

## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C

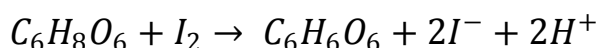
### ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μια κατάλληλη μέθοδος για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό της βιταμίνης C, του ασκορβικού οξέος, είναι μια οξειδοαναγωγική ογκομέτρηση, που βασίζεται σε μια οξειδοαναγωγική αντίδραση, χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο ένα διάλυμα ιωδίου.

Η οξειδοαναγωγική ογκομέτρηση προτιμάται από μια οξεοβασική ογκομέτρηση, που βασίζεται στην εξουδετέρωση του ασκορβικού οξέος, λόγω των επιπλέον οξέων που υπάρχουν στους χυμούς, όπως είναι το κιτρικό οξύ.

Όταν σε ένα διάλυμα που περιέχει βιταμίνη C προσθέσουμε σταδιακά (σταγόνα – σταγόνα) ένα διάλυμα ιωδίου (το I<sub>2</sub> είναι ισχυρό οξειδωτικό), η βιταμίνη C η οποία είναι αντιοξειδωτική (αναγωγική) θα αντιδράσει με το ιώδιο αμέσως σχηματίζοντας δεϋδροασκορβικό οξύ (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>).

Το μόριο της βιταμίνης C χάνει ηλεκτρόνια, τα οποία μεταφέρονται στο μόριο του ιωδίου. Το ασκορβικό οξύ οξειδώνεται προς δεϋδροασκορβικό οξύ και το ιώδιο ανάγεται σε ιόντα ιωδίου, σύμφωνα με την οξειδοαναγωγική αντίδραση που παριστάνεται από την ακόλουθη χημική εξίσωση.



Ωστόσο, μόλις η βιταμίνη C εξαντληθεί, το ιώδιο θα είναι ελεύθερο και το διάλυμα θα χρωματιστεί καφέ. Το ιώδιο δηλαδή μπορεί να λειτουργήσει ως δείκτης. Επειδή όμως είναι δύσκολο να εντοπιστεί το τελικό σημείο με τον τρόπο αυτό, προσθέτουμε στο διάλυμα άμυλο το οποίο αντιδρά με το ιώδιο σε συνδυασμό με τα ιωδιούχα ιόντα και τότε το διάλυμα χρωματίζεται σκούρο μπλε.

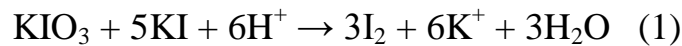
Ο ποσοτικός προσδιορισμός της βιταμίνης C, βασίζεται στο γεγονός ότι το ποσό της βιταμίνης C θα είναι ανάλογο με την ποσότητα του διαλύματος ιωδίου που απαιτείται μέχρι την εμφάνιση του μπλε χρώματος. Αν το διάλυμα ιωδίου είναι γνωστής συγκέντρωσης, τότε μπορούμε να προσδιορίσουμε το ποσό της βιταμίνης C στο άγνωστο διάλυμα, αξιοποιώντας την στοιχειομετρική αναλογία της παραπάνω οξειδοαναγωγικής αντίδρασης.

Αυτή η διαδικασία τιτλοδότησης είναι κατάλληλη για τον έλεγχο της ποσότητας της βιταμίνης C σε ταμπλέτες βιταμίνης C, σε χυμούς, σε φρέσκα - κατεψυγμένα - συσκευασμένα φρούτα και λαχανικά κ.α.

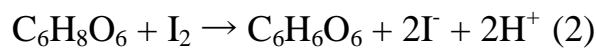
**Θεωρητικό υπόβαθρο**

Για την τιτλοδότηση θα χρησιμοποιήσουμε ένα γνωστό – πρότυπο διάλυμα ιωδίου, που είναι διάλυμα ιωδικού καλίου ( $\text{KIO}_3$ ) και ιωδιούχου καλίου ( $\text{KI}$ ).

Όταν στο διάλυμα αυτό προστεθεί ισχυρό οξύ, όπως το  $\text{HCl}$ , τότε το ιωδικό ιόν ( $\text{IO}_3^-$ ) του ιωδικού καλίου ( $\text{KIO}_3$ ) αντιδρά με το ιωδιούχο ( $\text{I}^-$ ) ιόν του ιωδιούχου καλίου και απελευθερώνεται μοριακό ιώδιο ( $\text{I}_2$ ), σύμφωνα με την ακόλουθη χημική εξίσωση.

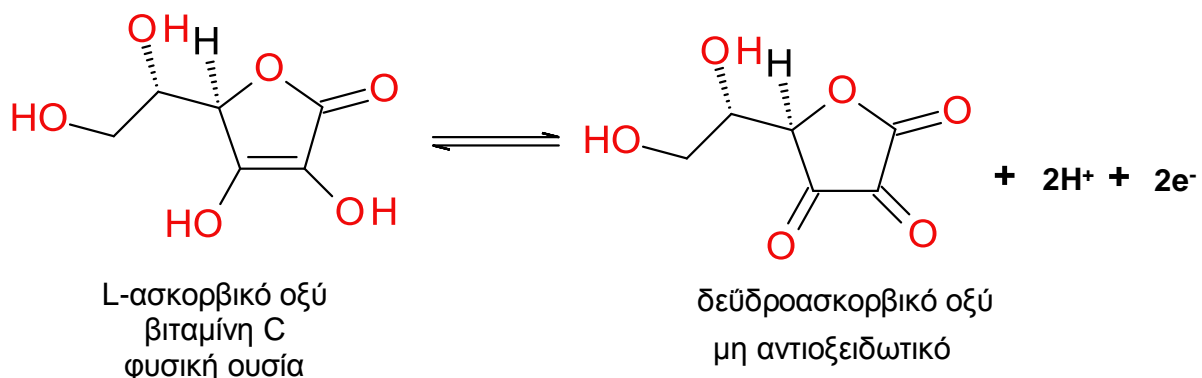


Όσο το διάλυμα περιέχει ασκορβικό οξύ – βιταμίνη C, το  $\text{I}_2$  που παράγεται, όπως φαίνεται στην χημική εξίσωση (1), χρησιμοποιείται σε μια γρήγορη αντίδραση με ασκορβικό οξύ, βλέπε χημική εξίσωση 2, κατά τη διάρκεια της οποίας σχηματίζεται το δεϋδροασκορβικό οξύ ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$ ) και το ιόν ιωδίου ( $\text{I}^-$ )



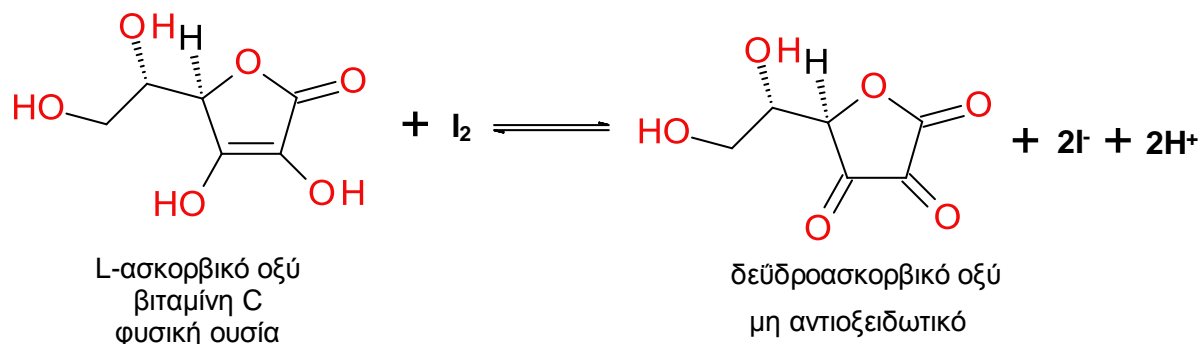
Το ιωδιούχο κάλιο πρέπει να προστεθεί σε περίσσεια για να διατηρηθεί το ιώδιο διαλυμένο. Μόλις καταναλωθεί όλο το ασκορβικό οξύ, οποιαδήποτε περίσσεια ιωδίου θα παραμείνει στο διάλυμα. Επειδή τα υδατικά διαλύματα ιωδίου είναι καφέ χρώματος, το ιώδιο μπορεί να λειτουργεί από μόνο του ως δείκτης. Ωστόσο, είναι αρκετά δύσκολο να ανιχνευθεί το τελικό σημείο της ογκομέτρησης χρησιμοποιώντας μόνο χρωματισμό ιωδίου και προτιμάται η προσθήκη αμύλου, το οποίο σχηματίζει με το ιώδιο αλλά όχι με το ιωδικό ιόν ένα σύμπλοκο που έχει έντονο μπλε χρώμα.

Η οξειδοαναγωγική ισορροπία :



Το μόριο της βιταμίνης C χάνει ηλεκτρόνια, τα οποία μεταφέρονται στο μόριο του ιωδίου. Το ασκορβικό οξύ οξειδώνεται προς δεϋδροασκορβικό οξύ και το ιώδιο ανάγεται σε ιόντα ιωδίου, σύμφωνα με την οξειδοαναγωγική αντίδραση.





Το αντιστρεπτό οξειδοαναγωγικό σύστημα ασκορβικού/δεϋδροασκορβικού οξέος μετέχει ενεργά σε πλήθος βιοχημικών συζευγμένων οξειδοαναγωγικών διεργασιών και επομένως το δεϋδροασκορβικό οξύ διατηρεί τις βιοχημικές ιδιότητες της βιταμίνης C εκτός βέβαια από την αντιοξειδωτική της ικανότητα.

Είναι χαρακτηριστικό το ότι το ασκορβικό οξύ δεν μπορεί να εισέλθει στον εγκέφαλο μέσω της κυκλοφορίας αίματος, σε αντίθεση με το δεϋδροασκορβικό οξύ. Έτσι, το ασκορβικό οξύ που βρίσκεται στον εγκέφαλο και μάλιστα σε αυξημένες συγκεντρώσεις σε σχέση με άλλα όργανα του σώματος είναι αποτέλεσμα της εκεί βιοχημικής αναγωγής του δεϋδροασκορβικού οξέος. Γενικά, ενώ το ασκορβικό οξύ δεν διαπερνά εύκολα τις κυτταρικές μεμβράνες, ενώ το δεϋδροασκορβικό οξύ τις διαπερνά μέσω του μεταφορέα γλυκόζης 1 (glucose transporter 1, GLUT1)

**Ο στόχος αυτού του πειράματος** είναι να καθοριστεί το ποσό της βιταμίνης C σε δείγματα, χυμών πορτοκαλιού φυσικών ή συσκευασμένων, με τη χρήση οργάνων και αντιδραστηρίων ενός οργανωμένου εργαστηρίου χημείας.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

## ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ-ΟΡΓΑΝΑ-ΣΥΣΚΕΥΕΣ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όργανα - συσκευές	Αντιδραστήρια
Ηλεκτρονικός Ζυγός	Δισκία βιταμίνης C
Κωνική φιάλη	Διάλυμα ιωδίου, που περιέχει KI και KIO <sub>3</sub>
Προχοΐδα – Ορθοστάτης	Διάλυμα αμύλου 1 % w/v, ως δείκτης
Ποτήρι ζέσης	Διάλυμα HCl 1M
Σιφώνιο πλήρωσης των 10 mL, με πουάρ	Απιονισμένο νερό
Ογκομετρικές φιάλες 1000 mL, 500 mL	Χυμός πορτοκαλιού φυσικός ή συσκευασμένος
Ογκομετρικές φιάλες 250 mL, 100 mL	Χυμοί άλλων φρούτων ή λαχανικών
Υδροβολέας	
Χωνί , στίφτης	
Μαγνητικός αναδευτήρας – θερμαντήρας	

**A. Παρασκευή διαλύματος βιταμίνης C με περιεκτικότητα 1mg/mL**

1. Προμηθευόμαστε δισκία βιταμίνης που περιέχουν 1000 mg – 1 g βιταμίνης C το καθένα.
  2. Σε ένα ποτήρι ζέσεως διαλύουμε ένα δισκίο των 1000 mg, σε 100 mL περίπου απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αυτό μεταφέρουμε, με τη βοήθεια ενός γυάλινου χωνιού, σε ογκομετρική φιάλη 1L και το αραιώνουμε με απιονισμένο νερό μέχρι τελικού όγκου 1000 mL.
  3. Βάζουμε στην ογκομετρική φιάλη την ετικέτα «Βιταμίνη C 1mg/mL».
- Μπορούμε να διαλύσουμε το δισκίο βιταμίνης C 1g σε 250 mL απιονισμένο νερό, να πάρουμε με σιφώνιο 25 mL και να το αραιώσουμε στα 100 mL με απιονισμένο νερό.

**B. Παρασκευή διαλύματος ιωδίου - KIO<sub>3</sub> 0,01M και KI 0,1M**

1. Ζυγίζουμε στον ηλεκτρονικό ζυγό αρχικά 1,07 gr ιωδικού καλίου (KIO<sub>3</sub>) και προστίθενται σε ένα ποτήρι ζέσεως που περιέχει 200 mL περίπου απιονισμένο νερό και διαλύονται.
2. Στη συνέχεια ζυγίζουμε 8,3 gr ιωδιούχου καλίου (KI) τα οποία προστίθενται και αυτά στο ποτήρι ζέσεως με τα 200 mL αποσταγμένου νερού και διαλύονται.
3. Το διάλυμα αυτό μεταφέρεται με τη βοήθεια ενός γυάλινου χωνιού σε ογκομετρική φιάλη 500 mL και αραιώνεται με τη προσθήκη απιονισμένου νερού σε τελικό όγκο 500 mL.
4. Βάζουμε στην ογκομετρική φιάλη την ετικέτα «Διάλυμα ιωδίου (KIO<sub>3</sub> 0,01M και KI 0,1M)».

***Γ. Παρασκευή διαλύματος αμύλου με περιεκτικότητα 1% w/v***

1. Προσθέτουμε 1g διαλυτού αμύλου σε 100 mL βραστό απιονισμένο νερό.
2. Αναδεύουμε καλά και το αφήνουμε να κρυώσει πριν τη χρήση.
3. Βάζουμε μια ετικέτα «Διάλυμα αμύλου 1% w/v». Μπορεί να διατηρηθεί αρκετό χρόνο αρκεί πριν κάθε χρήση να θερμαίνεται και να αφήνεται να κρυώσει.

***Δ. Ογκομέτρηση γνωστής ποσότητας βιταμίνης C.***

1. Γεμίζουμε τη προχοΐδα με το διάλυμα ιωδίου –  $\text{KIO}_3$  0,01M και KI 0,1M.
2. Σημειώνουμε τον αρχικό όγκο του διαλύματος ιωδίου στη προχοΐδα.
3. Σε μια κωνική φιάλη προσθέτουμε 20 mL διαλύματος βιταμίνης C, που περιέχουν 20mg βιταμίνης.
4. Προσθέτουμε στη κωνική φιάλη 20 σταγόνες ή 2 mL διαλύματος αμύλου 1% w/v.
5. Στη συνέχεια προσθέτουμε στη κωνική φιάλη 2-3 mL διαλύματος HCl 1M.
6. Ακολούθως τοποθετούμε τη κωνική φιάλη κάτω από τη προχοΐδα, ανοίγουμε προσεκτικά τη στρόφιγγα της προχοΐδας και προσθέτουμε διάλυμα ιωδίου αργά (σταγόνα-σταγόνα), με συνεχή περιστροφική ανακίνηση της κωνικής φιάλης, μέχρι να γίνει αντιληπτή η αλλαγή του χρώματος του διαλύματος της κωνικής φιάλης σε σκούρο μπλε. Η αλλαγή στο χρώμα πρέπει να παραμένει περισσότερο από 20 - 30 δευτερόλεπτα.
7. Σημειώνουμε τον τελικό όγκο του διαλύματος ιωδίου στη προχοΐδα.
8. Η διαφορά μεταξύ του αρχικού και του τελικού όγκου είναι η ποσότητα του διαλύματος ιωδίου που απαιτείται για την οξείδωση όλης της ποσότητας της βιταμίνης C.

***Ε. Ογκομέτρηση δείγματος φρέσκου ή συσκευασμένου χυμού πορτοκαλιού***

1. Στείβουμε ένα πορτοκάλι και παίρνουμε το χυμό
2. Στραγγίζουμε το χυμό.
3. Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία που χρησιμοποιήσαμε για την ογκομέτρηση της γνωστής ποσότητας της βιταμίνης C, χρησιμοποιώντας 20 mL δείγματος χυμού.
4. Σημειώνουμε την ποσότητα του διαλύματος του ιωδίου που απαιτείται για την οξείδωση όλης της ποσότητας της βιταμίνης C που περιέχεται στον χυμό.

**ΣΤ. Υπολογισμός περιεκτικότητας βιταμίνης C σε δείγμα χυμού**

Όταν γνωρίζουμε τον όγκο V<sub>1</sub> του διαλύματος ιωδίου που απαιτείται για τα **20 mg** βιταμίνης C στα 20 mL διαλύματος βιταμίνης C που ογκομετρήθηκε και τον όγκο V<sub>2</sub> του διαλύματος ιωδίου που απαιτείται για τα **X mg** βιταμίνης στο ογκομετρούμενο δείγμα των 20 mL χυμού, τότε μπορούμε να βρούμε τη βιταμίνη C που υπάρχει στα 20 mL του δείγματος χυμού με τη σχέση:

$$\frac{x \text{ mg βιταμίνης C στο χυμό}}{V_2 \text{ ml διαλύματος ιωδίου}} = \frac{20 \text{ mg βιταμίνης C}}{V_1 \text{ ml διαλύματος ιωδίου}}$$

Οπότε:

$$x = \frac{20 * V_2}{V_1} \text{ mg}$$

Υπολογίζουμε την περιεκτικότητα του χυμού σε βιταμίνη C ως εξής:

Περιεκτικότητα χυμού σε βιταμίνη C (mg/100mL) = 5 \* x

Τελικά προκύπτει:

$$\text{Η περιεκτικότητα του χυμού σε βιταμίνη C (mg/100mL)} = \frac{100 * V_2}{V_1} \text{ mg}$$

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ – ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

Exp 9: Iodometric Titration Online Tutorial - Preparation of a KIO<sub>3</sub> Standard Solution.

(2016, August 17). Retrieved from

<http://www.chemcollective.org/chem/ubc/exp09/index.php>

Βαλαβανίδης, Θ. & Ευσταθίου, Κ. (2014). *Η χημική ένωση του μήνα. L-ασκορβικό οξύ (Βιταμίνη C)*. Ανακτήθηκε από [http://195.134.76.37/chemicals/chem\\_ascorbicacid.htm](http://195.134.76.37/chemicals/chem_ascorbicacid.htm)

Harris, C.D. (2009). *Ποσοτική χημική ανάλυση*. Τόμος Α', Ηράκλειο: ΠΕΚ

Vitamin C. (2018, March 7). In wikipedia. Retrieved from

[http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\\_C](http://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C)

Mark Levine, Sebastian J. Padayatty & Michael Graham Espey. (2011).

Vitamin C: A Concentration-Function Approach Yields Pharmacology and Therapeutic Discoveries. *Advances in Nutrition*, Volume 2, Issue 2, Pages 78–88

Βιταμίνη C. (2017, Δεκέμβριος 8). Στην ΒΙΚΙΠΑΙΔΕΙΑ. Ανακτήθηκε από

[https://el.wikipedia.org/wiki/Βιταμίνη\\_C](https://el.wikipedia.org/wiki/Βιταμίνη_C)