

# Методы измерения массовой доли витамина С (аскорбиновой кислоты)

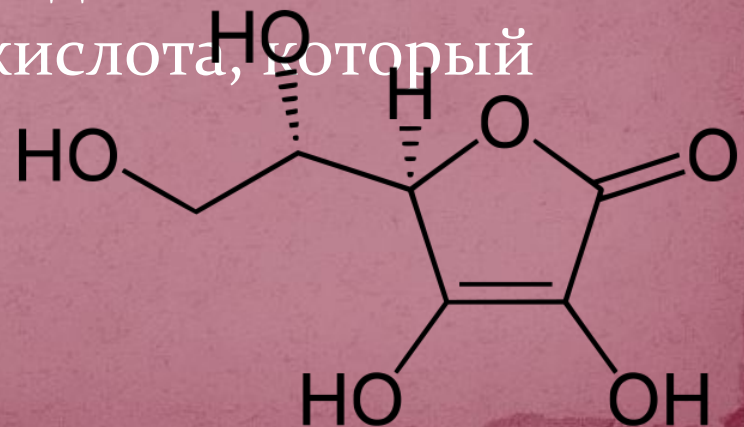
---



Аскорбиновая кислота — органическое соединение, родственное глюкозе, является одним из основных веществ в человеческом рационе, которое необходимо для нормального функционирования соединительной и костной ткани.

Выполняет биологические функции восстановителя и кофермента некоторых метаболических процессов, является антиоксидантом.

Биологически активен только один из изомеров — *L*-аскорбиновая кислота, который называют витамином С







# Функции витамина С:

- Участвует в :
- регулировании окислительно-восстановительных процессов, углеводного обмена, свёртываемости крови, регенерации тканей;
- метаболизме фенилаланина , тирозина, фолиевой кислоты, норэпинефрина, гистамина, железа;
- усвоении углеводов, синтезе липидов, белков, карнитина;
- иммунных реакциях, гидроксилировании серотонина, усиливает абсорбцию негемового железа;
- Повышает устойчивость организма к инфекциям;
- Уменьшает сосудистую проницаемость;
- Снижает потребность в витаминах В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, А, Е, фолиевой кислоте, пантотеновой кислоте;
- Обладает антиагрегатными и выраженными антиоксидантными свойствами.
- Активирует протеолитические ферменты, участвует в обмене ароматических аминокислот, пигментов и холестерина, способствует накоплению в печени гликогена



# АВИТАМИНОЗ И

## ГИПЕРВИТАМИНОЗ

- Цинга - болезнь, вызываемая недостатком в питании витамина С
- Принято считать, что среди симптомов нехватки в организме витамина С находятся слабость иммунной системы, кровоточивость дёсен, бледность и сухость кожи, замедленное восстановление тканей после физических повреждений (раны, синяки), потускнение и выпадение волос, ломкость ногтей, вялость, быстрая утомляемость, ослабление мышечного тонуса, ревматоидные боли в крестце и конечностях (особенно нижних, боли в ступнях), расшатывание и выпадение зубов; хрупкость кровеносных сосудов приводит к кровоточивости дёсен, кровоизлияниям в виде тёмно-красных пятен на коже.
- Однако на сегодня (август 2011) не было проведено достаточного количества исследований, на основании которых можно было бы достоверно утверждать о наличии связи между упомянутыми симптомами и недостатком в организме витамина С. Лишь когда его количество принимает крайне малые значения, проявляются некоторые из перечисленных симптомов, сигнализирующих о возникновении крайне редкого заболевания — цинги.
- Избыток витамина С может вызывать раздражение мочевого тракта (при длительном употреблении), кожный зуд, понос, однако отчетливых результатов клинических исследований на эту тему не представлено.

## ГОСТ 30627.2-98

# Продукты молочные для детского питания Метод измерения массовой доли витамина С

### Область применения

Настоящий стандарт распространяется на молочные ПДП и устанавливает методы измерения массовой доли витамина С.

Методы основаны на взаимодействии витамина С ( аскорбиновой кислоты ) с натрием 2 , 6- дихлорфенолиндофенолятом с последующим количественным определением витамина С титрованием или колориметрированием.



# I Колориметрический метод измерения массовой доли вит. С в сухих молочных ПДП

## 1 Подготовка к выполнению измерения:

### 1.1 Приготовление водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации **60 г/дм<sup>3</sup>**

Взвешивают (120,00±0,04) г растёртой в ступке метафосфорной кислоты на весах 4 класса точности, растворяют в 100-300 мл дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 2000 мл, доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют.

Раствор хранят при (6±2) °С не более 7 сут.

### 1.2 Приготовление водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации **30 г / дм<sup>3</sup>**

Необходимый для измерения объем водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации 60 г/дм<sup>3</sup> смешивают с дистиллированной водой в соотношении 1:1.

Раствор готовят непосредственно перед применением.

1.3 Приготовление водного раствора трилона Б (этилендиаминтетрацетат натрия) молярной концентрации  $c(\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8) = 0,05$  моль/ дм<sup>3</sup>

Взвешивают  $(3,600 \pm 0,004)$  г трилона Б на весах 2-го класса точности и растворяют 100-300 мл дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 2000 мл, доливая дистиллированную воду до метки.

1.4 Приготовление смеси водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации 60 г/дм<sup>3</sup> и раствора трилона Б  $c(\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8) = 0,05$  моль/ дм<sup>3</sup> (раствор осадителя)

Отмеряют цилиндром 300 мл водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации 60 г/дм<sup>3</sup> и 300 мл раствора трилона Б в коническую колбу объемом 750 мл и перемешивают.

Раствор готовят непосредственно перед применением.



### 1.5 Приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (раствор красителя)

Взвешивают  $(0,100 \pm 0,001)$  г раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия на весах 2-го класса точности, растворяют в 500 мл свежекипяченной дистиллированной воды  $t (90 \pm 5) ^\circ\text{C}$  и фильтруют в мерную колбу вместимостью 1000 мл через складчатый фильтр. Промывают фильтр водой той же температуры, охлаждают раствор до  $(20 \pm 5) ^\circ\text{C}$ , доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Раствор хранят при  $(6 \pm 2) ^\circ\text{C}$  не более 7 сут.

### 1.6 Приготовление водного раствора уксусной кислоты молярной концентрации $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,5$ моль/дм<sup>3</sup>

3 мл уксусной кислоты растворяют в 30-50 мл дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят до той же водой до метки и перемешивают.

### 1.7 Приготовление ацетатного буферного раствора

Взвешивают  $(90,8 \pm 0,1)$  г уксусного натрия на весах, растворяют в 100-300 мл дист. воды в мерной колбе вместимостью 2000 мл, добавляют 5 мл раствора уксусной кислоты молярной концентрации  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,5$  моль/дм<sup>3</sup>, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

### **1.8 Приготовление смеси растворов красителя и ацетатного буферного раствора**

Отмеряют цилиндром 50 мл раствора красителя и 50 мл ацетатного буферного раствора в коническую колбу вместимостью 250 мл и перемешивают.

### **1.9 Приготовление основного раствора витамина С ( аскорбиновой кислоты ) массовой концентрации 2 мг/мл**

Взвешивают  $(0,200 \pm 0,001)$  г витамина С на весах , растворяют в 30-50 мл водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации 30 г/дм<sup>3</sup> в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят до метки тем же раствором

### **1.10 Приготовление рабочего раствора витамина С массовой концентрации 100 мкг /мл**

5 мл основного раствора витамина С растворяют в 30-50 мл раствора осадителя , приготовленного (1.4 ) в мерной колбе вместимостью 100 мл , доводят до метки тем же раствором и перемешивают.



## 1.11 Построение калибровочного графика

Отмеряют в шесть мерных колб вместимостью 50 мл пипеткой по 3,4,5,6,7 и 8 мл рабочего раствора вит. С, доводят содержимое колб до метки раствором осадителя и перемешивают.

Массовые концентрации вит. С будут равны соответственно 6,8,10,12,14 и 16 мкг/мл. Берут по 5 мл раствора каждого разведения в пробирки, добавляют в каждую пробирку по 10 мл смеси растворов красителя и ацетатного буферного раствора с добавлением нескольких гранул витамина С для обесцвечивания красителя.

Для построения калибровочного графика по оси ординат откладывают полученные значения оптической плотности, а по оси абсцисс – соответствующие на массовые концентрации вит. С.

Длины осей для построения графика должны быть не менее 160 мм.

## 2Проведение измерения

Навеску сухого продукта берут с учетом массовой доли витамина С в продукте.

<u>Массовая доля витамина С, млн<sup>-1</sup></u>	<u>Навеска продукта, г</u>
100-500	1,50 ± 0,04
более 500	1,00 ± 0,04

- Навеску продукта помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл (при массовой доле витамина С в продукте от 100 до 250 млн<sup>-1</sup>), 50 мл (при мас. доле вит. С от 250 до 750 млн<sup>-1</sup>) и 100 мл (при мас. доле вит. С более 750 млн<sup>-1</sup>), добавляют раствор осадителя до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу вместимостью 100 мл.
- Берут пипеткой 5 мл фильтрата в пробирку, добавляют 10 мл смеси раствора красителя и ацетатного буферного раствора, перемешивают и определяют значение оптической плотности на колориметре или фотометре при длине световой волны 515 нм против холостой пробы.
- Определяют массовую концентрацию витамина С в фильтрате по калибровочному графику.



## 3Обработка результатов

Массовую долю вит.С (X) , млн<sup>-1</sup> , вычисляют по формуле:

$$X = \frac{p_c * V}{m}$$

Где  $p_c$  – массовая концентрация аскорбиновой кислоты в фильтрате ,  
определенная по калибровочной кривой, мкг/мл

V- общий объем разведения продукта , мл

m- масса пробы продукта , взятая для измерения , г

# II Метод измерения массовой доли витамина С в жидких молочных ПДП методом титрования

## ● 1 Подготовка к выполнению измерения

- 1.1 Приготовление метафосфорной к-ты мас. концентрации  $60 \text{ г/дм}^3$  ( согласно разд. I пункт 1.1)
- 1.2 Приготовление водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации  $30 \text{ г/дм}^3$  ( согласно разд. I пункт 1.2)
- 1.3 Приготовление водного раствора соляной кислоты массовой концентрации  $20 \text{ г/дм}^3$

46 мл соляной кислоты плотностью  $1,185 \text{ г/мл}$  растворяют 300-500 мл дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1000 мл , доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.



- **1.4 Приготовление основного раствора витамина С ( аскорбиновой кислоты ) массовой концентрации 1 мг/мл**

Взвешивают  $(0,100 \pm 0,001)$  г витамина С на весах , растворяют в 30-50 мл водного раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации  $30 \text{ г/дм}^3$  в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят до метки тем же раствором .

- **1.5 Приготовление рабочего раствора витамина С массовой концентрации 0,1 мкг /мл**

10 мл основного раствора витамина С растворяют в 30-50 мл раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации  $30 \text{ г/дм}^3$  в мерной колбе вместимостью 100 мл , доводят до метки тем же раствором.

## **1.6 Приготовление раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (раствор красителя)**

Взвешивают  $(0,200 \pm 0,001)$  г раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия на весах 2-го класса точности, растворяют в 300 мл свежекипяченной дистиллированной воды  $t(80 \pm 5)^\circ\text{C}$  и фильтруют в мерную колбу вместимостью 500 мл через складчатый фильтр.

Промывают фильтр водой той же температуры, охлаждают раствор до  $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ , доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят при  $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$  не более 7 сут.

## **1.7 Определение титра раствора раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия**

В две конические колбы наливают по 9 мл водных растворов метафосфорной кислоты массовой концентрации  $30 \text{ г/дм}^3$  или соляной кислоты массовой концентрации  $20 \text{ г/дм}^3$  и по 1 мл раствора витамина С массовой концентрации  $0,1 \text{ мг/мл}$  и быстро титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до светло-розовой окраски, не исчезающей в течении 15 с.



Титр раствора Т , мг/мл, вычисляют по формуле:

$$T = \frac{0,1 \times 1,0}{V - V_0}$$

где,

1,0 – значение объема раствора витамина С , мл

0,1 – значение массовой концентрации рабочего раствора  
витамина С, мг/мл

V- объем раствора 2 , 6- дихлорфенолиндофенолята натрия ,  
израсходованного на титрование рабочего раствора витамина С ,  
мл

V<sub>0</sub>- объем раствора дихлорфенолиндофенолята натрия ,  
израсходованного на титрование метафосфорной кислоты  
массовой концентрации 30 г/дм<sup>3</sup> ( холостая проба) , мл

## ● 1.8 Подготовка фильтрата

Взвешивают (10,00 ± 0,04) г продукта и вносят в мерную колбу вместимостью 50 мл (при расчетной массовой доле витамина С в продукте от 20 до 80 мг<sup>-1</sup>), 100 мл (при расчетной массовой доле витамина С в продукте свыше 80 мг<sup>-1</sup>), добавляют 15-20 мл раствора метафосфорной кислоты массовой концентрации 60 г/дм<sup>3</sup>, перемешивают не менее 1 мин, доводят до метки раствором метафосфорной кислоты массовой концентрации 30 г/дм<sup>3</sup>, перемешивают и фильтруют.

(Вместо метафосфорной кислоты можно использовать соляную кислоту (разд II пункт 1.3))



## 2 Проведение измерения

10 мл фильтрата вносят в коническую колбу вместимостью 50 мл и титруют раствором 2,6 0 дихлорфенолинфенолята натрия до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 15 с, согласно (разд II, пункт 1.7)

## 3Обработка результатов измерения

Массовую долю витамина С (X), млн<sup>-1</sup> вычисляют по формуле

где

$$X = \frac{T(V - V_0) \cdot V_1 \cdot 1000}{V_2 \cdot m}$$

T-титр р-ра 2,6 дихлор

V- объем р-ра 2,6 дихлордифенолиндофенолята натрия, израсх-ый на титрование анализируемого раствора, мл

V<sub>0</sub> - объем р-ра 2,6 дихлордифенолиндофенолята натрия, израсх-ый на титрование холостой пробы, мл

V<sub>1</sub> - общий объем раствора, мл

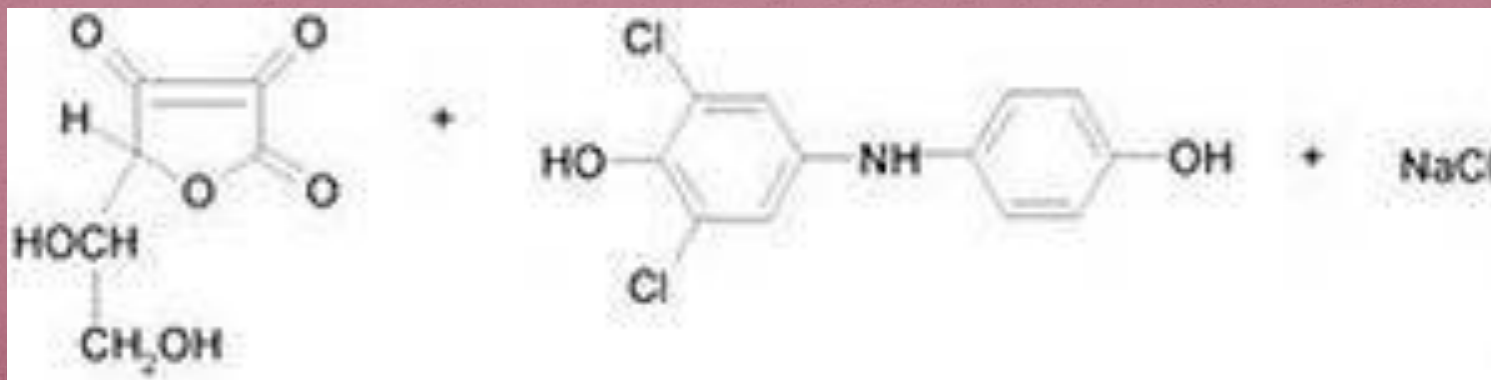
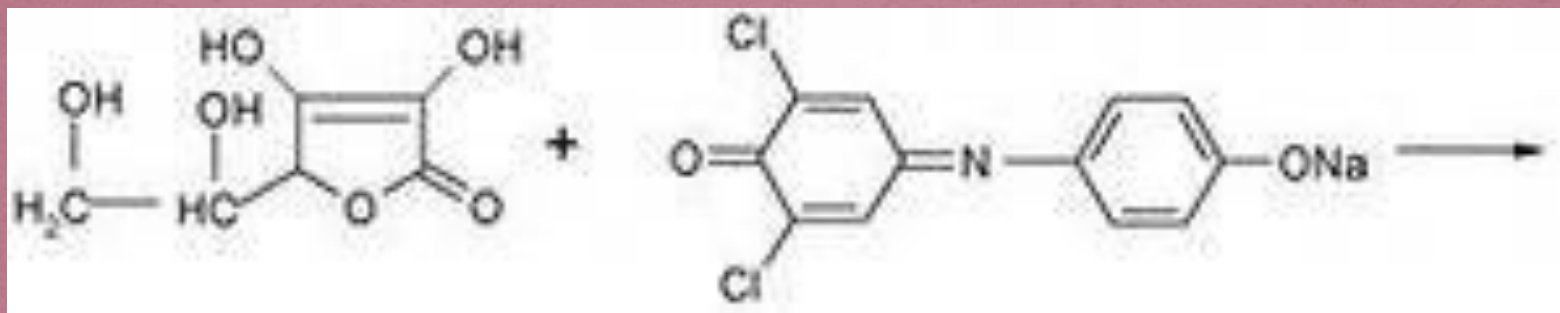
1000- коэффициент пересчета, мкг

V<sub>2</sub> - объем фильтрата, взятый на титрование, мл

m – масса пробы продукта, г.

# Основная реакция

Взаимодействию витамина С  
( аскорбиновой кислоты ) с натрием 2,6-  
дихлорфенолиндофенолятом





# Задачи

● Дневная норма потребления витамина С составляет 70 мг. В 100г садовой земляники в среднем содержится 60 мг витамина С. Сколько процентов дневной нормы витамина С получил человек съевший 100г садовой земляники ?

● Дневная норма потребления витамина С составляет 70 мг. Один апельсин в среднем содержит 40 мг витамина С. Сколько примерно процентов дневной нормы витамина С получил человек, съевший 1 апельсин ?

