

آزمایشگاه آموزشی
بیست و دومین المپیاد
زیست‌شناسی ایران

بیوشیمی

تیتراسیون ۳

روز سوم
۹۸/۴/۳۱

اهداف آزمایش:

۱. ادامه یادگیری اصول تیتراسیون و محاسبات مربوطه
۲. ادامه یادگیری کار با دستگاه اسپکتوفتومتر و محاسبات مربوطه

زمان آزمایش: ۹۰ دقیقه



این فایل به منظور آموزش عملی دانش‌پژوهان المپیاد زیست‌شناسی ایران گردآوری شده است.

● تعیین مقدار ویتامین C با تیتراسیون | تعیین مقدار ویتامین C با جذب نوری | سوالات تئوری



قرص های ویتامین C

مکمل های ویتامین C، مکمل های معروفی در فصل زمستان هستند که به شکل های مختلف فرآوری شده در بازار وجود دارند و می توان از این موارد به قرص های جوشان، کپسول، قرص های جویدنی و فرم تزریقی اشاره کرد. در آزمایش امروز درصد ویتامین C را در یک نمونه قرص مشخص خواهیم کرد.

تعیین مقدار ویتامین C با تیتراسیون

آسکوربیک اسید با مولکول I_2 واکنش می دهد و تولید dehydroascorbic acid (DHA) می کند. این یک واکنش اکسایش و کاهش می باشد. هر مولکول آسکوربیک اسید (A) با یک مولکول I_2 واکنش می دهد. برای تعیین نقطه پایانی این واکنش از چسب نشاسته استفاده می کنند. I_2 با نشاسته کمپلکس سرمه ای رنگ تشکیل می دهد. زمانی که تمام آسکوربیک اسید در نمونه تمام شود، مقدار اضافی I_2 با نشاسته کمپلکس می دهد و رنگ محلول سرمه ای رنگ می شود.

تعیین مقدار ویتامین C با جذب نوری

ترکیباتی که دارای پیوند های π باشند دارای جذب نوری در ناحیه UV و یا در ناحیه مرئی هستند. ویتامین C هم در ناحیه UV دارای جذب می باشد. البته مجهول ها همراه با excipient های قرص می باشد، پس باید به گونه ای جذب مواد excipient را حذف کرد. در این آزمایش قرار است شما مقدار ϵ_{DHA} ، ϵ_A را در ابتدا بیابید و سپس با استفاده از مقدار جذب مجهول و اطلاعات به دست آمده، با استفاده از اسپکتوفتومتری مقدار مجهول را بیابیم.

نکات مورد نیاز آزمایش:

۱. $pK_a = 4.17$

۲. این آزمایش باید در زمان مشخص شده انجام شود.

وسایل مورد نیاز:

۱. بورت
۲. پیپت حباب‌دار ۲۵CC
۳. یک عدد بالن ژوژه ۱۰۰CC
۴. یک عدد ارلن مایر
۵. یک عدد پوار
۶. یک عدد پیست آب مقطر
۷. یک عدد میله شیشه‌ای
۸. دو عدد کووت
۹. یک عدد بشر ۲۵۰CC
۱۰. یک عدد قیف
۱۱. یک عدد بشر
۱۲. یک عدد فالکون ۵۰CC

مواد مورد نیاز:

۱. محلول ید ۰.۰۵M
۲. یک عدد قرص ویتامین C
۳. چسب نشاسته
۴. محلول استاندارد ۰.۱M آسکوربیک اسید

روش کار تیتراسیون:

۱. قرص را درون ۳۰CC آب مقطر حل کنید.
۲. محلول را درون یک بالن ژوژه ۱۰۰CC به حجم ۱۰۰CC برسانید.
۳. ۲۵CC از محلول مجهول را درون ارلن مایر منتقل کنید.
۴. درون ارلن مایر ۱۵۰CC آب مقطر اضافه کنید.
۵. ۱CC از محلول چسب نشاسته درون ارلن مایر اضافه کنید.
۶. بورت خود را با ید پر کنید.
۷. نمونه آماده شده در ارلن مایر را با ید تا نقطه ی پایانی تیتراسیون کنید.
۸. مراحل ۳ به بعد را می‌توانید یک بار دیگر انجام دهید.

روش کار اندازه‌گیری غلظت با دستگاه اسپکتوفتومتر:

۱. کووت خود را با آب مقطر بشویید.
۲. کووت خود را با محلول استاندارد آسکوربیک اسید پر کنید.
۳. λ_{max} آسکوربیک اسید را در بین اعداد داده شده بیابید.
۴. مقدار ϵ را برای آسکوربیک اسید در طول موج ماکسیمم بیابید.

۵. کووت خود را بار دیگر با آب مقطر بشویید و مقدار ϵDHA را در همان طول موج بیابید.
۶. 25CC از مجهول خود بردارید و درون ارلن مایر خشک بریزید.
۷. سپس به اندازه حجمی که در تیتراسیون یافتید، به ارلن مایر اضافه کنید.
۸. حال جذب این نمونه را اندازه بگیرید.
۹. با توجه به اطلاعاتی که یافته‌اید و فرمول داده شده غلظت آسکوربیک اسید را بیابید.

تیتراسیون : (15 نمره)

جدول تیتراسیون

وزن قرص	
---------	--

اول	دوم	سوم
حجم آغازی		-
حجم پایانی		-
حجم مصرفی		-

حجم نهایی (V_{tit}) (۲ نمره)	
----------------------------------	--

محاسبات:

درصد ویتامین C در قرص (۱۳ نمره)	
---------------------------------	--

اندازه گیری غلظت با دستگاه اسپکتوفتومتر : (20 نمره)

λ_{max}

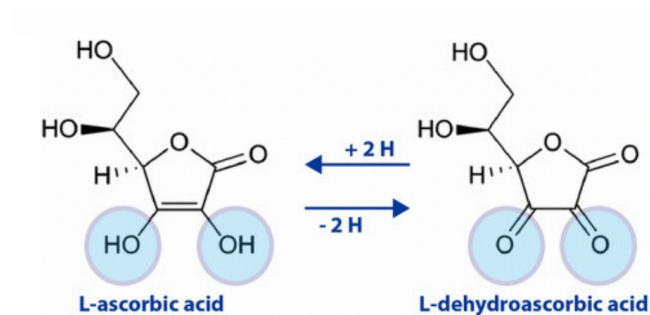
320nm	350nm	380nm	
			a

	ϵ_A
	ϵ_{DHA}
	جذب محلول مجهول (a_1)
	جذب محلول ساخته شده (a_2)
	$C_A = \frac{a_1 - a_2 \times \frac{25 + V_{tit}}{25}}{\epsilon_A - \epsilon_{DHA}}$

درصد آسکوبیک اسید در قرص با استفاده از اطلاعات به دست آمده از جذب نوری:

--

سوالات تئوری : (۲۰ نمره)



فرض کنید مقدار ویتامین C جذب شده (به میلی گرم) از طریق دستگاه گوارش پس از مصرف منبعی غنی از آن در مردی ۷۰ کیلوگرمی (۵ لیتر خون با هماتوکریت ۴۵ درصد) از قسمت مثبت معادله $VitC = \frac{(t - 12) \cdot Intake}{(t - 12) + 18}$ پیروی می‌کند. در این معادله t زمان گذشته از مصرف منبع ویتامین به دقیقه و Intake مقدار کل ویتامین خورده شده به میلی گرم می‌باشد. ویتامین جذب شده در دستگاه گوارش در همان لحظه در تمام خون پخش می‌شود (خون را در هر لحظه همگن در نظر بگیرید). فرض کنید ویتامین C از غشای سلول‌های خونی عبور نمی‌کند و مقدار مصرف و دفع کلیوی آن قابل چشم‌پوشی است.

با توجه به دانش خود، موارد بالا و نتیجه به دست آمده از بخش تیتراسیون به سوالات زیر پاسخ دهید:

۱. در صورتی که فردی ۳ قرص مکمل مصرف کند غلظت ویتامین C را در خون وی بعد از ۱۵ دقیقه به دست آورید. (۳ نمره)

۲. در صورتی که pH نرمال خون برابر ۷.۴ باشد، برای آنکه pH خون فردی که مکمل مصرف می‌کند بعد از ۲۰ دقیقه برابر ۷ شود حدوداً باید چند قرص مکمل مصرف کند؟ از سیستم‌های بافری صرف نظر کنید. (۶ نمره)

۳. تعداد کربن‌های دارای آرایش فضایی R را در ویتامین C احیا و اکسیدشده بنویسید . (۴ نمره، هر مورد ۲ نمره)

۴ (صحت گزاره های زیر را بررسی کنید. (۷ نمره، هر پاسخ درست ۱.۴+ هر پاسخ نادرست ۰.۷-)

- الف. مصرف مکمل ویتامین C در آزمایش وجود قند در ادرار (یکی از تست های غربالگری دیابت) نتیجه مثبت کاذب ایجاد می‌کند.
- ب. میزان جذب محلول ویتامین C با غلظت معین در محیط اسیدی کاهش می‌یابد .
- ج. امکان مسمومیت با ویتامین C از راه خوراکی یا تزریق وریدی وجود ندارد.
- د. در اسکوروی الاستیسیته بافت پیوندی کاهش می‌یابد.
- ه. تجویز مکمل خوراکی هیدروکسی پرولین برای افراد مبتلا به اسکوروی ارزش درمانی دارد.