроретинол депонуються в тканинах (переважно в печінці) у вигляді складних жирнокислотних ефірів, які, у міру фізіологічної потреби, утворюють активні молекулярні форми вітаміну А: спирт (*ретинол*), альдегід (*ретиаль*) та *ретиноєву* кислоту:

Біологічна активність вітаміну А полягає, переважно, в регуляції таких функцій організму:

- процесів сутінкового (нічного) зору — недостатність вітаміну А супроводжується порушенням сутінкового зору і розвитком "курячої сліпоти" (*гемералопія*);
- процесів росту та диференціювання клітин;
- процесів утворення глікопротеїнів, що є компонентами біологічних слизів організму.

Характерним проявом недостатності вітаміну А у людини та тварин є виражена сухість слизових оболонок, вкритих одношаровим плоским епітелієм, що вистилає шлунково-кишковий та дихальний тракт, сечовивідні та статеві шляхи, очне яблуко, слізозовий та слуховий канали тощо. Введення препаратів вітаміну А або продуктів, що його містять, протидіє вказаним патологічним проявам, зокрема сухості очного яблука ("антиксерофтальмічний" вітамін, "аксерофтол").

#### ***Добова потреба***

Вітамін А надходить в організм людини з продуктами тваринного походження (зокрема у складі вершкового масла, сметани, молока, печінки, рибацького жиру, яєчного жовтка) та у вигляді рослинних каротинів.

Добова потреба людини у вітаміні А складає 1,5-2,5 мг, або 3-5 мг каротинів.

## **II. Практична частина**

### **Дослід 1. Кількісне визначення вітаміну С методом йодометричного титрування.**

**Принцип методу.** Аскорбінова кислота є сильним відновлювачем і може бути виявлена йодометрично при певному значенні рН розчину (наприклад рН 7). При титруванні йодом аскорбінова кислота окиснюється, утворюючи дегідроаскорбінову кислоту.

**Матеріальне забезпечення:** капуста чи картопля, тертка, фарфорова ступка, чашки Петрі, лійка (воронка) скляна, вата, вода дистильована, піпетка на 10 мл, колби на 50-100 мл, бюретка для титрування на 25 мл, 2% розчин HCl, 0,003 н. розчин йоду, 0,5% розчин крохмалю.

**Хід роботи.** Підготувати екстракт з харчових продуктів для виявлення вітаміну С. Для цього 2 г капусти чи картоплі натерти на тертці в чашці Петрі чи дрібно порізати і розтерти в ступці з невеликою кількістю товченого скла чи піску. Потім, якщо подрібнили на тертці, зібрати масу з чашки Петрі в склянку, якщо в ступці – одразу в ступку додати 10 мл 2%-го розчину HCl. Добре перемішану масу відфільтрувати через скляну лійку з ватою в конічну колбу на 50 – 100 мл. Масу на фільтрі промити кількома краплями води. В фільтрат додати 1 мл 0,5%-го розчину крохмалю і титрувати робочим розчином 0,003 н. I<sub>2</sub> до появи синього кольору.

При розрахунку вмісту вітаміну С в продукті використовують формулу визначення маси (M):

$$M = \frac{n \cdot E \cdot V}{1000},$$

де: *n* – молярна концентрація еквівалента йоду;

*E*- молярна маса еквівалента аскорбінової кислоти в г, яка в даному випадку дорівнює 88 г; *V*- об'єм витраченого на титрування йоду, в мл.

Для перерахування на вміст вітаміну С в 100 г продукту (*X*) використовують формулу:

$$X = \frac{M \times 1000}{2} \text{ (г)}.$$

Отриманий результат порівняти з нормою: вміст вітаміну С в капусті у межах 45±5 мг% , в картоплі – 20±5 мг%.

Пояснити отримані результати, зробити висновок, результати записати в робочий зошит.

*Питання для контролю за виконанням лабораторної роботи*

1. Хімічні властивості вітаміну С.
2. Фізіологічні функції вітаміну С.
3. Титрометричний метод аналізу.

## **Дослід 2. Колориметричне визначення вітаміну А в риб'ячому жирі.**

**Принцип методу.** Метод ґрунтується на колориметричному виявленні інтенсивності забарвлення, яке утворюється при реакції вітаміну А з трихлористою сурмою в присутності оцтового ангідриду.

**Матеріальне забезпечення:** риб'ячий жир – хлороформ (1:10), концентрат вітаміну А в риб'ячому жирі, хлороформ, оцтовий ангідрид, 33% розчин трихлористої сурми (стибію) у хлороформі, ФЕК або спектрофотометр, пробірки, піпетки.

**Хід роботи.** В пробірку до 0,4 мл хлороформового розчину риб'ячого жиру додають 1-2 краплі оцтового ангідриду (для попередження появи муті) і 4 мл 33% розчину трихлористої сурми у хлороформі. Через 10 хв на фотоелектроколориметрі або спектрофотометрі вимірюють оптичну густину або коефіцієнт екстинкції при довжині хвилі 620 нм (червоний світлофільтр) проти розчину трихлористої сурми.

Концентрацію вітаміну А в риб'ячому жирі знаходять за калібрувальним графіком, де кожному значенню знайденої екстинкції відповідає певний вміст вітаміну А в 0,4 мл розчина.

Побудова калібрувального графіка здійснюється за допомогою концентрату вітаміну А в риб'ячому жирі. Якщо вміст вітаміну А в 1 мл концентрату складає 500 од. (інтернаціональні одиниці), то для виготовлення початкового розчину беруть 10 мл риб'ячого жиру і розчиняють в 50 мл хлороформу. З 1 мл цього розчину готують розведення таким чином, щоб в 0,4 мл цього розчину містилося від 20 до 80 од. вітаміну А. Стандартні розчини обробляють трихлористою сурмою і виявляють оптичну густину. Отримані дані використовують для побудови калібрувального графіка. Вміст вітаміну А в 1 мл риб'ячого жиру визначають за формулою:

$$C = \frac{a \times V}{Q},$$

де  $C$  - вміст вітаміну А в 1 мл риб'ячого жиру (в од.),  $a$  – кількість вітаміну А в 1 мл досліджуваного розчину – для цього кількість вітаміну А, знайдена за графіком в 0,4 мл розчина, поділити на 0,4, од.;  $V$  - загальний об'єм досліджуваного хлороформового розчину риб'ячого жиру, мл;  $Q$  - взята на аналіз кількість риб'ячого жиру, мл.

Пояснити отримані результати, зробити висновок, результати записати в робочий зошит.