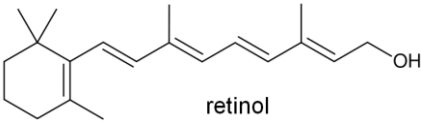
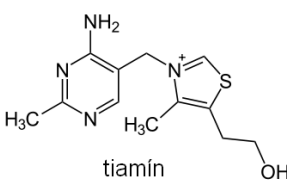


TÉMA	VITAMÍNY						
Úloha 39:	Stanovenie koncentrácie vitamínu C 2,4-dinitrofenylhydrazínom						
Princíp:	<p>Kyselina L-askorbová (vitamín C) sa oxiduje na kyselinu dehydroaskorbovú aj pretrepaním na vzduchu za katalýzy aktívnym uhlím.</p> <div style="text-align: center;"> </div> <p>Kyselina dehydroaskorbová s dinitrofenylhydrazínom dáva v slabo redukujúcom prostredí tiomočoviny osazón, ktorý sa rozpúšťa v koncentrovanej kyseline sírovej. Červené sfarbenie roztoku sa hodnotí spektrofotometricky.</p>						
Reagencie:	<ol style="list-style-type: none"> štandardný roztok kyseliny askorbovej s koncentráciou 15 g/100 ml roztok vzorky z jablka, citrónu, pomaranča, mandarínky (<i>K štave z ovocia pridáme trocha aktívneho uhlia, premiešame a necháme reagovať 10 minút. Prefiltrujeme a filtrát zriedime v pomere 1:10</i>) 2,5 % roztok tiomočoviny v 50 % etanole 2 % roztok 2,4-dinitrofenylhydrazínu (DNFH) v 50 % etanole doplníme 0,5 ml kyseliny chlorovodíkovej na celkový objem 100 ml 85 % roztok kyseliny sírovej 						
Materiál:	sada skúmaviek, stojan na skúmavky, sklenené pipety s nadstavcom, absorpčný spektrofotometer, plastové kvety, laboratórna trepačka, termostat						
Postup:	Do šiestich označených skúmaviek pipetujeme sklenenými pipetami štandardný roztok vitamínu C podľa tabuľky 6.1 a postupujeme podľa pokynov v nej uvedených. Do siedmej skúmavky pipetujeme namiesto štandardu 1 ml vzorky ovocnej šťavy (do zošita nezabudneme zapísať o aké ovocie išlo).						
TABUĽKA 6.1	0	1	2	3	4	5	vzorka
štandard vitamínu C [ml]	–	0,2	0,4	0,6	0,8	1	–
vzorka ovocnej šťavy [ml]	–	–	–	–	–	–	1
destilovaná H ₂ O [ml]	1	0,8	0,6	0,4	0,2	–	–
tiomočovina	1 kv.	1 kv.	1 kv.	1 kv.	1 kv.	1 kv.	1 kv.
	premiešať inkubovať 60 min pri 37 °C						
85 % H ₂ SO ₄ [ml]	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
dinitrofenylhydrazín [ml]	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	inkubovať 30 min pri laboratórnej teplote určiť absorbanciu pri 540 nm						
množstvo vitamínu v skúmavke [mg]	0	30	60	90	120	150	x
absorbancia pri 540 nm	–						
Vyhodnotenie:	Pomocou kalibračných roztokov (skúmavky 1 až 5) zostrojíme kalibračný graf (závislosť absorbancie štandardného roztoku vitamínu C pri 540 nm od množstva) a z neho určíme množstvo vitamínu C v mg na 1 ml vzorky (x) . Túto hodnotu vynásobíme príslušným riedením.						
Záver:	Uvedieme koncentráciu vitamínu C v ovocnej šťave (v mg/ml).						

Úloha 40:	Dôkaz vitamínu A
	Reakcia s kyselinou sírovou
Princíp:	<p>Provitamín A je dôležitou súčasťou stravy, pretože v ľudskom organizme sa z neho vytvára vitamín A (retinol). Tento vitamín je dôležitý pri redoxných procesoch v organizme, biochemických dejoch videnia a podobne. Preto by ho mal byť v potrave dostatok. Nachádza sa napr. v mrkve a paradajkách. Jeho nedostatok spôsobuje poruchy zraku a rastu. Priemerná denná spotreba vitamínu A v ľudskom organizme je približne 2,8 mg.</p> <p>Provitamín A (chemicky beta karotén) patrí do skupiny karoténov, ktoré sa v prítomnosti kyseliny sírovej sfarbia na modro alebo modrofialovo.</p>
	 <p style="text-align: center;">retinol</p>
Reagencie:	<ol style="list-style-type: none"> 1. koncentrovaná kyselina sírová 2. petroléter 3. nastrúhaná mrkva
Materiál:	skúmavky, stojan na skúmavky, mikropipety
Postup:	Do skúmavky dáme postrúhanú mrkvu a pridáme 3 – 5 ml petroléteri. Skúmavku zazátkujeme a dôkladne pretrepeme. Obsah skúmavky necháme ustáť 2 – 4 min a výluh zlejeme do druhej skúmavky. K výluhu potom po stenách skúmavky pridáme 3 – 5 ml koncentrovanej kyseliny sírovej a sledujeme farebnú zmenu. Výluh sa po pridaní koncentrovanej kyseliny sírovej sfarbí na styčnej ploche na modro.
Pozorovanie:	Zaznamenáme farebnú zmenu.
Úloha 41:	Dôkaz vitamínu B₁
	1. Reakcia s kyselinou diazofenylylsulfónovou
Princíp:	<p>Vitamín B₁ (tiamín) patrí do skupiny vitamínov B rozpustných vo vode. Fosforylovaný vystupuje ako koenzým dekarboxylázy a dehydrogenázy kyseliny pyrohroznovej. Dáva farebnú reakciu s kyselinou diazofenylylsulfónovou, čo sa využíva na jeho dôkaz.</p>
	 <p style="text-align: center;">tiamín</p>
Reagencie:	<ol style="list-style-type: none"> 1. 4 % roztok hydroxidu sodného 2. 5,76 % roztok uhličitanu sodného 3. diazoreagencia (0,9 g kyseliny sulfanilovej v 9 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej doplníme destilovanou vodou do 100 ml. Tento základný roztok uchovávame v tmavej fľaši. Z neho odpipetujeme 1,5 ml do 50 ml banky, ktorú držíme v ľade, pridáme 1,5 ml 5 % dusitanu sodného a po 5 minútach ešte 5 ml dusitanu sodného. Po minúte doplníme po značku. Roztok necháme v ľade ešte 15 minút. Takto pripravená reagencia vydrží 24 hodín.)

	4. 0,1 % tiamín okyslený kyselinou chlorovodíkovou na pH 3 až 4
Materiál:	skúmavky, stojan na skúmavky, mikropipety
Postup:	Do skúmavky napipetujeme 1 ml zmesi hydroxidu sodného a uhličitanu sodného v pomere 1:1, prikvapneme 10 – 12 kvapiek diazoreagencie a 2 – 4 kvapky tiamínu. Počiatočné žlté sfarbenie sa zmení za niekoľko minút na oranžové.
Pozorovanie:	Zaznamenáme farebnú zmenu.
2. Reakcia s hexakvanoželezitanom draselným	
Reagencie:	1. 1 % roztok hexakvanoželezitanu draselného 2. 30 % hydroxidu draselného 3. n-butanol 4. 0,1 % roztok vitamínu B ₁
Materiál:	skúmavky, stojan na skúmavky, pipety
Postup:	Do skúmavky k 1 ml vitamínu B ₁ pridáme 2 ml hexakvanoželezitanu draselného, 1 ml KOH a po zamiešaní 5 ml n-butanolu. Po dôkladnom pretrepaní horná vrstva fluoreskuje pod UV lampou (pri 254 nm).
Pozorovanie:	Zaznamenáme farebnú zmenu.
Úloha 42:	Dôkaz vitamínu C
Princíp:	<i>Vitamín C plní v ľudskom organizme mnohé dôležité funkcie – je súčasťou antioxidantného systému, je nutný pre normálnu imunitnú odpoveď na infekcie, pre hojenie rán a podobne. Priemerná denná dávka pre zdravého dospelého človeka by mala byť asi 100 mg.</i> <i>Uvedený dôkaz vitamínu C je založený na jeho redukčných schopnostiach. Kyselina askorbová zredukuje hexakvanoželezitan draselný na hexakvanoželeznatan draselný a ten utvorí so železitým kationom berlínsku modrú (hexakvanoželeznatoželezitan draselný). Takto možno polokvantitatívne sledovať obsah vitamínu C v jednotlivých druhoch ovocia a zeleniny (intenzita sfarbenia je relatívne úmerná obsahu vitamínu C).</i>
Reagencie:	1. zmes 1 % roztoku hexakvanoželezitanu draselného a 1 % roztoku chloridu železitého 2. vitamín C 3. plátky rôznych druhov ovocia (najlepšie citrusového)
Materiál:	skúmavky, stojan na skúmavky, pipety
Postup:	Zmes hexakvanoželezitanu draselného a chloridu železitého kvapneme na tenký plátok ovocia a pre porovnanie aj do skúmavky s roztokom vitamínu C. Pôvodne olivovo-zelené sfarbenie sa zmení v prítomnosti vitamínu C na modré.
Pozorovanie:	Zaznamenáme farebnú zmenu.