TEMAT ĆWICZENIA:

OZNACZANIE KWASU ASKORBINOWEGO METODĄ WOLTAMPEROMETRII CYKLICZNEJ

METODA

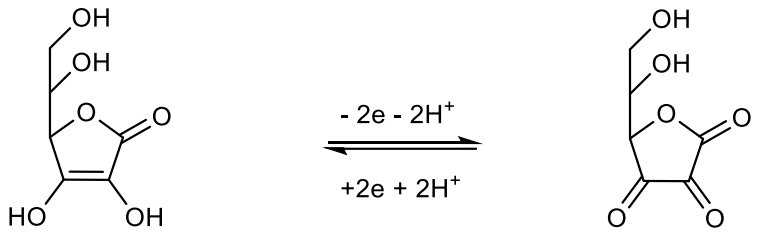
Woltamperometria Cykliczna

WPROWADZENIE

Kwas askorbinowy zwany potocznie witaminą C jest związkiem chemicznym bardzo często występujący w roślinach. Warto wspomnieć, że kwas askorbinowy może być wytwarzany przez niektóre zwierzęta (np. szczury). Nazwa kwas askorbinowy pochodzi od słowa szkorbut, nazwa ta tłumaczona z języka łacińskiego dosłownie oznacza „bez szkorbutu" - choroby od dawna znanej i występującej niegdyś u marynarzy. Objawami szkorbutu są: samoistne krwawienia, uszkodzenia naczyń krwionośnych, złe gojenie się ran, a także rozpulchnienie dziąseł i zmiany w zębach. Leczenie szkorbutu polega na podawaniu witaminy C.

Pierwsze próby izolacji kwasu askorbinowego przeprowadził w 1923 roku N. Bessinow otrzymując z soku kapusty pierwszy preparat witaminy C, którą następnie przeprowadził w postać krystaliczną. Jednakże najlepsze wyniki nad opracowaniem struktury kwasu askorbinowego otrzymał Węgier Albert Szent-Györgyi w 1932 roku [1], który w 1937 roku za swoje badania otrzymał nagrodę Nobla.

W 1933 roku natomiast ustalono, że biologiczną aktywność witaminy C wykazuje nie tylko kwas askorbinowy (jego odmiana L), ale również jego produkt utleniania – kwas dehydroaskorbinowy (Rysunek 1).



Rysunek 1. Struktura chemiczna oraz reakcja redukcji i utlenienia: kwasu askorbinowego i kwasu dehydroaskorbinowego.

Zapotrzebowanie człowieka na tę witaminę jest o jeden, a nawet dwa rzędy wielkości większe niż zapotrzebowanie na inne witaminy. Przyczyna tego nie jest znana [2]. Najobficiej w witaminę C zaopatrzone są owoce dzikiej róży (0,5 – 5 %) i niedojrzałe owoce orzechów włoskich (0,4 – 3 %).

[1] B. Filipowicz, Chemia i życie, Warszawa, Wiedza Powszechna 1981.
[2] P. Karlson, Zarys biochemii, Warszawa, PWN 1987.

CEL ĆWICZENIA

Ilościowe oznaczanie kwasu askorbinowego w roztworach wodnych pochodzenia naturalnego i sztucznego z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej

ODDCZYNNIKI, NACZYNIA I PRZYRZĄDY

Przyrządy:

Potentiostat/galwanostat Autolab PGSTAT204 wraz z oprogramowaniem.

Szkło laboratoryjne i stosowane odczynniki:

- chlorek potasu (KCl),
- kwas cytrynowy ($C_6H_8O_7$)
- kwas askorbinowy
- 8 sztuk kolbek miarowych o poj. 50 ml
- 3 zlewki
- naczynko woltamperometryczne
- kolba miarowa o pojemności 1000 ml
- 2 pipety wielomiarowe pojemności 10 ml

Elektrody

- Elektroda pracująca: glassy carbon lub elektroda platynowa o średnicy 3 mm
- Elektroda odniesienia (elektroda referencyjna) - elektroda kalomelowa lub chlorosrebrowa
- Elektroda pomocnicza - (platynowa)

SPOSÓB WYKONANIA ĆWICZENIA.

Przed przystąpieniem do ćwiczenia należy sporządzić roztwór elektrolitu podstawowego. KCl o stężeniu 0.34 M z dodatkiem kwasu cytrynowego. W tym celu należy zważyć 25 g KCl i 5 g kwasu cytrynowego. Otrzymane naważki, używając lejka analitycznego należy ilościowo przenieść do kolby litrowej, rozpuścić i dopełnić wodą destylowaną do kreski [3].

Przygotowanie krzywej wzorcowej.

1,7613 g kwasu askorbinowego dokładnie należy odważyć na wadze analitycznej. Naważoną ilość powinno się ilościowo przenieść do kolby o pojemności 100 ml oznaczonej numerem **1**. Naważony związek należy rozpuścić używając wcześniej otrzymany elektrolit podstawowy, po czym kolbę dopełnić do kreski. Otrzymany w ten sposób roztwór ma stężenie 0.1 M.

[3] J. Wawrzyniak, A. Ryniecki, W. Zembrzuski, Application voltammetry to determine vitamin C in apple juices, Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 4(2) 2005, 5-16

W kolbkach o pojemności 100 ml poprzez odpipetowanie odpowiednich ilości wzorca z kolby o numerze **1**, o stężeniu 0.1 M, stosując elektrolit podstawowy należy wykonać serię roztworów wzorcowych o znanym stężeniu. Otrzymane roztwory za każdym razem należy dopełnić do kreski (elektrolitem podstawowym).

Zasada otrzymywania wzorców:

Procedura:	Nazwa	Stężenie [mol/dm^3]	
-	Kolbka nr **1**	0.1	$1 \cdot 10^{-1}$
50 ml z kolbki nr **1** dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	Kolbka nr **2**	0.05	$5 \cdot 10^{-2}$
20 ml z kolbki nr **1** dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	Kolbka nr **3**	0.02	$2 \cdot 10^{-2}$
10 ml z kolbki nr 1 dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	**Kolbka nr 4**	**0.01**	$\mathbf{1 \cdot 10^{-2}}$
50 ml z kolbki nr **4** dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	Kolbka nr **5**	0.005	$5 \cdot 10^{-3}$
20 ml z kolbki nr **4** dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	Kolbka nr **6**	0.002	$2 \cdot 10^{-3}$
10 ml z kolbki nr 4 dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	**Kolbka nr 7**	**0.001**	$\mathbf{1 \cdot 10^{-3}}$
50 ml z kolbki nr **7** dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	Kolbka nr **8**	0.0005	$5 \cdot 10^{-4}$
20 ml z kolbki nr **7** dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	Kolbka nr **9**	0.0002	$2 \cdot 10^{-4}$
10 ml z kolbki nr **7** dopełnić elektrolitem podstawowym do kreski	Kolbka nr **10**	0.0001	$1 \cdot 10^{-4}$

Do naczynka pomiarowego należy pobrać 10 ml oznaczanego roztworu kwasu askorbinowego oraz umieścić w nim elektrody:

Numer elektrody	**Elektroda**	**Nazwa**	**Podłączenie kabla**	**Rysunek**
1	pracująca (WE)	elektroda glassy carbon lub platynowa	kolor czerwony	
2	odniesienia (elektroda referencyjna) (RE)	elektroda kalomelowa lub chlorosrebrowa	kolor niebieski	
3	elektroda pomocnicza (CE)	platynowa	kolor czarny	
należy pamiętać o podłączeniu uziemienia			kolor zielony	

Uruchamiając potencjostat zgodnie z instrukcjami prowadzącego należy wykonać serię pomiarów przy prędkości skanowania wynoszącej odpowiednio ν = 100 mV/s, w zakresie od 0 V do 1.2 V.

UWAGA:

- W programie NOVA 1.1 należy zapisać ścieżkę zapisu w **dwóch** miejscach w katalogu z datą wykonywania pomiarów.
- Każdy pomiar należy wykonać dwukrotnie, zgodnie z instrukcjami prowadzącego.
- Przed każdym pomiarem należy wyczyścić dokładnie elektrody następnie je opłukać wodą i metanolem. Tak wymyte elektrody po wysuszeniu pod strumieniem powietrza nadają się do dalszej pracy.

Wykonanie oznaczenia:

Po uzyskaniu soku z owoców (np.: cytryna) do analizy należy pobrać 5 ml soku, po czym do naczynka należy dodać 5 ml elektrolitu podstawowego.

W przypadku badania tabletek zawierających kwas askorbinowy. Rozdrobnioną uprzednio tabletkę (używając moździerza) należy rozpuścić w 100 ml elektrolitu podstawowego. Uzyskany roztwór należy przesączyć do uzyskania klarownego roztworu.
Otrzymane roztwory należy zmierzyć w tych samych warunkach jak w przypadku rejestrowania krzywej wzorcowej.

OPRACOWANIE WYNIKÓW

Stosując programy obróbki danych z zarejestrowanych krzywych woltamperometrycznych należy odczytać wysokość natężenia prądu pików anodowych I_{pa} dla każdego z analizowanych stężeń wzorców i badanych próbek.

Z otrzymanych wartości należy sporządzić wykres krzywej kalibracyjnej zależności odczytanego natężenia prądu piku anodowego [A] od stężeniu substancji wzorcowej [mol/dm^3].

Z otrzymanej krzywej kalibracyjnej należy wyznaczyć nachylenie prostej i jej parametry. Dokonując właściwe obliczenia stężenia kwasu askorbinowego w analizowanych próbkach należy przeprowadzić właściwą dyskusję otrzymanych wyników.