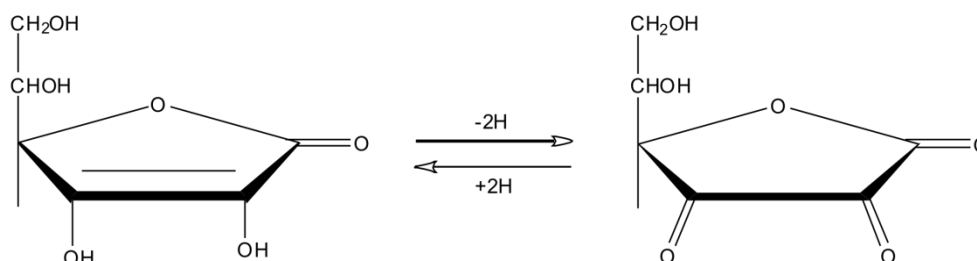


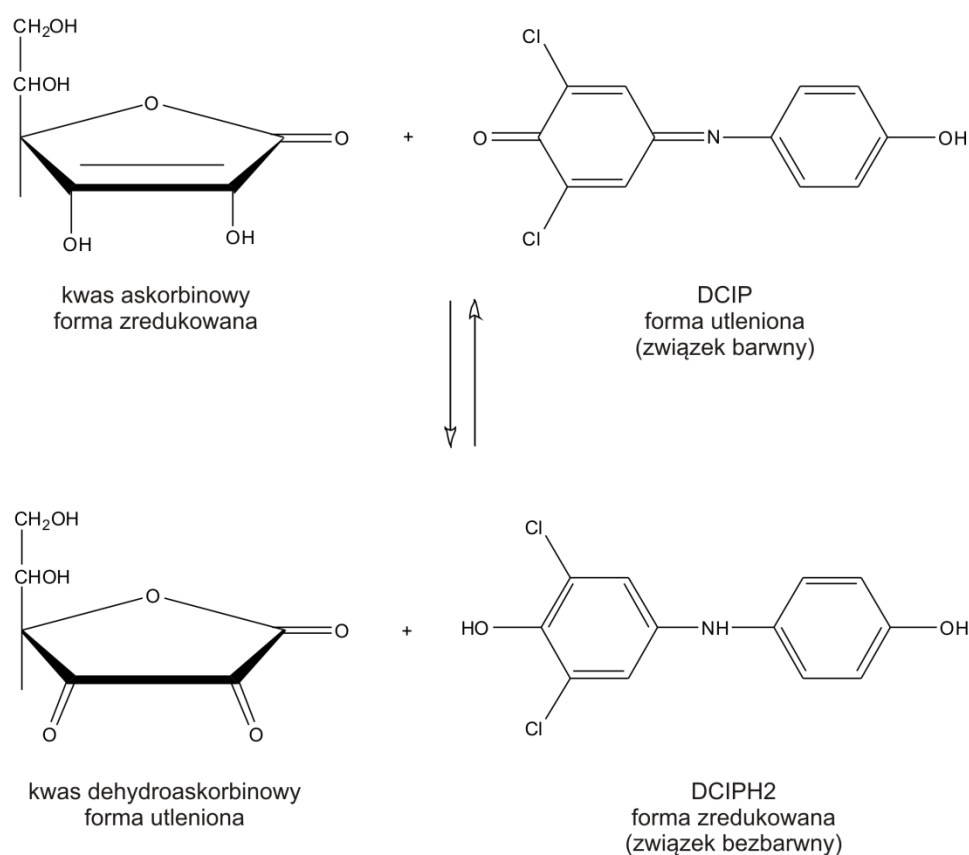
6. Oznaczanie witaminy C w żywności przez miareczkowanie wskaźnikiem redokсовym – 2,6-dichlorofenolindofenolem (DCIP)

Witamina C, inaczej kwas askorbinowy, występuje powszechnie w przyrodzie w formie utlenionej lub zredukowanej (rys.1). Obie formy są biologicznie aktywne.



Rys. 1. Kwas askorbinowy – forma zredukowana i utleniona.

Znanych jest kilka metod oznaczania witaminy C w żywności i materiale biologicznym (krew, mocz), jedną z nich jest miareczkowanie wskaźnikiem redokсовym – 2,6-dichlorofenolindofenolem (DCIP). Metoda ta polega na redukcji barwnika przez kwas askorbinowy. W wyniku tej reakcji następuje przejście barwnika z formy utlenionej (czerwona w kwasie) do formy zredukowanej (bezbarna w kwasie). Wzory strukturalne obu postaci barwnika przedstawia rysunek 2.



Rys. 2. Zmiana w strukturze DCIP w wyniku reakcji z kwasem askorbinowym.

Odczynniki i sprzęt:

1. soki owocowe, owoce i warzywa (owoce cytrusowe, papryka pomidory, pietruszka)
2. roztwór kwasu askorbinowego w wodzie (1 mg/cm^3)
3. 0,4% roztwór kwasu fosforowego (IV) w kwasie octowym (roztwór A)
4. wodny roztwór DCIP (25 mg/100cm^3)
5. biureta
6. kolby miarowe na 100 cm^3
7. kolby stożkowe na 50 cm^3
8. pipety
9. lejek szklany
10. moździerz

Wykonanie doświadczenia:

1. Wypełnić biuretę wodnym roztworem DCIP. Umieścić 1 cm^3 wzorcowego roztworu kwasu askorbinowego w kolbie stożkowej (50 cm^3) zawierającej 4 cm^3 roztworu A. Tak otrzymaną próbkę ostrożnie miareczkować ciągle mieszając, do uzyskania blado różowego zabarwienia, utrzymującego się przez 15 – 20 sekund. Powtórzyć miareczkowanie dwukrotnie z takimi samymi próbkami. Jako odnośnik zmiareczkować 4 cm^3 roztworu A (również 3 razy).

2. Sok owocowy: 10 cm^3 soku rozcieńczyć w zlewce do objętości 50 cm^3 roztworem A, a następnie przesączyć powstały roztwór przez bibułę. Pobrać 10 cm^3 przesączu do kolby stożkowej (50 cm^3) i zmiareczkować. Powtórzyć miareczkowanie dwukrotnie. Jako odnośnik zmiareczkować 10 cm^3 roztworu uzyskanego przez zmieszanie 2 cm^3 wody z 8 cm^3 roztworu A.

3. Owoce i warzywa: obrać owoc lub warzywo, zważyć z dokładnością do 0,1 g. Oddzielić kawałek o masie od 25-30 g i pokroić go na kawałki. Następnie przenieść go do moździerza i utrzeć z 25 cm^3 roztworu A, zlać ciecz do kolby miarowej na 100 cm^3 . Powtórzyć ucieranie jeszcze dwukrotnie, dolewając otrzymane zawiesiny do kolby miarowej. Uzupełnić ciecz w kolbie do 100 cm^3 roztworem A (zapisać objętość). Całość przesączyć przez bibułę, pobrać trzy porcje po 10 cm^3 i umieścić w kolbach stożkowych na 50 cm^3 i zmiareczkować. Jako odnośnik zmiareczkować próbkę 10 cm^3 roztworu A.

Obliczyć zawartość witaminy C w soku i owocach w następujący sposób:

Odjąć objętość użytego do miareczkowania próbki odnośnika wodnego roztworu DCIP od objętości użytej do miareczkowania roztworu standardowego kwasu askorbinowego. Otrzymana wartość odpowiada objętości potrzebnej do zmiareczkowania 1 mg witaminy C. Znajac tę wartość obliczyć zawartość witaminy C w soku, owocach i warzywach, wyrażając je odpowiednio w mg/100 cm^3 .

Typowe zawartości witaminy C w sokach: pomarańczowy – $20\text{-}80 \text{ mg/100 cm}^3$, grejpfrutowy $35\text{-}65 \text{ mg/100 cm}^3$, w plazmie krwi $0,2\text{-}2 \text{ mg/100 cm}^3$.