

ĆWICZENIE IV - WYKRYWANIE WITAMIN

Odczynniki:

- chloroform bezwodny,
- bezwodnik kwasu octowego,
- trójtłorek antymonu – roztwór nasycony w chloroformie,
- żelazicyjanek potasu – roztwór nasycony,
- chlorek żelazowy – roztwór rozcieńczony,
- anilina,
- kwas solny stężony,
- kwas siarkowy, stężony
- 1% roztwór jodu,
- kleik skrobiowy,
- żelazicyjanek potasu – roztwór 1%,
- 5% roztwór NaOH,
- 10% kwas octowy,
- butanol.

Sprzęt laboratoryjny:

- statyw na probówki,
- probówki,
- zlewki: 400 cm³, 100 cm³,
- termometr do 50°C,
- pipety: 1 cm³, 2 cm³, 5 cm³,
- łaźnia wodna,
- pręcik szklany.

1. Wykrywanie witaminy A w próbce

1.1 Reakcja trójtłorkiem antymonu

Wykonanie:

A. Do probówki wlać dwie krople badanej próbki, dodać ok. 0,5 cm³ chloroformu oraz dwie krople bezwodnika kwasu octowego i mieszać przez wytrząsanie.

B. Następnie dodać pipetką 2 cm³ chloroformowego roztworu trójtłorku antymonu i wymieszać przez wstrząsanie.

C. Obserwować, czy następuje zmiana barwy.

Wynik:

Pojawienie się niebieskiego, stopniowo blednącego zabarwienia świadczy o obecności witaminy A.

1.2. Reakcja z kwasem siarkowym

Wykonanie:

Do probówki odmierzyć 2 krople witaminy A oraz 1 cm³ chloroformu, dodać następnie 0,5 cm³ stężonego kwasu siarkowego.

Wynik:

W obecności witaminy A i β-karotenu powstaje niebieska barwa.

2. Wykrywanie witaminy D w próbce

2.1. Reakcja z aniliną

Wykonanie:

- A. Do probówki odmierzyć 4 cm³ badanej próbki, dodać 1 cm³ aniliny i 2-3 krople stężonego kwasu solnego (podwarstwić).
- B. Obejrzeć zabarwienie obu warstw.

Wynik:

Intensywnie czerwona barwa dolnej warstwy świadczy o obecności witaminy D w badanej próbce.

2.3 Reakcja z kwasem siarkowym

Wykonanie:

Do probówki odmierzyć 2 krople witaminy D oraz 1 cm³ chloroformu, wymieszać, dodać następnie 0,1 cm³ bezwodnika octowego oraz 0,1 cm³ stężonego kwasu siarkowego i całość ostrożnie wymieszać.

Wynik:

W obecności witaminy D powstaje zabarwienie czerwone, szybko przechodzące w fiolet i często błękitne, a potem zielone (w zależności od zawartości witaminy w próbce).

3. Wykrywanie witamin A i D w tranie

Wykonanie:

- A. Do probówki A pobrać 1,0 cm³ tranu dodać 5 cm³ chloroformu zatkać korkiem i całość wytrząsać energicznie przez 10 minut.
- B. Do probówki B odmierzyć 1 cm³ odczynnika Carra-Price'a
- C. Do probówki B pobrać 2,0 cm³ roztworu chloroformowego tranu uzyskanego w pierwszym punkcie, wstawić do łaźni wodnej i obserwować zabarwienie roztworu.

Wynik:

Powstanie niebieskiego a następnie czerwono-fioletowego zabarwienia świadczy o obecności witamin A i D.

4. Badanie rozpuszczalności karotenoidów w rozpuszczalnikach organicznych

Wykonanie

Przygotowanie ekstraktu chloroformowego

1. Do probówek odmierzyć po 1 cm³ soku pomidorowego i soku z marchwi.
2. Dodać 5 cm³ chloroformu i wytrząsać przez 5 minut.

Wynik:

W obecności karotenoidów: likopenu w soku pomidorowym i β-karotenu w soku marchwiowym warstwa chloroformowa barwi się odpowiednio na pomarańczowo i żółto.

5. Wykrywanie witaminy C w próbce

5.1. Reakcja z żelazicyjankiem potasu

Wykonanie:

- A. Do probówki wlać ok. 2 cm³ badanej próbki, 1 kroplę nasyconego roztworu żelazicyjanku potasu i 1 kroplę rozcieńczonego roztworu chlorku żelazowego.
- B. Obserwować, czy nastąpi zmiana barwy.

Wynik:

Pojawienie się niebieskiego lub zielonego zabarwienia świadczy o obecności witaminy C.

5.2. Reakcja z jodem

Wykonanie:

Do 2 probówek wlać kilka kropli kleiku skrobiowego i kilka kropli roztworu jodu. Do 1 probówki wlewać po kropli roztwór kwasu askorbinowego, do 2 probówki sok z cytryny. Zanotować liczbę kropli badanych roztworów potrzebnych do odbarwienia roztworu jodu. Następnie oba roztwory kwasu askorbinowego i sok z cytryny gotować na łaźni wodnej przez 5 minut. Powtórzyć reakcję z jodem i ponownie zanotować liczbę kropli zużytych do odbarwienia jodu.

6. Wykrywanie tiaminy

Tiamina w środowisku alkalicznym w obecności żelazicyjanku potasu lub chlorku rtęciowego ulega utlenieniu do tiochromu – związku przyjmującego niebieską fluorescencję.

Wykonanie:

Do jednej probówki wlać 1 cm³ roztworu tiaminy, zaś do drugiej 1 cm³ roztworu drożdży, następnie do obu probówek dodać 1 cm³ 1% roztworu K₃Fe(CN)₆ i 1 cm³ 20% NaOH, wymieszać i odstawić na 10 minut. Następnie dodać 5 ml alkoholu butylowego, zamknąć szczelnie probówki i wytrząsać przez 5 minut. Po oddzieleniu warstw fazę alkoholową przenieść do suchych probówek. Obserwować fluorescencję fazy alkoholowej w świetle lampy UV.

7. Wykrywanie witaminy B2.

W wodnych alkalicznych roztworach pod wpływem światła i tlenu ryboflawina ulega rozpadowi na lumiflawinę i tetrozę. Lumiflawina fluoryzuje żółtozielono w świetle lampy UV i w tej postaci jest rozpuszczalna w chloroformie.

Wykonanie:

Do 1 probówki wlać 1 cm³ roztworu ryboflawiny, do drugiej 1 cm³ serwatki, do obu dodać 1 cm³ 5% NaOH i wytrząsać przez 2 minuty. Następnie zawartość probówek zakwasić 5 kroplami 10% kwasu octowego i zmieszać z równą objętością chloroformu. Wytrząsać 5 minut. Po oddzieleniu się warstw, fazę chloroformową oglądać w świetle lampy UV. Przeanalizować uzyskane wyniki. Podać przebieg reakcji