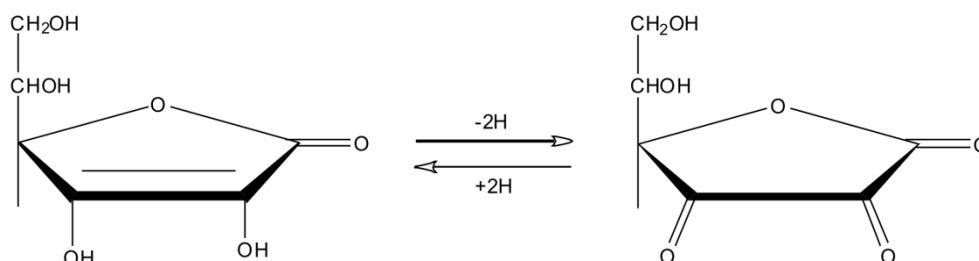


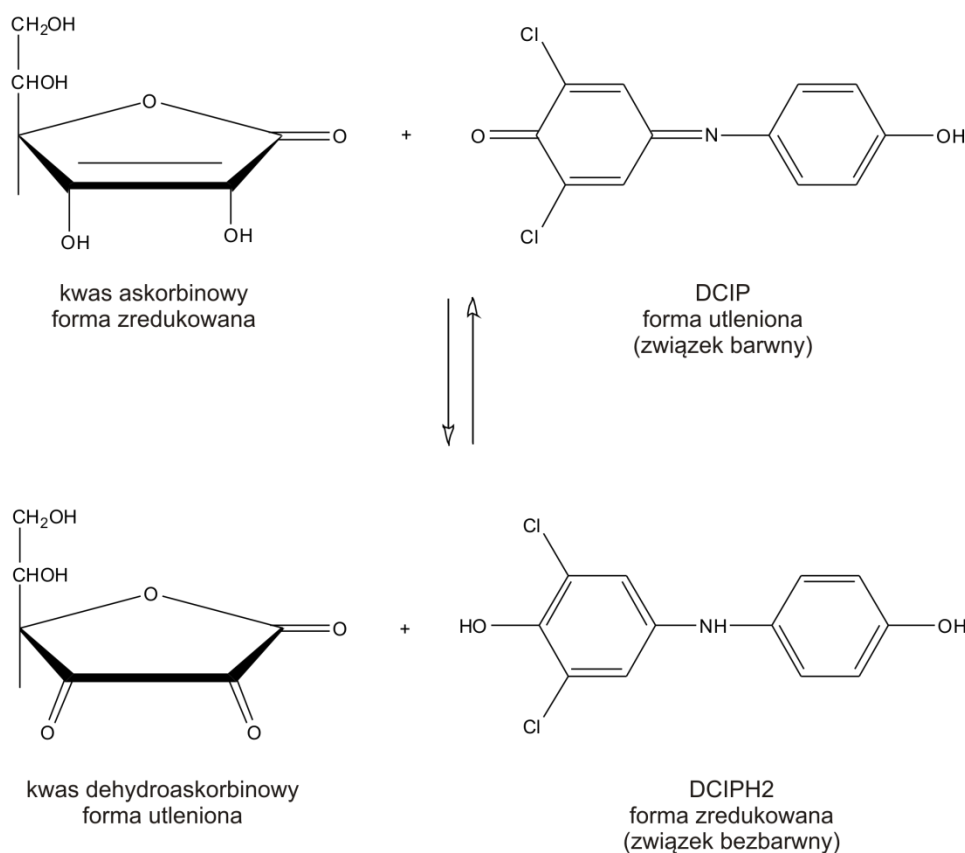
## 6. Oznaczanie witaminy C w żywności przez miareczkowanie wskaźnikiem redokсовym – 2,6-dichlorofenoloindofenolem (DCIP)

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-dichlorofenoloindofenolem (DCIP) o granatowej barwie (w środowisku obojętnym). 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 (bezbarwna 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 ( $1 \text{ mg/cm}^3$ )
3. 2% roztwór kwasu szczawiowego (roztwór A)
4. wodny roztwór DCIP ( $25 \text{ mg}/100\text{cm}^3$ )
5. biureta
6. kolby miarowe na  $100 \text{ cm}^3$
7. kolby stożkowe na  $50 \text{ cm}^3$
8. pipety
9. lejek szklany
10. moździerz

#### Wykonanie doświadczenia:

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

**2.** Sok owocowy:  $10 \text{ cm}^3$  soku rozcieńczyć w zlewce do objętości  $50 \text{ cm}^3$  roztworem A, a następnie przesączyć powstały roztwór przez bibułę. Pobrać  $10 \text{ cm}^3$  przesączu do kolby stożkowej ( $50 \text{ cm}^3$ ) i zmiareczkować. Powtórzyć miareczkowanie dwukrotnie. Jako odnośnik zmiareczkować  $10 \text{ cm}^3$  roztworu uzyskanego przez zmieszanie  $2 \text{ cm}^3$  wody z  $8 \text{ cm}^3$  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  $25 \text{ cm}^3$  roztworu A, zlać ciecz do kolby miarowej na  $100 \text{ cm}^3$ . Powtórzyć ucieranie jeszcze dwukrotnie, dolewając otrzymane zawiesiny do kolby miarowej. Uzupełnić ciecz w kolbie do  $100 \text{ cm}^3$  roztworem A (zapisać objętość). Całość przesączyć przez bibułę, pobrać trzy porcje po  $10 \text{ cm}^3$  i umieścić w kolbach stożkowych na  $50 \text{ cm}^3$  i zmiareczkować. Jako odnośnik zmiareczkować próbkę  $10 \text{ cm}^3$  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. Znając tę wartość obliczyć zawartość witaminy C w soku, owocach i warzywach, wyrażając je odpowiednio w  $\text{mg}/100 \text{ cm}^3$ .

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

#### Zagadnienia:

witaminy, hiperwitaminoza, awitaminoza; prowitamina; podział witamin; witaminy rozpuszczalne w tłuszczach i w wodzie; metody oznaczanie witamin w produktach spożywczych; najważniejsze funkcje poszczególnych witamin;