

## PRZEGLĄD METOD OZNACZANIA ZAWARTOŚCI WITAMINY C

*Autorzy: Monika Horbacz, Katarzyna Gawron, Justyna Kalisz, Joanna Kisala  
Opiekun: dr inż. Joanna Kisala  
SKN Technologów Żywności „Ferment” Sekcja Chemii Produktów Spożywczych  
Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biologiczno-Rolniczy  
Ul. Ćwiklińskiej 2, 35-601 Rzeszów  
e-mail: foksa89@wp.pl, jkisala@univ.rzeszow.pl*

**Słowa kluczowe:** witamina C, metody oznaczania, kwas askorbinowy

### Wstęp

Witamina C (kwas askorbinowy, AA) jest niezbędna w diecie człowieka, ponieważ pełni w organizmie wiele ważnych funkcji (bierze udział w procesie tworzenia kolagenu, pomaga w przyswajaniu żelaza). Niedobór tej witaminy powoduje podatność na różnego rodzaju infekcje [5].

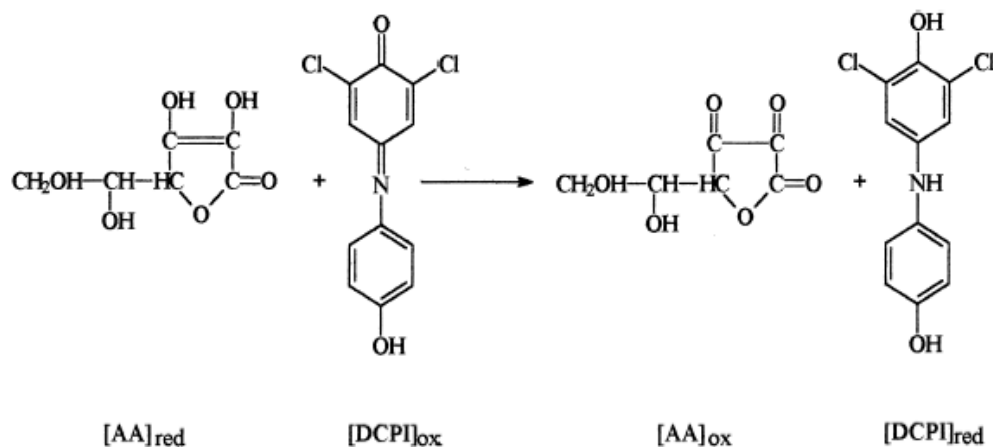
Witamina C - jedna z witamin antyoksydacyjnych, jest uważana za najistotniejszy przeciwutleniacz płynów pozakomórkowych oraz ważny antyoksydant wewnątrz komórek [7]. Większość metod oznaczania witaminy C bazuje na jej właściwościach redox (może być łatwo utleniana do kwasu dehydroaskorbinowego).

### 1. Metody miareczkowe

Szeroko rozpowszechnioną i zalecaną przez Międzynarodową Organizację Standaryzacyjną (International Standardization Organization ISO) do oznaczania zawartości witaminy C w produktach przezroczystych lub w produktach o niewielkim zasyceniu barwy jest metoda miareczkowa wykorzystująca 2,6-dichlorofenoloindofenol (DCIP) jako titrant [8]. Metoda ta oparta jest na reakcji redukcji DCIP przez kwas askorbinowy w środowisku kwaśnym (Rys.1). Titrant jest równocześnie wskaźnikiem punktu końcowego miareczkowania. Metoda ta nie jest odpowiednia do oznaczania próbek zawierających jony żelaza (II), cyny (II), miedzi (I),  $\text{SO}_2$ , siarczany (VI), tiosiarczany i betaminy, ponieważ są one również utleniane przez DCIP.

Alternatywną metodą miareczkową jest miareczkowanie roztworem EDTA, który działa zarówno jako wskaźnik końca miareczkowania jak i jako czynnik maskujący zanieczyszczenia jonami metali [13]. Pojawienie się żółtożółtego koloru wskazuje na punkt końcowy miareczkowania.

Do oznaczania kwasu askorbinowego można stosować szereg metod redoksymetrycznych takich jak jodometria, bromianometria [17]



**Rys. 1 Redukcja 2,6-dichlorofenoloindofenolu przez kwas askorbinowy**

## 2. Metody spektrofotometryczne

Bardzo dogodne do szybkiego oznaczania zawartości witaminy C są metody spektrofotometryczne. Wiele metod spektrofotometrycznych stosowanych do oznaczania zawartości AA opartych jest na redukcji jonów żelaza(III) do jonów żelaza(II) przez kwas askorbinowy i następującej po niej reakcji kompleksowania żelaza(II) przez takie czynniki chelatujące jak: 1,10-fenantrolina [1], bipyrydyna [4]. Redukcja jonów miedzi(II) do miedzi(I) przez AA jest podstawą metody opracowanej przez Kubilay i współ. [9]. Istnieje kilka pośrednich metod spektrofotometrycznych wykorzystujących tworzenie się kompleksu jonu żelaza(III) z tiocyjanianem [12] lub kompleksu ferrozynowego [11]. Najszerzej stosowaną metodą spektrofotometryczną oznaczania zawartości witaminy C jest metoda opracowana przez Kyaw'a wykorzystująca kwas wolframowy jako odczynnik wybarwiający [10]. Modyfikację tej metody opracował Rutkowski i współ. [15].

## 3. Metody elektrochemiczne

Do oznaczania zawartości witaminy C z powodzeniem stosuje się metody polarograficzne oparte na redukcji kwasu dehydroaskorbinowego o-fenyldiaminą. Innym sposobem jest utlenienie kwasu L-askorbinowego na kroplowej elektrodzie rtęciowej. Stosuje się tę metodę do oznaczania zawartości witaminy C w przyprawach [6], żywności [3], owocach i warzywach [16], odżywkach dla niemowląt [2].

Jedną z metod służących do określenia zawartości witaminy C jest analiza woltametryczna z użyciem różnych elektrod, ale niezawodność i stosowalność większości elektrod spada z powodu pokrywania elektrod przez produkty utleniania [14]. Stosując tą metodę można oznaczać kwas askorbinowy znajdujący się w mętnych sokach owocowych, co jest jej przewagą nad wyżej wymienionymi metodami.

### Podsumowanie

Do oznaczania kwasu askorbinowego w produktach spożywczych można stosować różnego rodzaju metody, które różnią się między sobą trudnością wykonania, szybkością, kosztami, dostępnością reagentów itp. Najpopularniejszymi metodami są: miareczkowanie, spektrofotometria i metody elektrochemiczne.

Miareczkowanie jest metodą dość powszechnie stosowaną, ale jego wadą jest fakt iż nie może być stosowane jeśli w próbkach są jony, które są utleniane przez DCIP. Takie problemy nie występują w metodzie spektrofotometrycznej. Metoda ta jest dość szybka, ale z różnych względów nie nadaje się w postaci oryginalnej do powszechnego laboratoryjnego stosowania. Natomiast metoda elektrochemiczna jest najrzadziej stosowaną metodą.

### Literatura

1. **Anwar J, Farooqi M I, Nagra S A and Khan A M**, J.Chem. Soc. Pak. 1990. 12. 75
2. **Barbera R., Farre R., Legarda M.J., Pintor R.** Alimentaria. 1993. 247. 89
3. **Branca P.**, Boll. Chim. Unione Ital. Lub. Prov. Parte Sci. 1980. 6. 143
4. **Fathi M R, Elahi R and Hashemi.** Chemia Analityczna. 2005. 50. 1069
5. **Fox B.A., Cameron A.G.** Food Science. Nutrition and Health. 1989. 5th Edition. Edward Arnold, London. 261
6. **Gehart U., Windmuller R.** Fleisch Wirtschaft. 1981. 63. 1389.
7. **Grajek W.** Przeciwutleniacze w żywności-aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne. 2007. WNT, W-wa
8. ISO 6557/2, 1984; PN-90/A-75101/11.Oznaczenie zawartości witaminy C
9. **Kubilay G, Kevser S, Esma T, Mustafa O and Resat A.** Talanta. 2005. 65. 1226
10. [Kyaw A.: A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. Clin. Chim. Acta. 1978. 16. 151-157.
11. **Molina-Diaz,A, Ortega-Carmona I and Pascual-Reguera M.** Talanta. 1998. 47. 531.
12. **Noroozifar M, Khorasani-Motlagh M and Rahim A.** Acta. Chim. Slov. 2004. 51. 717.
13. **Pandy N.K., Anal. Chem. 1982. 54. 793; Verma K.K., Jain A., Rawat R., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1984. 67. 262.**
14. **Pournaghi-Azar M. H., Ojani R., Talanta. 1997. 44. 297.**
15. **Rutkowski M., Grzegorzczak K.** Modifications of spectrophotometric methods for antioxidative vitamins determination convenient in analytic practice, Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 2007. 6(3). 17-28
16. **Sahbas F., Somer G., Food Chem. 1992. 44. 14.**
17. **Verma K.K., Gulati A.K., Anal. Chem. 1980. 52. 2336; Gowdo H.S, Mohan B.M, Ahmed S., Talanta. 1980. 27. 1084; Verma K.K, Talanta. 1982. 29. 41; Rao G.G., Saiwy G.S., Anal. Chim. Acta. 1971. 56. 325; Aly M. M., Anal. Chim. Acta. 1979. 106. 379.**

### METHODS OF VITAMIN C DETERMINATION – REVIEW

#### Summary

One of the main indices of the nutritional values of fruit and vegetable products as well as the correctness of the technological processes is the content of vitamin C. Due to this a large number of methods have been developed for quantifying vitamin C content in natural and fortified food samples. It is therefore essential to assess these methods. Accordingly, this paper reviews methods of vitamin C determination.

**Key words:** vitamin C, methods of determination, ascorbic acid