

# Uloga luteina u ljudskom organizmu i određivanje njegove koncentracije u jajima UV-VIS spektrofotometrijom

---

**Marunica, Matea**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:313975>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-05**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Matea Marunica

***Uloga luteina u ljudskom organizmu i  
određivanje njegove koncentracije u jajima UV-  
VIS spektrofotometrijom***

Završni rad

Mentorica : doc.dr.sc. Olivera Galović

Osijek, 2018.

## SAŽETAK

Lutein je pigment koji pripada skupini karotenoida ne-provitamina A kao i njegov izomer zeaksantin. Ljudski organizam ga ne može sintetizirati kao biljke, pa ga mora unositi hranom budući da mu je potreban za normalnu funkciju. Najveća koncentracija luteina u čovjeku se nalazi u žutoj pjegi gdje služi kao zaštita od zračenja visoke energije pa njegov nedostatak može uzrokovati probleme s vidom.

UV-VIS spektrofotometrija je analitička metoda pogodna za kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Apsorpcijski maksimum luteina je na valnoj duljini od oko 445nm što pripada vidljivoj djelu spektra što ga čini pogodnim za proučavanje ovom metodom. Standardnim otopinama luteina različitih koncentracija su snimljeni apsorpcijski spektri te je ovisnost koncentracija i apsorpcije prikazana baždarnim dijagramom. Lutein je izoliran iz žumanjaka domaćih i komercijalnih jaja pomoću acetona te je otopljen u heksan-etil acetatu. Svakom uzorku je spektrofotometrijski određena apsorbancija te je pomoću baždarnog dijagrama određena koncentracija. Dobiveni rezultati ukazuju na puno veću koncentraciju luteina u domaćim jajima nego u komercijalnim.

Cilj ovoga istraživanja je spektrofotometrijski odrediti koncentraciju luteina iz žumanjka jaja, komercijalnih i domaćih, te usporediti dobivene rezultate.

**Ključne riječi:** lutein, zeaksantin, spektrofotometrija, konzumna jaja

## **ABSTRACT**

Lutein is a pigment belonging to the non-provitamin A carotenoid group as well as its isomeric zeaxanthin. The human organism can not synthesise lutein as a plant, so it must be taken in by food as it is needed for a normal function. The highest concentration of lutein in humans is in the macula where it serves as a protection against high-energy radiation, so the lack of lutein can cause vision problems.

UV-VIS spectrophotometry is an analytical method suitable for qualitative and quantitative analysis. The absorption peak of lutein is on the wavelength of around 445 nm which belongs to the visible part of the spectrum and that makes lutein suitable for analysis with this method. Standard lutein solutions of different concentrations are captured by absorption spectrum and the dependence of concentration and absorbency is shown by a calibration diagram. Lutein is isolated from egg yolks of domestic and commercial eggs by acetone and dissolved in hexane-ethyl acetate. Absorption of each sample was spectrophotometrically determined and concentration was calculated using the calibration diagram. The obtained results indicate a much higher concentration of lutein in domestic eggs than in commercial.

The aim of this study is to determine the concentration of lutein in commercial and domestic egg yolks and to compare the results.

**Keywords:** lutein, zeaxanthin, spectrophotometry, consumable eggs

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. LUTEIN .....	2
2.1. Kemijska i biološka svojstva luteina .....	2
2.2. Lutein u hrani .....	5
3. UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJA .....	6
3.1. Spektrofotometar .....	6
3.2. Kvantitativna analiza pomoću UV-VIS spektrofotometrije .....	7
4. EKSPERIMENTALNI DIO .....	9
4.1. Reagensi .....	9
4.2. Instrumentacija .....	9
4.3. Priprema otopina .....	11
4.3.1. Priprema standardnih otopina luteina .....	11
4.3.2. Priprema uzoraka jaja za analizu .....	12
5. REZULTATI I RASPRAVA .....	15
5.1. Kalibracijski dijagram .....	15
5.2. Određivanje koncentracije luteina u jajima .....	16
6. ZAKLJUČAK .....	19
7. LITERATURA .....	20

## 1.UVOD

Lutein je organska molekula koja pripada skupini karotenoida. Često se proučava u smjesi zajedno s izomerom zeaksantinom. Kao većinu biljnih pigmenata, ljudski organizam ga nije sposoban sam sintetizirati. Zbog bitne uloge u zdravlju, posebice zdravom vidu, mora se unositi hranom.

Lutein kao tekućina ima žuto-smeđu boju, nije topiv u vodi, ali je topiv u mastima i krvi. Kroz tijelo se prenosi lipoproteinima. Neki od izvora luteina su tamno zeleno povrće te neke vrste žutog voća čija boja potiče između ostalog i od luteina. Osim u biljkama, lutein se u velikim koncentracijama nalazi u jajima. Zbog masovne komercijalne proizvodnje jaja, kvaliteta proizvoda je znatno smanjena. Taj problem se nastoji riješiti brojnim istraživanjima u kojima se pokušava kontrolom prehrane nesilica i drugim metodama poboljšati nutritivna vrijednost jaja.

Metoda pogodna za kvantitativnu analizu luteina je UV-VIS spektrofotometrija. Njegova izolacija se temelji na topivosti u acetonu i heksan-etil acetatu. Lutein apsorbira u vidljivom dijelu spektra te se pomoću prethodno pripremljenog baždarnog dijagrama izračunava njegova koncentracija u uzorcima jaja što je cilj ovoga istraživanja.

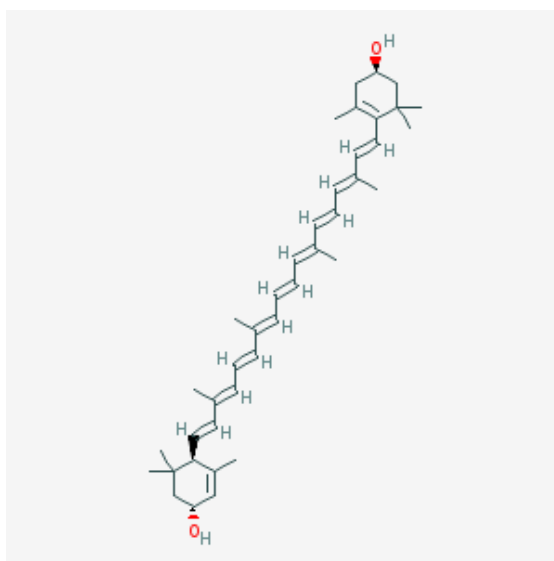
## 2. LUTEIN

Lutein pripada skupini karotenoida kao i njegov izomer zeaksantin. Obzirom na vrstu karotenoida, oba spoja su karotenoidi ne-provitamina A. Tamnozeleno povrće poput špinata, graška, kelja, poriluka i drugih obiluje visokom koncentracijom luteina [11]. Lutein također daje žuto obojenje voću i povrću poput kukuruza, papaje, rajčice i manga.

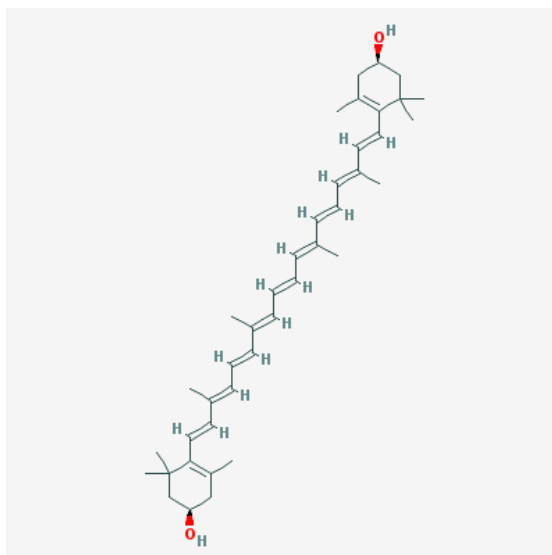
### 2.1. Kemijska i biološka svojstva luteina

Lutein se mora unositi hranom budući da ga ljudski organizam ne može sam sintetizirati kao ni druge karotenoide. Molekulska formula luteina je  $C_{40}H_{56}O_2$ , a molekulska masa 568,886 g/mol. Na sobnoj temperaturi je tamna žuto-smeđa tekućina [10]. Netopiv je u vodi, topiv je u mastima i krvi gdje 50% luteina prenose HDL (eng. *High Density Lipoprotein*) lipoproteini [1]. Lutein djeluje kao antioksidans pri čemu štiti stanice od štetnih slobodnih radikala i oksidativnog stresa.

Lutein i zeaksantin posjeduju dvije hidroksilne skupine što im omogućava drugačiju orijentaciju od ostalih karotenoidau staničnoj membrani (Slika 1.). Te hidroksilne skupine su najveća strukturna razlika između luteina i drugih karotenoida poput beta-karotena [11]. Orijentacija hidroksilnih skupina je jedina strukturna razlika između luteina i zeaksantina (Slika 2.).



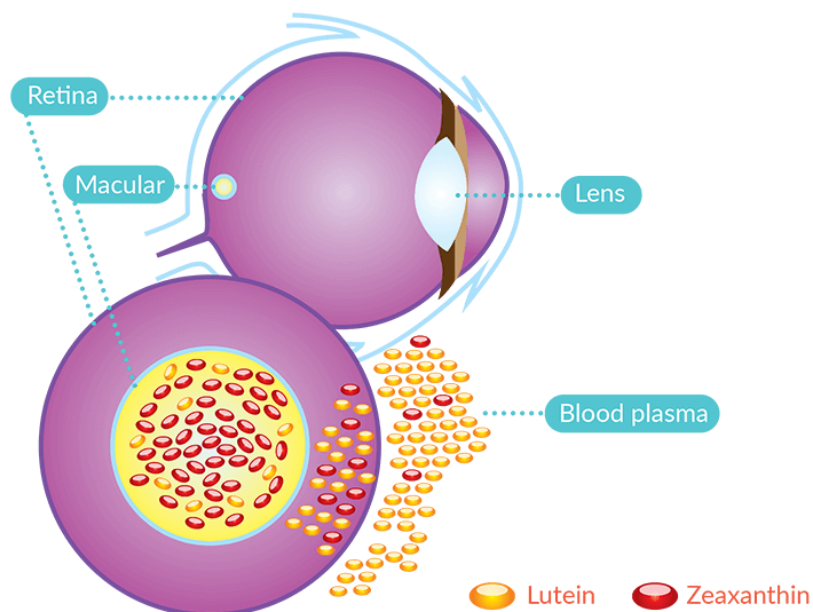
Slika 1. Prikaz strukture luteina [10]



Slika 2. Prikaz strukture zeaksantina [10]

Lutein se u ljudskom organizmu koncentrira u oku, posebno u žutoj pjegi. Istraživanja su pokazala da je unos luteina u organizam usko povezan s koncentracijom istog u oku. Smatra se da lutein služi kao filter za visokoenergetsko zračenje pri čemu štiti tkivo žute pjege od oštećenja. Takva oštećenja dovode do bolesti staračke degenerativne promjene žute pjege (eng. *Age-Related Macular Degeneration, ARMD*). Žuta pjega predstavlja mali dio mrežnice u kojemu se nalazi najveća koncentracija fotoreceptora (Slika 3.). Unutar žute pjege (eng. *Macular*) se nalazi smjesa luteina i zeaksantina (eng. *Zeaxanthin*) kao i u krvnoj plazmi (eng. *Blood plasma*) oko nje. Osim žute pjege, glavni djelovi oka su mrežnica (eng. *Retina*) i leća (eng. *Lens*). Njeno oštećenje dovodi do ARMD što rezultira zamućenim vidom koji može otežavati svakodnevne aktivnosti poput vožnje i prepoznavanja predmeta i osoba, ali ne dovodi do potpunog gubitka vida. Bolest najčešće pogađa osobe starije od 60 godina. Osim dobi osobe, pušenja i genetske predispozicije, smatra se da je bijela rasa podložnija oboljenju od drugih rasa [12]. Bolest se tretira smjesom vitamina C, E, cinka, bakra, beta-karotena i luteina što smanjuje rizik daljnjeg napretka bolesti za 25% [12]. Prehrana bogatija luteinom smanjuje rizik od bolesti za 43 % [9]. Siva mrena, bolest vida koja također pogađa osobe starije dobi, nastaje oštećenjem stanica rožnice što uzrokuje zamućenje očne leće. Unos luteina može smanjiti rizik od bolesti ili spriječiti daljnje napredovanje bolesti ako je otkrivena u ranijoj fazi kako bi se izbjegla operacija [3].





Slika 3. Građa oka [15]

Pri brojnim istraživanjima povezanosti ovih bolesti i unosa luteina i zeaxantina pojavio se problem razdvajanja ovih izomera pa su se oni proučavali kao jedan spoj. Sam mehanizam prijenosa luteina od crijeva do tkiva u kojima je potreban nije razjašnjen. Iz krvi, lutein se prenosi do stanica oka pomoću HDL i LDL (eng. *Low Density Lipoprotein*) lipoproteina [9]. Smatra se da mrežnica koristi raspodjelu luteina između ovih lipoproteina kako bi zadržala lutein u plazmi stanice. .

Osim što smanjuje rizik od ARMD-a i sive mrežnice, lutein kao jak antioksidans uklanja peroksidne radikale čime smanjuje rizik od raka posebno kod žena koje nerijetko oboljevaju od raka jajnika, dojke ili sluznice maternice [13].

Koristan učinak luteina kod starije populacije je uočen i pri proučavanju kognitivnih funkcija. Lutein i dokozaheksaenska kiselina (DHA, eng. *Docosahexaenoic acid*) povećavaju sposobnosti govora, učenja i pamćenja što se smatra rezultatom njihovog sinergističkog djelovanja u mozgu gdje se nakupljaju [4].

## 2.2. Lutein u hrani

Lutein se prirodno nalazi u zelenom povrću poput brokule, kelja, špinata, graška te u voću kao što su papaja i mango. U izrazito visokim koncentracijama se nalazi u jednostaničnoj algi klorela koja osim luteina sadrži i druge bitne nutrijente. Klorela se lako kultivira u laboratorijskim uvjetima pa je korištena kao dodatak prehrani nesilica [3]. Povećan unos luteina u organizam može se postići konzumiranjem hrane koja obiluje njime ili hrane koja je ljudskim djelovanjem obogaćena istim. Kokošja jaja su odličan izvor luteina za ljudski organizam. Iako je u manjoj koncentraciji nego u nekom zelenom povrću, lutein se iz jaja lakše apsorbira u organizam jer se nalazi u matriksu različitih proteina i masti što olakšava probavu same tvari [2]. Na koncentraciju luteina u jajima može se utjecati kontrolom količine luteina u prehrani nesilica te odabirom sastava matriksa u kojemu se nalazi lutein. Nesilicama se prehrana može obogatiti luteinom u komercijalnom ili prirodnom obliku. Jang i suradnici istraživali su utjecaj dodataka komercijalnog luteina otopljenog u ulju šafranike i emulzije sirovog ekstrakta špinata u ulju šafranike na koncentraciju luteina u jajima. Podjeljene u tri skupine, nesilicama je davana hrana bez dodataka, komercijalni lutein otopljen u ulju šafranike i emulzija sirovog ekstrakta špinata u šafrankovom ulju. Lutein u jajima nesilica koje su unosile lutein iz špinata nalazio se u četiri puta većoj koncentraciji nego u jajima nesilica čija prehrana nije imala dodataka. No, koncentracija luteina u jajima nesilica koje su uzimale komercijalni lutein je bila još viša. Smatra se da fosfolipidi iz ulja poput ulja šafranike poboljšavaju apsorpciju luteina u crijevima [2]. Također su provedena istraživanja o prehrani nesilica koje su bile podjeljene u 3 kontrolne skupine s različitim koncentracijama luteina u hrani: kontrolna skupina bez dodatka luteina u prehrani te 2 eksperimentalne skupine s po 200 i 400 mg luteina po kilogramu [1]. Neznatno veći broj jaja je dobiven od eksperimentalnih skupina nesilica. Analizom krvi nesilica nije pronađen negativan utjecaj unosa luteina na biokemijske parametre krvi čime se zaključuje da se jaja mogu obogaćivati luteinom kontrolom prehrane nesilica bez negativnog utjecaja na njihovo zdravlje.

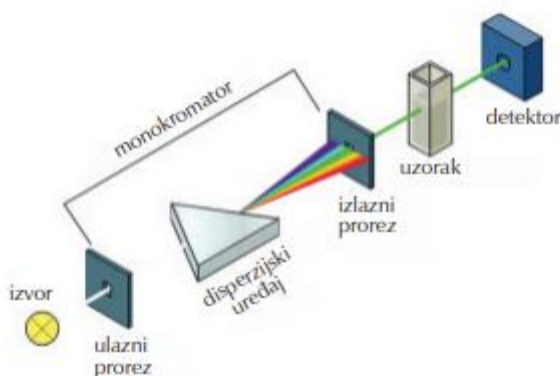
Druga istraživanja su pokazala da ako su nesilice konzumirale kukuruz i zrna soje koja su bogata luteinom, povećala se koncentracija luteina u jajima s 0.3mg na 15 mg/60 g jaja [6, 7]. Osim poboljšane nutritivne vrijednosti konzumnih jaja, zapaženo je intenzivnije žuto obojenje žumanjka uzrokovano većom koncentracijom luteina [7].

### 3.UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJA

UV-VIS spektrofotometrija je metoda koja se može koristiti za kvantitativnu i kvalitativnu analizu najčešće prijelaznih metala i organskih molekula. Metoda se zasniva na proučavanju interakcije elektromagnetskog zračenja i molekula pomoću karakterističnog apsorpcijskog spektra. Analiza se provodi pomoću spektrofotometra. Organske komponente mogu apsorbirati u vidljivom i ultraljubičastom području što omogućava njihovu kvantitativnu analizu pomoću ove metode.

#### 3.1. Spektrofotometar

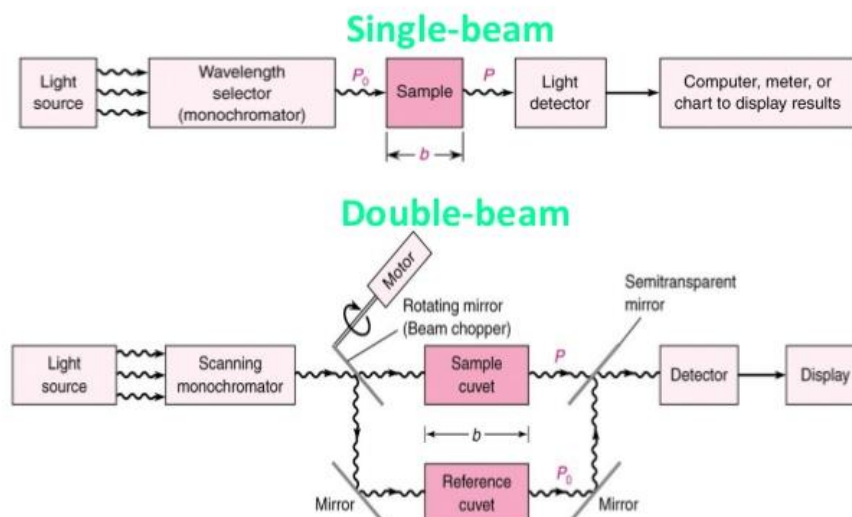
Svaki spektrofotometar ima nekoliko osnovnih dijelova. Prvi dio je izvor zračenja, što može biti ugrijana krutina ili žarulja, volframova za vidljivi i deuterijeva za ultraljubičasti dio spektra. Elektromagnetsko zračenje zatim prolazi kroz selektor valnih duljina što omogućava biranje točno određenog dijela spektra, odnosno raspona valnih duljina [8]. Svjetlost prolazi kroz kivetu u kojoj se nalazi uzorak pri čemu dolazi do interakcije zračenja i čestica uzorka. Zračenje dalje prolazi do detektora koji ga pretvara u signal što procesor signala (računalo) zapisuje kao spektar [5] (Slika 4.).



Slika 4. Shematski prikaz osnovnih dijelova spektrofotometra [8]

Osnovna podjela spektrofotometara je na jednosnopni i dvosnopni [8]. Kod jednosnopnog, zračenje prvo prolazi kroz referent nakon čega slijedi uzorak, dok se upadno zračenje kod dvosnopnog spektrofotometra dijeli na dva snopa pri čemu u isto vrijeme jedan prolazi kroz referent, a drugi kroz uzorak. Djelovi jednosnopnog spektrofotometra (eng.

*Single-beam*) su izvor zračenja (eng. *Lightsource*), selektor valnih duljina-monokromator (eng. *Wavelength selector-monochromator*), prostor za uzorak (eng. *Sample*), detektor zračenja (eng. *Light detector*) te računalo koje prikazuje rezultate (eng. *Computer, meter, or chart to display results*). Djelovi dvosnognog spektrofotometra (eng. *Double-beam*), su izvor zračenja (eng. *Light source*), skenirajući monokromator (eng. *Scanning monochromator*), motor koji okreće rotirajuće zrcalo (eng. *Rotating mirror*) koje lomi zraku na dvije (eng. *Beam chopper*). Jedna zraka prolazi kroz kivetu s uzorkom (eng. *Sample cuvet*), dok se druga odbija o zrcalo (eng. *Mirror*), prolazi kroz kivetu s referentom (eng. *Reference cuvet*) te ponovno odbija o drugo zrcalo. Obje zrake dolaze do polupropusnog zrcala (eng. *Semitransparent mirror*) što očitava detektor zračenja (eng. *Detector*) te se rezultati prikazuju na monitoru računalu (eng. *Display*) (Slika 5.) .



Slika 5. Shematski prikaz jednosnognog i dvosnognog spektrofotometra [14]

### 3.2. Kvantitativna analiza pomoću UV-VIS spektrofotometrije

Spektrofotometrijske metode su često primjenjivane zbog svoje točnosti, preciznosti, selektivnosti i jednostavnosti. Mnoge čestice poput prijelaznih metala i organskih komponenti apsorbiraju u vidljivom ili ultraljubičastom djelu zračenja što omogućava njihovu analizu ovom metodom [5]. Čestice koje ne apsorbiraju u ovom području se često mogu prevesti u derivate koji su pogodni za ovu metodu te se na taj način neposredno analiziraju. Selektivnost ove metode proizlazi iz odabira valnih duljina upadne svjetlosti koje

će apsorbirati samo željena komponenta iz uzorka što omogućava proučavanje u smjesi bez potrebe da se komponenta izolira iz nje [5, 8].

Spektrofotometar uspoređuje intenzitet propuštenog (P) s upadnim zračenjem ( $P_0$ ) čiji se omjer naziva transmittancija, jednažba (1) :

$$T = P / P_0 \quad (1)$$

Zakon apsorpcije elektromagnetskog zračenja koji definira odnos upadnog i izlaznog zračenja naziva se Lambert-Beerov zakon, jednažba (2) :

$$A = -\log(T) = \varepsilon \cdot c \cdot L \quad (2)$$

Apsorbancija ovisi o konstanti molarne apsorptivnosti  $\varepsilon$  ( $L \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ) koncentraciji otopine  $c$  ( $\text{mol L}^{-1}$ ) i duljini puta koju prelazi svjetlost tijekom prolaska kroz uzorak, što najčešće označava debljinu kivete  $L$  (cm). Lambert-Beerov zakon vrijedi samo za razrijeđene otopine, kod koncentriranijih otopina, posebice elektrolita, dolazi do interakcije s otapalom poput disocijacije i asocijacije. Ovaj zakon se može primjenjivati isključivo kod monokromatskog zračenja [8].

Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije podrazumijeva izradu baždarnog dijagrama. Priredi se niz otopina čije su koncentracije poznate, izmjere se njihove pripadajuće apsorbcije, nacrtava se dijagram ovisnosti apsorbcije o koncentraciji. Uzorku nepoznate koncentracije izmjeri se apsorbcija te pomoću baždarnog dijagrama odredi koncentracija.

Apsorbancija se najčešće mjeri na nekoj određenoj valnoj duljini koja odgovara apsorpcijskom maksimumu jer je pri toj valnoj duljini najveća promjena apsorbcije obzirom na koncentraciju. Jasan maksimum apsorpcijske krivulje omogućava lako očitavanje te umanjuje mogućnost pogreške ako se ne odabere potpuno točna valna duljina [5].

## 4. EKSPERIMENTALNI DIO

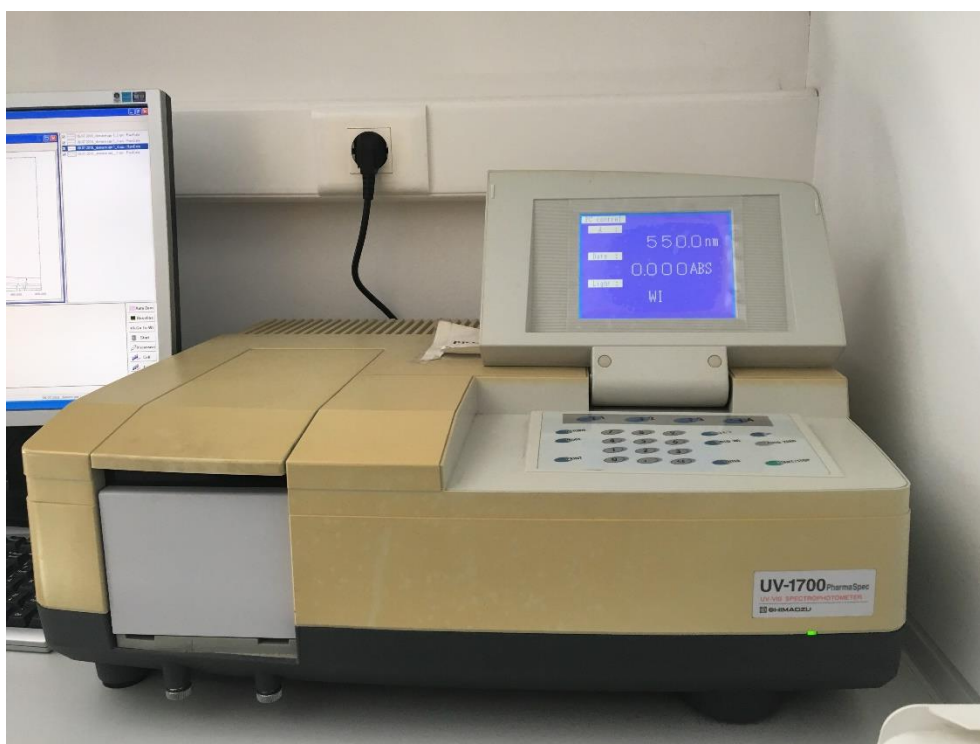
### 4.1.Reagensi

-Aceton, p.a. (GRAM MOL, Hrvatska)

-Etil acetat (Fisher Scientific, UK)

-n-Heksan (CARLO ERBA, Italija)

### 4.2. Instrumentacija



Slika 6. Spektrofotometar ( UV 1700 PharmaSpec, Shimadzu)



Slika7. Analitička vaga ( KERN, Njemačka )



Slika8. Magnetska miješalica s grijanjem ( IKA, Njemačka)



Slika9. Vortex (IKA, Njemačka)

### 4.3. Priprema otopina

#### 4.3.1. Priprema standardnih otopina luteina

Pripremljena je osnovna otopina luteina u heksan-etil acetatu (65:35) otapanjem 2,5 mg luteina u 50 mL otopine (Tablica 1.). Iz dobivene otopine pripremljen je niz standardnih otopina luteina različitih koncentracija u tikvicama od 10 mL. Korišteni volumeni osnovne otopine te koncentracije dobivenih otopina prikazane su u Tablici 2.

Tablica 1. Priprema standardne otopine luteina u heksan-etil acetatu (65:35)

<b>Lutein</b>	
<b>Formula</b>	<b>M</b>
C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub>	568,871
<b>osnovna otopina</b>	
m (mg)	<b>2,5</b>
V(mL)	<b>50</b>
m (g)	0,0025
V (L)	0,05
<b>c / mol/L</b>	<b>8,789 · 10<sup>-5</sup></b>
V tikvice (mL)	10



Tablica 2. Priprema standardnih otopina luteina iz osnovne otopine luteina te njihove pripadajuće koncentracije

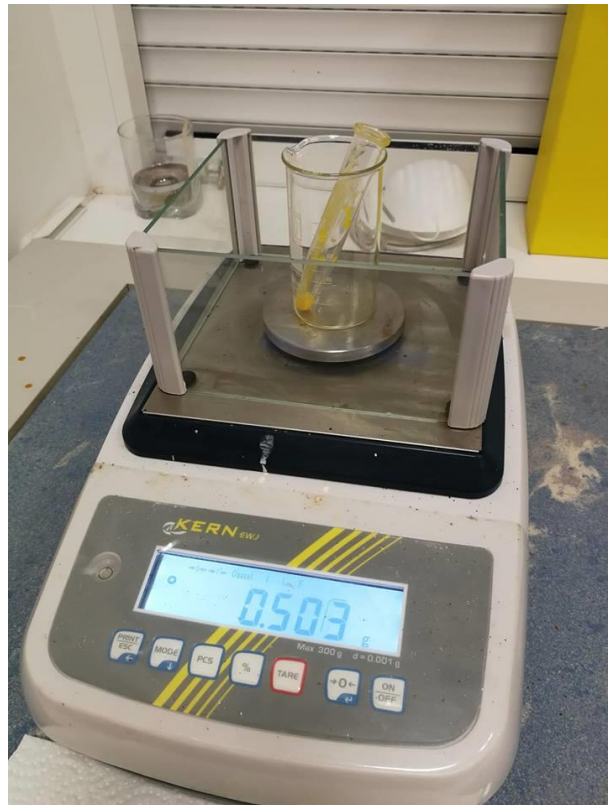
standardi	uL osn. otopine luteina	mL osn. otopine luteina	c / mol/L	$\gamma$ / g/L	$\gamma$ / mg/L
1	50	0,05	$4,39 \cdot 10^{-7}$	$2,50 \cdot 10^{-4}$	0,25
2	250	0,25	$2,20 \cdot 10^{-6}$	$1,25 \cdot 10^{-3}$	1,25
3	500	0,5	$4,39 \cdot 10^{-6}$	$2,50 \cdot 10^{-3}$	2,50
4	1000	1	$8,79 \cdot 10^{-6}$	$5,00 \cdot 10^{-3}$	5,00

#### 4.3.2. Priprema uzoraka jaja za analizu

Lutein iz domaćih i komercijalnih jaja je pripremljen na isti način. Žumanjci su odvojeni od bjelanjaka te posušeni na papirnatom ručniku i preneseni u staklenu čašu ( Slika 10.). Od svakog žumanjka je odvagano 0,5 g uzorka (Slika 11.). U epruvetu s uzorkom je dodano 5 mL acetona, svaka je epruveta bila dobro promiješana na vortexu 30 s te su ostavljene 1 sat u mraku [6].

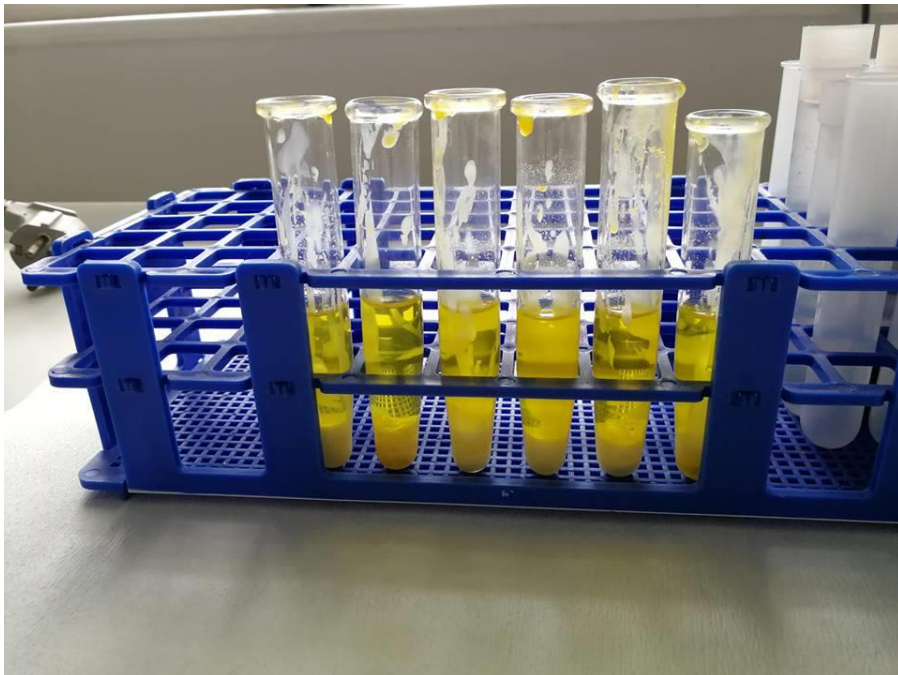


Slika 10. Posušeni žumanjci iz domaćih jaja



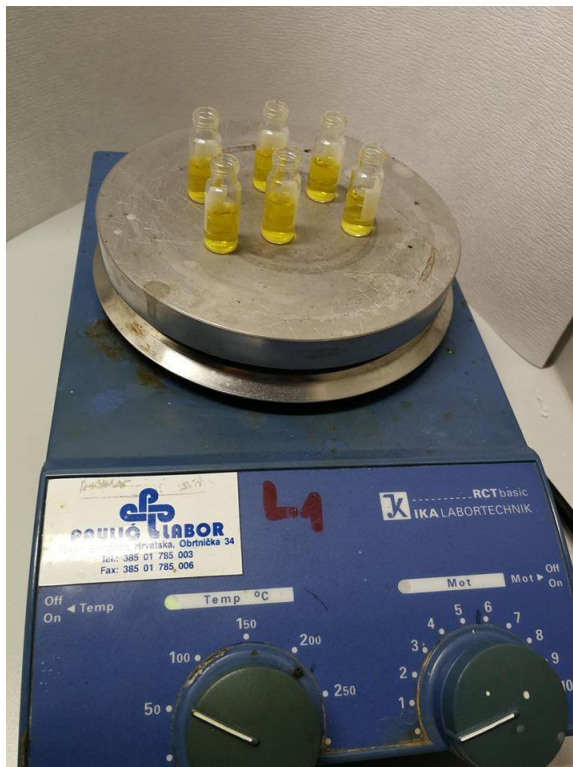
Slika 11. Vaganje uzorka žumanjka domaćih jaja

Nakon što je lutein iz žumanjka otopljen u acetonu otopina acetona se oboji žuto (Slika 12.).



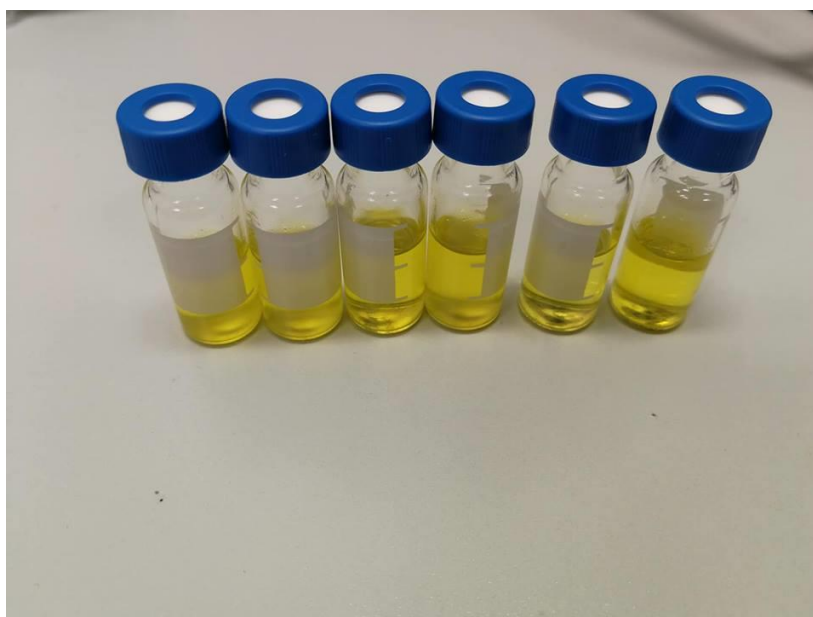
Slika 12. Uzorci luteina iz žumanjka domaćih jaja otopljenih u acetonu.

Iz svake epruvete je uzeto 1 mL otopine luteina u acetonu prenesen je u vialice. Uzorci su potom zagrijavani sve dok aceton nije otpario a lutein zaostao kao talog (Slika 13.).



Slika 13. Otparavanje acetona iz uzoraka luteina otopljenih u acetonu.

Kada je sav aceton otparen, dodano je 1 mL otopine heksan-etil acetata [6], vialice se začepe i sadržaj se dobro promiješa ( Slika 14.).

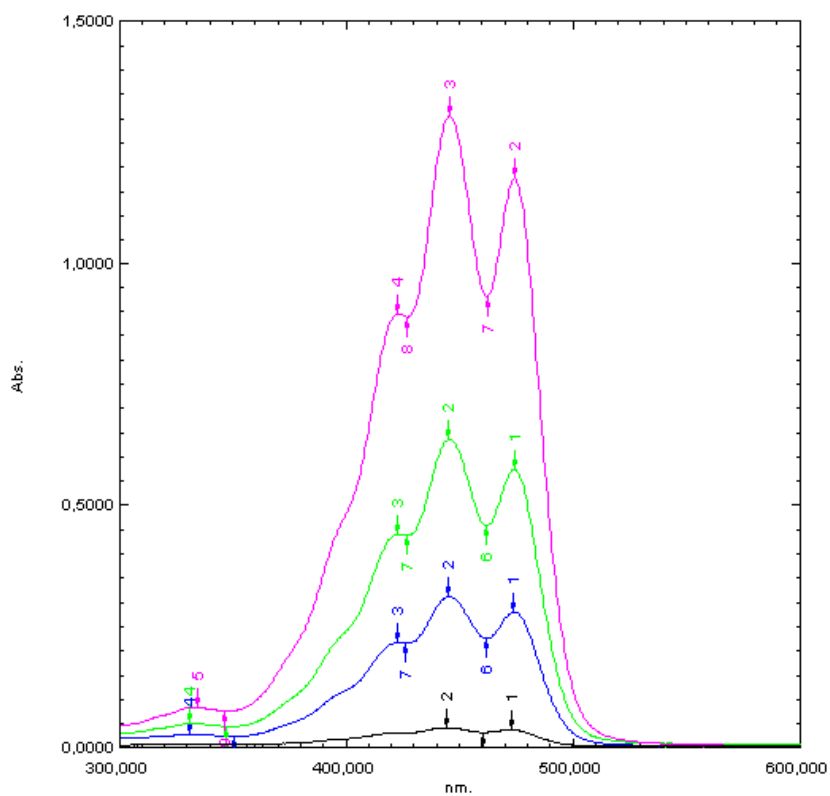


Slika 14. Uzorci luteina otopljeni u heksan-etil acetatu.

## 5. REZULTATI I RASPRAVA

### 5.1. Kalibracijski dijagram

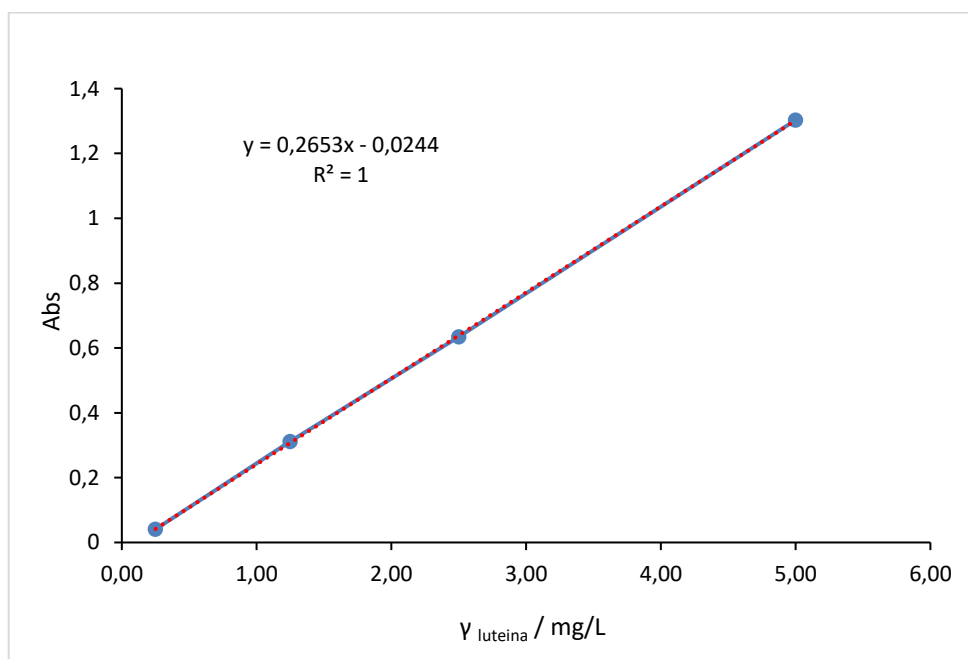
Standardnim otopinama luteina su snimljeni apsorpcijski spektri pomoću UV-VIS spektrofotometra. Apсорpcijski spektri standardnih otopina luteina prikazani su na Slici 15. a dobivene vrijednosti u Tablici 3. Pomoću dobivenih rezultata nacrtan je baždarni dijagram (Slika 16.) te je određena jednadžba dobivenog pravca pomoću kojeg su izračunate nepoznate koncentracije luteina u uzorcima.



Slika 15. Apсорpcijski spektar standardnih otopina luteina

Tablica 3. Standardne otopine luteina te njihove pripadajuće apsorbancije

standardi	uLosn. otopine luteina	mLosn. otopine luteina	c / mol/L	$\gamma$ / g/L	$\gamma$ / mg/L	Abs.
1	50	0,05	$4,39 \cdot 10^{-7}$	$2,50 \cdot 10^{-4}$	0,25	0,0408
2	250	0,25	$2,20 \cdot 10^{-6}$	$1,25 \cdot 10^{-3}$	1,25	0,3114
3	500	0,5	$4,39 \cdot 10^{-6}$	$2,50 \cdot 10^{-3}$	2,50	0,6345
4	1000	1	$8,79 \cdot 10^{-6}$	$5,00 \cdot 10^{-3}$	5,00	1,3030

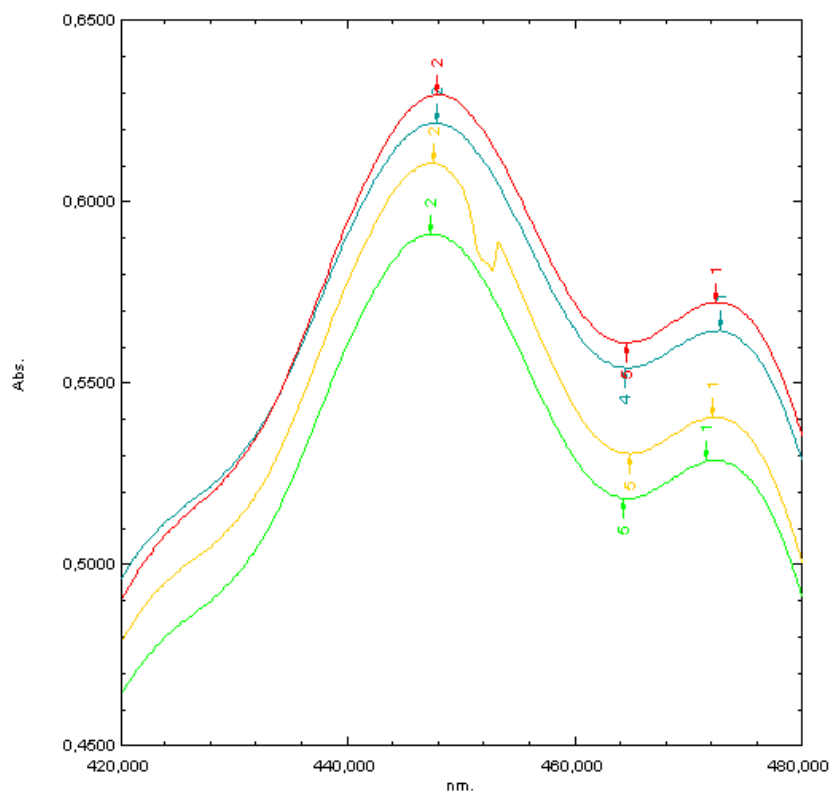


Slika 16. Grafički prikaz ovisnosti apsorbancije o koncentraciji luteina- baždarni dijagram

## 5.2. Određivanje koncentracije luteina u jajima

Uzorci luteina otopljeni u heksan-etil acetatu su prenešeni u kivete dok je čisti heksan-etil acetat korišten kao referent. Snimljeni su apsorpcijski spektri te su određene apsorbancije pri apsorpcijskom maksimum (valna duljina oko 445 nm). Slika 18. prikazuje apsorpcijske spektre domaćih jaja a Slika 17. komercijalnih jaja. U Tablici 4. su prikazani rezultati za komercijalna jaja, a Tablica 5. prikazuje rezultate dobivene za domaća jaja.

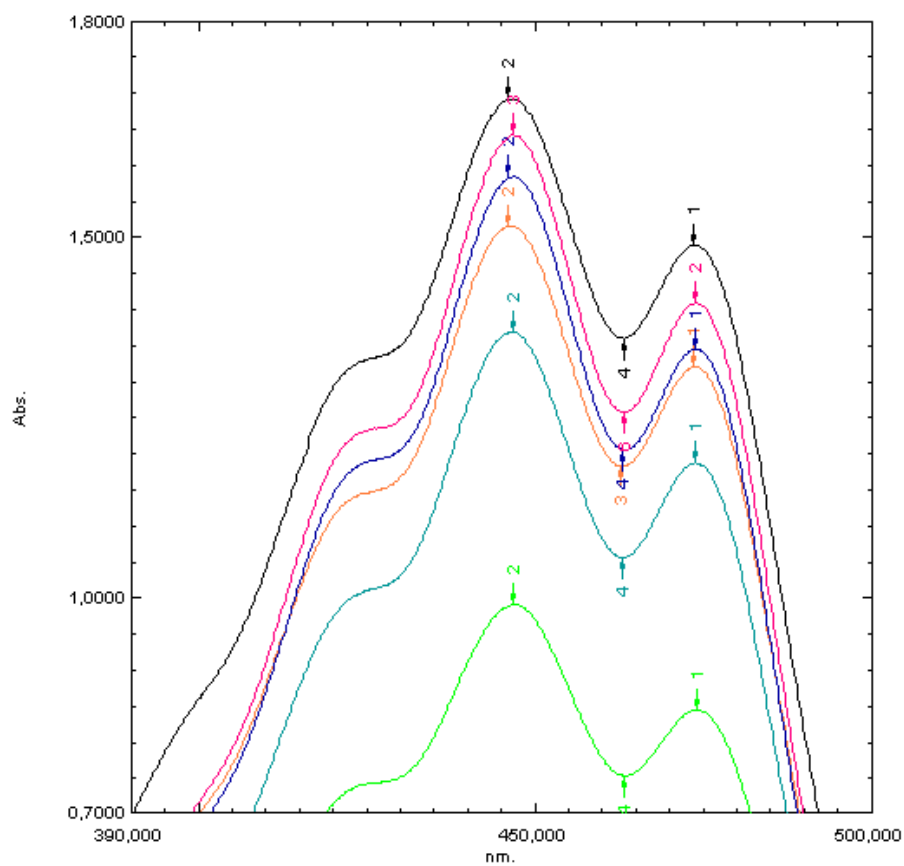
Koncentracija luteina u domaćim i komercijalnim jajima je izračunata pomoću baždarnog dijagrama.



Slika 17. Apsorpcijski spektriluteina u komercijalnim jajima

Tablica 4. Rezultati mjerenja apsorbancijeluteina iz komercijalnih jaja i pripadajuće koncentracije dobivene pomoću baždarnog dijagrama.

uzorci komercijalnih jaja		
Uzorci	Abs.	$\gamma$ / mg/L
1	0,6217	<b>2,44</b>
2	0,5909	<b>2,32</b>
3	0,6106	<b>2,39</b>
4	0,6295	<b>2,46</b>



Slika 18. Apsorpcijski spektri luteina u domaćim jajima

Tablica 5. Rezultati mjerenja apsorbancije luteina iz domaćih jaja i pripadajuće koncentracije dobivene pomoću baždarnog dijagrama.

uzorci domaćih jaja		
Uzorci	Abs.	$\gamma$ / mg/L
1	1,6440	<b>6,29</b>
2	0,9895	<b>3,82</b>
3	1,6937	<b>6,48</b>
4	1,5846	<b>6,06</b>
5	1,5162	<b>5,81</b>
6	1,3694	<b>5,25</b>

## 6. ZAKLJUČAK

Lutein je biljni pigment koji pripada skupini karotenoida kao i njegov izomer zeaksantin. Bitan je za zdravlje, no budući da ga ljudski organizam ne može sam sintetizirati, čovjek ga mora unositi hranom. Lutein se koncentrira u žutoj pjegi oka te služi kao filter za visokoenergetsko zračenje pri čemu štiti stanice žute pjege od oštećenja. Njegov nedostatak se povezuje s bolesti ARMD, a promjena prehrane obogaćena luteinom može smanjiti rizik od iste. Lutein je ne topiv u vodi, a topiv je u krvi i mastima.

Spektrofotometrijske metode omogućavaju laku kvantitativnu analizu organskih komponenti. Lutein je iz žumanjka izoliran pomoću acetona koji je kasnije otparen. Talog luteina je otopljen u heksan-etil acetatu koji je kasnije korišten i kao referent pri UV-VIS spektrofotometrijskom određivanju koncentracije luteina. Mjereći apsorbancije otopina luteina poznatih koncentracija dobiven je baždarni dijagram. Uzorcima luteina iz žumanjaka komercijalnih i domaćih jaja je izmjerena apsorbancija te je određena koncentracija pomoću baždarnog dijagrama. Snimljeni apsorpcijski spektri pokazuju apsorpcijski maksimum pri valnoj duljini oko 445 nm.

Dobivene masene koncentracije luteina u komercijalnim i domaćim jajima se znatno razlikuju. Odabrana domaća jaja imaju oko 2,5 puta više luteina od komercijalnih jaja koja su korištena u eksperimentu. Jaja su odličan izvor nutrijenata u ljudskoj prehrani, ali su te nutritivne vrijednosti u masovnoj proizvodnji znatno manje od onih u domaćoj proizvodnji. Zbog toga se provode razna istraživanja u kojima se prilagodbom sastava hrane za nesilice pokušavaju dobiti jaja bogata različitim nutrijentima, među kojima je i lutein.



## 7. LITERATURA

1. Grčević, M., Kralik, Z., Kralik, G., Galović, D., & Pavić, M. (2016). The effect of lutein additives on biochemical parameters in blood of laying hens. *Poljoprivreda*, 22(1), 34-38.
2. Jang, I., Ko, Y., Kang, S., Kim, S., Song, M., Cho, K., & Sohn, S. (2014). Effects of dietary lutein sources on lutein-enriched egg production and hepatic antioxidant system in laying hens. *The Journal of Poultry Science*, 51(1), 58-65.
3. Jeon, J. Y., Kim, K. E., Im, H. J., Oh, S. T., Lim, S. U., Kwon, H. S., & Kang, C. W. (2012). The production of lutein-enriched eggs with dietary *Chlorella*. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 32(1), 13-17.
4. Johnson, E. J., McDonald, K., Caldarella, S. M., Chung, H. Y., Troen, A. M., & Snodderly, D. M. (2008). Cognitive findings of an exploratory trial of docosahexaenoic acid and lutein supplementation in older women. *Nutritional neuroscience*, 11(2), 75-83.
5. Karnaš, M. (2012). *Spektrofotometrijska studija sustava škrob-trijodid*. Završni rad
6. Kralik, Z., Kralik, G., Grčević, M., Kralik, I., & Gantner, V. (2018). Physical-Chemical Characteristics of Designer and Conventional Eggs. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 20(1), 119-126.
7. Leeson, S., & Caston, L. (2004). Enrichment of eggs with lutein. *Poultry Science*, 83(10), 1709-1712.
8. Mihoci, M. (2015). Osvrti: Spektrofotometrijsko određivanje boje. *Kemija u industriji: Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske*, 64(11-12), 683-685.
9. Sommerburg, O., Keunen, J. E., Bird, A. C., & van Kuijk, F. J. (1998). Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. *British Journal of Ophthalmology*, 82(8), 907-910.
10. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281243#section=Top> (datum pristupa: 15.7.2018.)
11. <http://www.inpharma.hr/index.php/news/131/19/Uloga-luteina-i-zeaksantina-u-zdravlju-ociju> (datum pristupa: 15.7.2018.)
12. [https://nei.nih.gov/health/maculardegen/armd\\_facts](https://nei.nih.gov/health/maculardegen/armd_facts) (datum pristupa: 30.7.2018.)
13. <https://www.zdravstveni.com/ostalo/biljni-pripravci/lutein/> (datum pristupa: 30.7.2018.)
14. <http://aasnig.com/uv-visible-spectrophotometer/> (datum pristupa: 30.7.2018.)

15. <https://lifestreamgroup.com/ultimate-vision-p-148.html> (datum pristupa 12.9,2018.)