

Beata Dasiewicz¹ i Katarzyna Dobrosz-Teperek¹

¹Katedra Chemii
Wydział Nauk o Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
ul. Nowoursynowska 159C
02-776 Warszawa
tel. 022 593 76 25
email: beata_dasiewicz@sggw.pl

**OZNACZANIE WITAMINY C W OWOCACH ROŚLIN DZIKO ROSNĄCYCH -
PROPOZYCJA ĆWICZENIA STUDENCKIEGO****DETERMINATION OF VITAMIN C CONTENT IN WILD GROWING PLANTS -
PROPOSAL FOR STUDENT EXERCISE**

Streszczenie: Celem opracowanego ćwiczenia było zapoznanie studentów z różnymi metodami oznaczeń zawartości witaminy C w materiale roślinnym. Porównano wartości liczbowe zawartości witaminy C w owocach świeżych i mrożonych wraz z danymi literaturowymi.

Słowa kluczowe: ćwiczenie studenckie, witamina C, kwas *L*-askorbinowy, oznaczanie witaminy C

Summary: The objective of exercise was familiarize students with different methods of sign vitamin C in vegetable material. Content of vitamin C was compared for fresh and frozen fruits as well as with literature data.

Keywords: students exercise, vitamin C, ascorbic acid, determination of vitamin C

Na wielu kierunkach studiów wydziałów niechemicznych chemia jest przedmiotem podstawowym, realizowanym na pierwszym roku studiów. Stanowi ona wprowadzenie do przedmiotów zawodowych (fizjologii roślin i zwierząt, gleboznawstwa, mikrobiologii, kosmetologii czy konserwacji zabytków). Te kierunki studiów wybierają osoby, których zainteresowanie chemią jest znikome, a w wielu przypadkach żadne, co np. musi wpłynąć na metody stosowane w ich kształceniu. Podstawowym zatem celem nauczyciela akademickiego staje się w tym przypadku przełamanie niechęci i obaw przed chemią, w miarę szybkie i zrozumiałe wyłożenie wiedzy oraz wyraźne wskazanie wiadomości chemicznych korelujących z kierunkiem kształcenia studentów. Mając na uwadze powyższe cele oraz fakt, że eksperyment jest najskuteczniejszym sposobem na przyswojenie wiadomości, autorki niniejszego artykułu opracowały na podstawie publikacji [1-4] i zmodyfikowały ćwiczenie studenckie łączące w sobie wiedzę na temat podstaw metod ilościowego i jakościowego oznaczania zawartości związków organicznych w materiale biologicznym oraz metod spektralnych. Ćwiczenie zostało przeprowadzone w pracowni chemii przez studentów I roku stacjonarnych studiów I stopnia Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW (kierunek Ogrodnictwo). Opracowane ćwiczenie składa się z czterech części:

1) jakościowe oznaczenie zawartości witaminy C metodą chromatografii cienkowarstwowej,

- 2) ilościowe oznaczenie zawartości witaminy C metodą miareczkowania jodometrycznego,
- 3) teoretyczne zapoznanie się metodą spektroskopii w podczerwieni i analiza widma IR kwasu *L*-askorbinowego,
- 4) badania literaturowe prowadzone przez studentów na temat występowania witaminy C w owocach i warzywach oraz jej znaczenia dla organizmów żywych. Ćwiczenie zostało zrealizowane w formie dwóch trzygodzinnych zajęć.

Do prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego, oprócz węglowodanów, białek, tłuszczów i związków mineralnych, niezbędne są również witaminy. Funkcje witamin obejmują szereg procesów metabolicznych, a także przemianę tłuszczów i węglowodanów w energię, prawidłowe działanie wielu enzymów (tzw. koenzymy, czyli substancje pomagające enzymom), które są przekaźnikami elektronów, atomów lub grup chemicznych podczas reakcji biochemicznych, współdziałają w procesie odnowy uszkodzonych tkanek, tworzenie hormonów, przeciwciał, krwinek, budowę materiału genetycznego itd. Witaminy nie są natomiast źródłem energii i materiałem budulcowym. Zdecydowana większość witamin nie może być syntetyzowana przez organizm ludzki, dlatego też muszą być dostarczane z pożywieniem. Do tej grupy należy witamina C, czyli kwas *L*-askorbinowy. Jest ona jednym z najważniejszych antyoksydantów, pomagającym usuwać z organizmu rakotwórcze nitrozoaminy i rodniki

[5-7]. Witamina C znajduje się w świeżych owocach i warzywach w różnych ilościach. Doskonałym jej źródłem są zarówno owoce cytrusowe, owoce dzikiej róży, jak i papryka, liście pietruszki czy liście drzew iglastych. Większość zwierząt ma zdolność wytwarzania tej witaminy. Należy jednak pamiętać o tym, że ilość witaminy C w wymienionych produktach zmienia się w zależności od pory roku, sposobu ich przechowywania czy przygotowywania potraw. Witamina C bowiem rozpuszcza się w wodzie, jest bardzo wrażliwa na działanie światła, temperatury i powietrza.

Celem opracowanego ćwiczenia było zestawienie i porównanie różnych metod analitycznych wykorzystywanych do oznaczania witaminy C w owocach roślin dziko rosnących.

Część eksperymentalna

Jako materiał do badań zostały wybrane owoce dzikiej róży, jarzębiny, głogu, rokitnika i berberysu, zebrane i przyniesione przez studentów. Oznaczenie zawartości witaminy C w owocach świeżych oraz mrożonych miało na celu wykazanie zmian ilościowych w owocach przechowywanych przez okres 3 miesięcy w temperaturze -18°C .

Jakościowe oznaczenie zawartości witaminy C metodą chromatografii cienkowsarstwowej. Odczynniki i sprzęt: 10 g owoców roślin dziko rosnących: dzikiej róży, jarzębiny, głogu, rokitnika, berberysu oraz octan etylu, kwas *L*-askorbinowy, płytki pokryte żelazem krzemionkowym, komora chromatograficzna, piasek, żołądź, lampa UV, waga, kapilary.

Wykonanie: odważone uprzednio owoce należy zmiażdżyć w żołądź z niewielką ilością piasku i octanu etylu. Roztwór kwasu *L*-askorbinowego (jako wskaźnik) i uzyskany z owoców ekstrakt nanieść na płytkę chromatograficzną i rozwinąć w octanie etylu. Rozwinięty chromatogram TLC obejrzeć pod lampą UV, gdzie na tej samej wysokości widoczne będą plamki pochodzące od wzorca i witaminy C zawartej w owocach. Obliczyć współczynnik R_f .

Ilościowe oznaczenie zawartości witaminy C metodą miareczkowania jodometrycznego. Odczynniki i sprzęt: jod, jodek potas, kwas *L*-askorbinowy, skrobia rozpuszczalna, 10 g owoców roślin dziko rosnących: dzikiej róży, jarzębiny, głogu, rokitnika i berberysu oraz kwas szczawiowy, żołądź, kolby miarowe o pojemności 1000 cm^3 i 250 cm^3 , kolba stożkowa o pojemności 250 cm^3 , zlewka, pipety, biureta.

Wykonanie: Około 1 g jodu i 1 g jodku potasu dokładnie rozdrobnić w żołądź, a następnie przenieść do kolby miarowej o poj. 1000 cm^3 i wymieszać jej zawartość. W kolbie miarowej o pojemności 250 cm^3 umieścić dokładnie odważone 0,25 g kwasu *L*-askorbinowego, dopełnić do kreski miarowej wodą destylowaną, uzyskując roztwór o dokładnie znanym stężeniu. Za pomocą roztworu kwasu *L*-askorbinowego oznaczyć stężenie roztworu jodu w jodku potasu, stosując roztwór 1 cm^3 , uzyskany z 1 g skrobi rozpuszczonego w 100 cm^3 wody jako wskaźnika. Miareczkowanie prowadzić do momentu pojawienia się pierwszej zmiany barwy miareczkowanego roztworu na kolor ciemno-

niebieski. Przygotować 10% roztwór kwasu szczawiowego. Następnie 10 g owoców umieścić w żołądź, dodać 20 cm^3 roztworu kwasu szczawiowego i dokładnie utrzeć. Całość próbki przenieść do kolby stożkowej, dodać 20 cm^3 wody i 1 cm^3 roztworu skrobi, a następnie miareczkować roztworem jodu w jodku potasu do uzyskania ciemnoniebieskiego zabarwienia. Oznaczenie wykonać w co najmniej dwóch równoległych, powtarzalnych próbach.

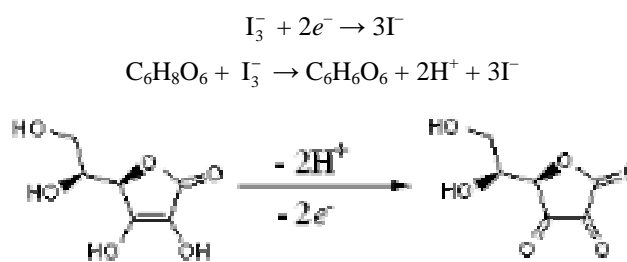
Rejestracja i analiza widma IR kwasu *L*-askorbinowego. Odczynniki i sprzęt: kwas *L*-askorbinowy, KBr, spektrometr do rejestracji widm FT-IR.

Wykonanie: Sporządzić pastylkę z KBr i kwasu *L*-askorbinowego oraz zarejestrować widmo FT-IR, a następnie przypisać głównym pasmom (rozciągającym) grupy funkcyjne.

Wyniki

Analiza otrzymanych chromatogramów TLC wskazuje na różną zawartość witaminy C w badanych owocach. Współczynniki R_f dla witaminy C w owocach miały zbliżone wartości od 0,38 do 0,43.

Ilościowe, jodometryczne oznaczenie zawartości kwasu *L*-askorbinowego przebiega zgodnie ze schematem pokazanym na rysunku 1.



Rys. 1. Kwas *L*-askorbinowy i kwas *L*-dehydroaskorbinowy

Metoda jodometryczna oznaczania zawartości witaminy C jest metodą nieprecyzyjną (jednakże wybrano ją do badań ze względu na jej prostotę i dostępność), ponieważ oprócz kwasu *L*-askorbinowego znajdują się w materiale roślinnym także inne związki o charakterze redukcyjnym reagujące z jodem. Literaturowe porównania oznaczeń zawartości witaminy C różnymi metodami wskazują na stosunkowo niewielkie różnice nieprzekraczające 10% [9, 10].

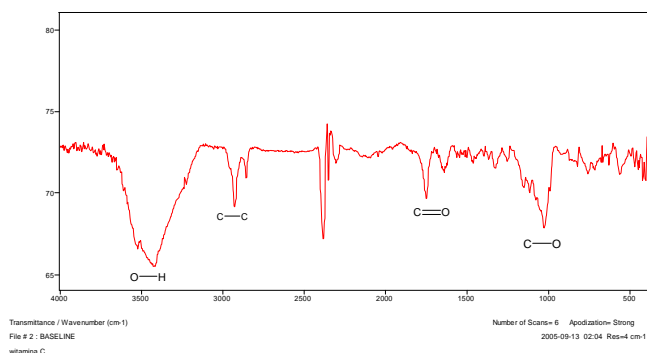
Oznaczoną i przeliczoną na 100 g owoców zawartość witaminy C w owocach świeżych oraz mrożonych przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Zawartość witaminy C w świeżych i mrożonych owocach

Owoce	Zawartość witaminy C w świeżych owocach [mg/100 g]	Zawartość witaminy C w mrożonych owocach [mg/100 g]	Literaturowa zawartość witaminy C w owocach świeżych [mg/100 g] [7, 8]
Dzika róża	604	484	250÷1000
Jarzębina	69,5	58	100÷200
Głóg	230	186	60÷800
Rokitnik	99	88	200÷450
Berberys	42,5	37	75÷140

Porównanie wartości liczbowych zawartości witaminy C w owocach świeżych i mrożonych wskazuje, że ten sposób przechowywania surowca jest bardzo korzystny [8]. Spadek zawartości badanej witaminy nie przekroczył 20%. Różnice oznaczeń studenckich względem danych literaturowych mogą zatem wynikać z niedoskonałości metody i niewielkiego doświadczenia eksperymentatorów.

Przypisanie głównym pasmom odpowiednich grup atomów w molekułę kwasu *L*-askorbinowego nie sprawiło studentom większego kłopotu (rys. 2).



Rys. 2. Widmo IR kwasu *L*-askorbinowego

Wnioski i podsumowanie

Ważnym elementem dydaktycznym nabywanym przez studentów jest umiejętność interpretacji uzyskanych wyników. Po wykonaniu ćwiczenia studenci w dziennikach laboratoryjnych wykonują sprawozdanie zawierające:

- analizę chromatogramu TLC (obliczenie R_f),
- obliczenia zawartości witaminy C w owocach,
- porównanie wyników z danymi literaturowymi (wymagany komentarz),
- analizę widma IR (przypisanie najważniejszych pasm).

Opracowane ćwiczenie wymaga niewielkiego nakładu finansowego ze względu na małe zużycie odczynników che-

micznych. Jest ono realizowane w październiku (na trzech zajęciach) i w styczniu (na ostatnich zajęciach). Studenci przynoszą owoce w okresie jesiennym, kiedy wykonywana jest pierwsza część ćwiczenia (chromatografia TLC i miareczkowanie jodometryczne dla świeżych owoców). Część owoców jest mrożona, co gwarantuje dostateczną ilość materiału do ćwiczeń potrzebnego na ostatnich zajęciach (miareczkowanie jodometryczne dla mrożonych owoców i widmo IR). Jedynym mankamentem ćwiczenia jest ograniczenie czasowe.

Z wykonanych wśród studentów sondażowych badań ankietowych wynika, że pozytywnie ocenili nowe ćwiczenie. Zwrócili szczególną uwagę na przydatność i korelację ćwiczenia z ich przyszłym zawodem.

Z przeprowadzonego doświadczenia wynika, że jest to dobra metoda pracy ze studentami mało aktywnymi, szczególnie słabymi i mało zainteresowanymi przedmiotem.

Literatura

- [1] Fortuna T., Juszcak L. i Sobolewska J.: Podstawy analizy żywności. Wyd. Akad. Roln. w Krakowie, Kraków 2001.
- [2] Żurakowski M., Prądyński W. i Wójcik A.: Materiały do ćwiczeń z technologii leśnych produktów ubocznych. Wyd. Akad. Roln. w Poznaniu, Poznań 1990.
- [3] Toczko M. i Grzebińska A.: Materiały do ćwiczeń z biochemii. Wyd. SGGW, Warszawa 2001.
- [4] Białecka-Florjańczyk E. i Włostowska J.: Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej. Wyd. SGGW, Warszawa 2005.
- [5] Halliwell B.: *Antioxidants in human health and disease*. Ann. Rev. Nutr., 1996, **16**, 39-50.
- [6] Halliwell B.: *Vitamin C: poison, prophylactic or panacea?* Trends Biochem. Sci., 1999, **24**, 255-259.
- [7] Englard S. i Seifter S.: *The biochemical functions of ascorbic acid*. Ann. Rev. Nutr., 1986, **6**, 365-406.
- [8] Czerwińska D.: *Zamrożona wygoda*. Przegl. Gastron., 2005, (1), 6-14.
- [9] Moszczyński P. i Pyć R.: *Biochemia witamin. Część II. Witaminy liofilne i kwas askorbinowy*. WN PWN, Warszawa 1999.
- [10] Mrożewski S. i Grochowski W.: *Studia nad przechowywaniem owoców żurawiny*. Zesz. Inst. Bad. Leśn., 1950, **77**, 17.