

Ověření obsahu vitamínu C

pracovní návod s metodickým
komentářem pro učitele
připravil T. Feltl

chemie

17

úloha číslo

Cíle

Seznámení s potenciometrickými redoxními titracemi na příkladu stanovení obsahu vitamínu C v různých zdrojích.

Podrobnější rozbor cílů

- Zopakovat – vitamíny a jejich role, vitamín C.
- Použít odpovídající instrumentální vybavení (ORP elektrodu PASCO) ke studiu redoxních reakcí.
- Sestavit a použít titrační aparaturu.
- Analyzovat a vyvodit závěry z grafu časové změny napětí (elektrodového potenciálu) zaznamenané v průběhu chemické reakce.
- Na základě naměřených hodnot vypočítat koncentraci kyseliny askorbové ve vzorku.
- Vysvětlit probíhající reakci a dát ji do vztahu s působením vitamínu C v živých organizmech.

Zadání úlohy

S využitím redoxní jodometrické titrace (ORP elektrody) stanovte koncentraci kyseliny askorbové v několika různých vzorcích.

Technická úskalí, tipy a triky

Ve vyšších ročnících je možné zařadit v rámci biochemie variantu experimentu, kdy budou studenti stejným způsobem sledovat redoxní změny v šípkovém čaji nebo jiném libovolném extraktu z ovoce obsahujícího větší množství vitamínu C. Pro kontrolu je vhodné zařadit i materiál, který obsahuje relativně malé množství vitamínu C (např. bramborové hlízy). Je třeba si uvědomit, že použitá metoda není pro kys. askorbovou nikterak specifická, nicméně vzhledem k použitému jodometrickému systému, jehož redoxní potenciál je poměrně malý, můžeme předpokládat, že kys. askorbová bude ve většině případů reagovat přednostně.

Zařazení do výuky

Experiment je vhodné zařadit v rámci učiva o vitamínech (vlastnostech vitamínu C), ale např. také v rámci učiva o redoxních dějích v organické chemii, analytické chemii (titrace, jodometrie), klasifikaci chemických reakcí či působení antioxidantů.

ZŠ: demonstrace; SŠ: lab. cvičení

Časová náročnost

Dvě vyučovací hodiny (2 × 45 min).

Návaznost experimentů

Před tímto experimentem je vhodné absolvovat některé základní cvičení obsahující titrační stanovení koncentrace určité látky. Vhodná je např. úloha č. 8 (Konduktometrická titrace) nebo úloha č. 10 (Stanovení H_3PO_4 v Coca-Cole“).

Mezipředmětové vztahy

biologie – role vitamínů v živých organizmech

Pomůcky

PASCO rozhraní pro připojení elektrody s teplotním čidlem (PS-2147), PASCO oxidačně-redukční čidlo – ORP elektroda (CI-6716), datalogger PASCO SPARK, popř. Xplorer GLX nebo PASCO USBLink, odměrná banka 50 ml, odměrný válec 50 ml, kádinka 100 ml, pipeta 1–5 ml, byreta 20 ml, stojan, svorka pro uchycení elektrody, magnetická míchačka s míchadlem, stříčka s destilovanou vodou, třecí miska s tloučkem, chemikálie (KI, 0,05 M roztok I_2 , 0,017 M roztok $K_2Cr_2O_7$, 0,1 M roztok $Na_2S_2O_3$, 10% roztok H_2SO_4), experimentální materiál – tableta vitamínu C (Celaskon), pomerančový džus, popisovač (lihový fix), pracovní návod, pracovní list

Redoxní reakce – opakování

V rámci přípravy na praktické cvičení je vhodné připomenout způsob vyčíslování redoxních chemických rovnic, kde se právě vychází z jednotlivých poloreakcí a počtu přenesených elektronů.

Objev vitamínu C

Dlouhodobý nedostatek vitamínu C je historicky dobře známý. Projevuje se totiž jako nemoc označovaná jako **kurděje** (skorbut, Möllerova-Batlowova choroba, avitaminóza vitamínu C). Záznamy o této nemoci se objevují již z dob objevných mořeplaveckých cest v 15. století. Nemoc se projevuje především krvácením z dásní až vypadáváním zubů, krvácením pod kůží, do svalů, do nehtových lůžek, vnitřních orgánů, sníženou odolností proti nemocem a poruchou krevetvorby. Námořníci byli po měsíce odkázáni na dietu skládající se ze sušeného hovězího masa a sucharů. Žádný vitamín C tím pádem v potravě nepřijímali. Snaha lékařů o zkrocení a likvidaci nemoci dlouho nepřinášela výsledky. Teprve skotský lékař *James Lind* publikoval v roce 1772 práci, v níž demonstroval, že denní přídělí nápoje, který obsahoval ocet, mořskou vodu a šťávu ze dvou pomerančů a jednoho citronu, rychle vyléčil i těžký skorbut a umožnil návrat nemocných námořníků do služby již po 6 dnech léčby. (Tento objev byl učiněn již v roce 1747.)

K objevu vitamínu C došlo ale až mnohem později, a to v roce 1928, kdy ho objevil maďarský chemik *Albert Szent-Györgyi*, a zjistil, že se hojně vyskytuje v potravinách rostlinného původu. Zajímavé je, že drtivá většina savců si dokáže vitamín C sama vytvářet. Člověk představuje v tomto směru velice vzácnou výjimku (další je např. morče).

Teoretický úvod

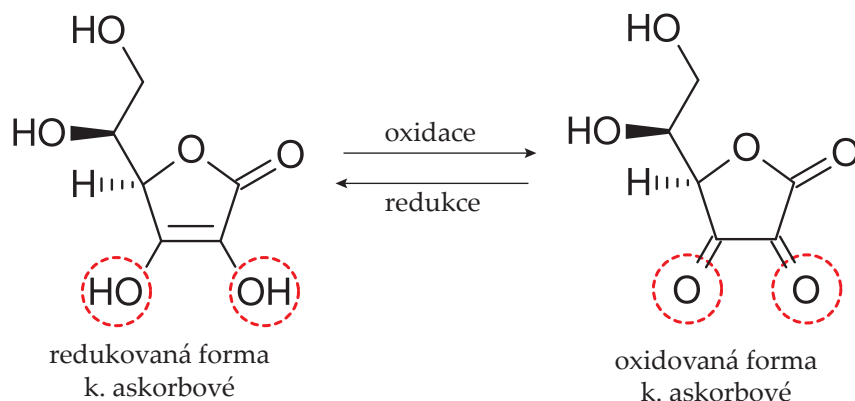
Chemické děje můžeme rozdělit podle různých kritérií. Hovoříme tak o reakcích acidobazických, srážecích, redoxních a dalších. V tomto praktickém cvičení se zaměříme na **reakce redoxní**.

Zvláštní pozornost si jistě zaslouží redoxní reakce odehrávající se v živých organizmech. Redoxními ději je protkána celá řada **metabolických drah**. Bez oxidace a redukce by nemohlo probíhat např. štěpení lipidů, získávání „energie“ v dýchacím řetězci, fotosyntéza a celá řada dalších životně důležitých dějů.

Na druhou stranu je třeba některým redoxním reakcím zabránit. Typicky se jedná o **nežádoucí působení oxidačních činidel**, které mohou svým působením na nevhodném místě buňku poškodit. (Nebezpečné je poškození např. na úrovni DNA.) Proto jsou pro buňku důležité látky, kterým říkáme **antioxidanty**, protože jsou schopny nežádoucí oxidaci zabránit.

Mezi antioxidanty patří celá řada přírodních barviv a také některé **vitamíny**. Jedním ze zástupců vitamínů s antioxidačním působením je právě **vitamín C** neboli **kyselina askorbová**. Jedná se o látku, která je pro lidský organizmus **esenciální** (tzn., že naše tělo si tuto látku nedokáže vyrobit a musí ji přijímat v potravě). Kyselina askorbová je nutná pro správný průběh řady metabolických reakcí u rostlin i živočichů (často zastává funkci tzv. **kofaktoru** enzymů – viz úloha č. 16).

Následující obrázek znázorňuje kyselinu askorbovou v oxidované a redukované formě.



Obr. 1: Kyselina askorbová v redukované a oxidované formě

Ke studiu redoxních vlastností kyseliny askorbové použijeme speciální elektrodu, která je schopna měřit **redoxní potenciál látek** v roztoku (**ORP elektroda**). Pokud bude v roztoku docházet k oxidaci nebo k redukci, bude se redoxní potenciál měnit a my zaznamenáme změnu napětí. Vzhledem k tomu, že o kyselině askorbové víme, že je antioxidantem, budeme roztok kyseliny askorbové titrovat roztokem jodu a sledovat změnu napětí zaznamenanou pomocí ORP elektrody.

Motivace

Vitamín C je mezi žáky obecně známou látkou. Jednou z možností je začít s lahvičkou tabletek s vitamínem C v ruce (nebo si doneseme několik plodů šípkové růže). Některému z žáků dáme ochutnat a zptáme se, jak by ochutnanou látku charakterizoval. Základním vjemem bude kyselá chuť. Navázat můžeme tím, že vitamín C bude patrně kyselina, když chutná kysele. Následně uvedeme jeho vzorec a zmíníme se o jeho důležitých chemických

kých vlastnostech (oxidace a redukce v anorganické a organické chemii). Zeptáme se žáků na význam vitamínu C pro náš organizmus a uvedeme historické pozadí jeho objevu. Žáci často slyší v reklamách o antioxidantech. Rozvineme diskuzi o tom, co to antioxidant je a jaké bude jeho působení v našem organismu.

Bezpečnost práce

Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. Dbejte zvýšené opatrnosti a s chemikáliemi zacházejte vždy v souladu s instrukcemi na obalu. Nikdy nepipetujte ústy. V laboratoři používejte ochranné brýle, plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí.

I_2 (Xn, N, R 20/21-50, S 23-25-61)

$K_2Cr_2O_7$ (T+, N, O, R 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53, S 53-45-60-61)

H_2SO_4 (C, R 35, S 26-30-45)

Příprava úlohy

Roztok jodu připravíme tak, že ve třecí misce rozetřeme 10 g KI s 13 g I_2 a z této směsi připravíme 1 l vodného roztoku. Protože se obsah jodu v roztoku s časem mění, je třeba vždy před jeho použitím stanovit jeho přesnou koncentraci (**roztok** tzv. **standardizovat**). Roztoky $K_2Cr_2O_7$ a $Na_2S_2O_3$ jsou třeba právě ke standardizaci roztoku jodu. Pokud bychom standardizaci roztoku jodu neprovedli, mohly by být naše výsledky zatíženy značnou chybou. V rámci pracovního postupu pro žáky není postup standardizace uveden. V prvním kroku je třeba standardizovat roztok thiosíranu a ten poté použít ke standardizaci roztoku jodu. Předpokládá se, že tuto část provede pedagog předem podle následujícího postupu:

1) Standardizace roztoku $Na_2S_2O_3$:

Do titrační baňky dáme 1 g pevného KI a dále přidáme 50 ml H_2O , 10 ml roztoku $K_2Cr_2O_7$ a 5 ml roztoku H_2SO_4 . Ztitrujeme roztokem $Na_2S_2O_3$. (Typická spotřeba je kolem 10 ml.) Bod ekvivalence detekujeme vizuálně nebo s využitím ORP elektrody (viz „Postup práce“). Vypočteme skutečnou koncentraci roztoku dosazením do vztahu:
 $c(Na_2S_2O_3) = 6 \cdot c(K_2Cr_2O_7) \cdot V(K_2Cr_2O_7) / V(Na_2S_2O_3)$, konkrétně tedy
 $c = 1,02 / (\text{spotřeba titračního činidla v ml})$.

2) Standardizace roztoku I_2 :

Do titrační baňky pipetujeme 10 ml roztoku I_2 a 50 ml H_2O . Titrujeme roztokem $Na_2S_2O_3$. (Typická spotřeba pro čerstvý roztok je kolem 10 ml.) Bod ekvivalence detekujeme vizuálně nebo s využitím ORP elektrody (viz „Postup práce“). Vypočteme skutečnou koncentraci roztoku dosazením do vztahu:
 $c(I_2) = c(Na_2S_2O_3) \cdot V(Na_2S_2O_3) / (2 \cdot V(I_2))$, konkrétně tedy
 $c = (\text{zjištěná koncentrace titr. činidla}) \cdot (\text{spotřeba titr. činidla v ml}) / 20$.

Předem je nutné také zajistit některý z vitamínových přípravků a další vzorek s předpokládaným obsahem vitamínu C – např. džus. Nejlépe je využít přímo tablety obsahující jako účinnou látku pouze vitamín C (tablety Celaskon). Tím se vyvarujeme případných problémů s dalšími redukujícími látkami, které mohou být v tabletách přítomny. U džusu je vhodné vybrat alespoň jeden takový, který má na obalu uvedený obsah vitamínu C. Každá skupina by si ale měla donést jiný džus. Tak bude možné v závěru cvičení vybrat ten džus, který je vitamínem C nejvíce obohacen.

Na své dataloggery PASCO SPARK nahrajte soubor **ch06-obsah_vitamínu_C-sablona.spk**. (Soubor je dostupný na portálu www.expoz.cz.)

Příprava a standardizace roztoků

Nedejte se odradit poněkud časově náročnější přípravou roztoků. Pokud celý postup alespoň jednou absolvujete, zjistíte, že příprava a standardizace potřebných roztoků vám zabere méně než hodinu.

Technická úskalí, tipy a triky

Vzhledem k možným problémům s dalšími redukujícími látkami v tabletách vitamínových přípravků je vhodné předem experiment vyzkoušet. V případě, že je cvičení zařazeno do semináře ve vyšších ročnících, je vhodné ponechat také standardizaci roztoků na žácích.

Úloha umožňuje pracovat paralelně na několika částech. Ideální jsou dvoučlenné pracovní skupiny. První žák pracuje na **přípravě titrační aparatury** – bod č. 1, druhý žák **připravuje vzorky** – bod č. 2. Nastavení HW a SW a vlastní titraci provádí následně společně.

Postup práce

Úlohu můžeme rozdělit do několika kroků:

1) Příprava titrační aparatury

- Na stojan upevněte držák a do něj byretu. Pokračujte druhým držákem, ve kterém bude následně upnuta ORP elektroda.
- Pod stojan umístěte magnetickou míchačku. Na ni postavte 100 ml kádinku, ve které budete reakci provádět. Na závěr do kádinky vložte magnetické míchadlo.
- Na tělo ORP elektrody nasadte druhé magnetické míchadélko (je v příslušenství k elektrodě). Upněte ORP elektrodu do držáku. Ověřte si, že elektroda bude při objemu 60 ml dostatečně ponořená, a přitom bude alespoň 1 cm nad dnem kádinky. Pokud tomu tak není, použijte jinou kádinku vhodnější velikosti.
- Naplňte byretu roztokem jodu o známé koncentraci tak, aby byla hladina u hodnoty 0.
- Tím máte titrační aparaturu připravenou.

2) Příprava vzorků

- Vitamínový přípravek:
Rozpusťte vitamínový přípravek v menším množství destilované vody. Kvantitativně roztok převedte do 50 ml odměrné baňky a doplňte vodou po rysku.
Pokud není tableta vitamínového přípravku dobře rozpustná, je vhodné tabletu předem rozetřít v třecí misce. Roztok si označte jako vzorek č. 1.
- Džus:
Z čerstvě otevřeného džusu odměřte odměrným válcem 50 ml. Tento vzorek si označte jako vzorek č. 2. Pokud džus obsahuje kousky dužniny, je vhodné ho před vlastní titrací přefiltrovat. Není to ale nezbytné, protože se ukázalo, že s ORP elektrodou můžete měřit i přímo v nefiltrovaném, poměrně hustém vzorku.

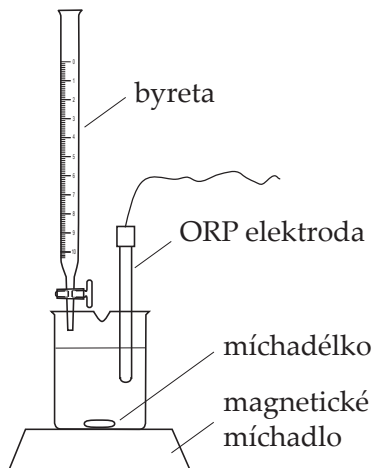
3) Nastavení HW a SW, vlastní měření – titrace (viz následující části).

Nastavení HW a SW

- K rozhraní PASCO SPARK připojte rozhraní pro připojení elektrody („Precision pH and Temperature plus ORP/ISE Amplifier“, PS-2147).
- Pomocí BNC konektoru připojte vlastní elektrodu (CI-6716). Po nasunutí konektoru pootočením objímky konektor zajistěte.
- Na svém dataloggeru SPARK si otevřete soubor **ch06-obsah_vitamínu_C-sablona.spk**.

Vlastní měření a záznam dat

- Vitamínový přípravek:
 - Do kádinky odměřte 10 ml vzorku č. 1. Přidejte 50 ml destilované vody a poté 5 ml 10% kys. sírové.
 - Spusťte magnetickou míchačku a nastavte střední otáčky míchání. (Při malých otáčkách by docházelo k nedostatečnému míchání.)
 - Zkontrolujte, zda je elektroda v míchaném roztoku řádně ponořena.



Obr. 2: Schéma sestavené titrační aparatury

Stabilita vitamínu C

Zajímavé je např. porovnání obsahu vitamínu C v čerstvě otevřeném džusu s džusem, který stál týden ve sklenici.

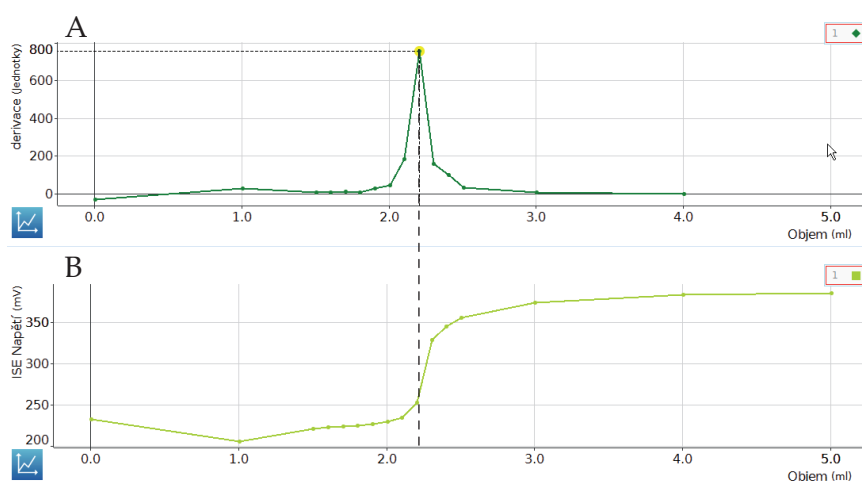
Použití počítadla kapek

V této úloze budete měřit pouze pomocí ORP elektrody a využijete klasickou byretu. Alternativně můžete použít namísto byrety počítadlo kapek. Tím všechny titrace urychlíte a zautomatizujete, což je vhodné především při analýze většího množství vzorků.



Obr. 3: Připravené pracovní místo s již připojenou ORP elektrodou

- d) Na dataloggeru přejděte v otevřeném souboru na druhou stranu. Tam je tabulka, do které se budou naměřené hodnoty postupně zaznamenávat.
- e) Zaznamenávání dat zahajte kliknutím na tlačítko *Start*. Tlačítko se změní na *zelené zatržítko*. Pokaždé, když budete chtít zaznamenat aktuální hodnotu, klikněte na toto tlačítko. Hodnota se objeví v tabulce a dojde k automatickému přesunutí na další řádek. Před kliknutím na toto tlačítko vždy vyčkejte ustálení hodnoty potenciálu.
- f) Hodnotu odpovídající spotřebovanému objemu titračního roztoku doplňte ručně. (V horní části tabulky klikněte na *tlačítko s tabulkou*. Ze zobrazených nástrojů vyberte *šipku* a klikněte do sloupce s objemem. Poté klikněte na *tlačítko s písmenem T*. Nyní můžete zadat objem odečtený z byrety.)
- g) První titrace je orientační a můžete postupovat po kroku 0,5 ml. (Při druhé a třetí titraci použijte již v oblasti, kde se budete blížit bodu ekvivalence, menší krok.)
- h) V titraci pokračujte několik ml i po dosažení bodu ekvivalence. (Grafický průběh titrace je zaznamenaný na stránce č. 3 ve vašem otevřeném souboru – ukázka na obr. 4.)



Obr. 4: Určení bodu ekvivalence – dole klasická potenciometrická titrační křivka, nahoře její první derivace (strana č. 3 v otevřeném souboru na dataloggeru)

- i) Ukončete záznam dat kliknutím na tlačítko *Stop*.
 - j) Zreagovaný obsah kádinky zlikvidujte dle instrukcí pedagoga.
 - k) Po prvním orientačním provedení titraci ještě alespoň dvakrát zopakujte.
 - l) Na závěr si nezapomeňte soubor uložit pod svým názvem pro další použití a případný tisk protokolu.
- 2) Džus:
- a) Džus obsahuje většinou podstatně méně vitamínu C než vitamínový přípravek v předchozí části, a proto budete pracovat s větším objemem původního vzorku.
 - b) Do kádinky odměřte 50 ml vzorku č. 2. Přidejte 10 ml destilované vody a poté 5 ml 10% kys. sírové.
 - c) Další postup je stejný jako v případě vitamínového přípravku (viz bod č. 1b–l).

Koncentrace a ředění

Při výpočtech nezapomeňte, že s džusem jste pracovali v jeho původní neředěné podobě. (Při stanovení bylo použito 50 ml.) V případě tablety jste použili pouze 1/5 z celkového objemu připraveného roztoku (tj. 10 ml (při titraci) z celkového množství 50 ml).

Hodnocení výsledků

Základem pro vyhodnocení vašeho experimentu je porovnání zjištěných hodnot obsahu kyseliny askorbové s očekávanými hodnotami (tj. hodnotami uvedenými výrobcem). Vzhledem k relativně malým koncentracím vitamínu C v některých džusech je každá nepřesnost při odměřování a přípravě roztoků faktorem, který výrazně ovlivní celkový výsledek. Stejně tak je potřeba počítat s případným stářím materiálu, se kterým pracujete (např. starý, několik let otevřený, Celaskon bude obsahovat značně menší množství sledované látky než preparát nově zakoupený).

Syntéza a závěr

Na závěr je vhodné žákům shrnout:

- Co jsou to vitamíny.
- Jak vypadá vitamín C, jakou roli hraje v našem organismu.
- K čemu se používají titrační metody, jaké výpočty musíme zvládat.
- Co jsou to potenciometrické titrace a jak se dají využít v případě redoxních reakcí.
- Jak analyzovat průběh titrační křivky, co je to bod ekvivalence.
- Jaké množství vitamínu C jsme zjistili v jednotlivých džusech. Který z nich byl na vitamín C nejbohatší?

Analýza naměřených dat

- 1) K analýze je určena stránka č. 3 ve vašem otevřeném souboru. V dolní části zde vidíte získanou křivku. Označujeme ji jako „**potenciometrickou titrační křivku**“. Prostudujte její průběh. V horní části je graf, na kterém je, díky derivaci spodní křivky (maximum), dobře patrný bod ekvivalence. Na straně č. 4 je pak ještě zobrazena druhá derivace, u které můžeme, v některých případech, bod ekvivalence detekovat lépe než na grafu první derivace.
- 2) Z dostupných grafů odečtete co nejpřesněji objem spotřebovaného titračního činidla. (Využijte tlačítko *Nástroje grafu* a následně *Šipku*. Poté klikněte v grafu na *bod odpovídající dosažené ekvivalenci* a v horní části odečtete spotřebovaný objem jako hodnotu x).
- 3) Ze zjištěných údajů dopočítejte koncentrace kyseliny askorbové v původních vzorcích. (Reakce mezi titračním činidlem a kys. askorbovou probíhá v poměru 1:1.) Zkonfrontujte tyto hodnoty s hodnotami udávanými výrobcem.

Hodnocení práce žáků

- Sestavili a použili žáci měřicí aparaturu správně?
- Postupovali žáci korektně podle pracovního návodu?
- Vypracovali žáci správně své pracovní listy?
- Interpretovali žáci výsledky správně?
- Shrnuli žáci nové poznatky v závěru?

Informační zdroje

- <http://www.celaskon.cz>
- http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Titration>
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Iodometry>
- POPL, M. *Instrumentální analýza*. SNTL, 1986
- BENDER, David A. *Nutritional Biochemistry of the Vitamins*. Cambridge: Cambridge University Press, 2003. ISBN 978-051-1615-191. (<http://ebooks.cambridge.org/ebook.jsf?bid=CBO9780511615191>)