

BADANIE PROCESU UTLENIANIA KWASU ASKORBINOWEGO TECHNIKAMI ELEKTROCHEMICZNYMI

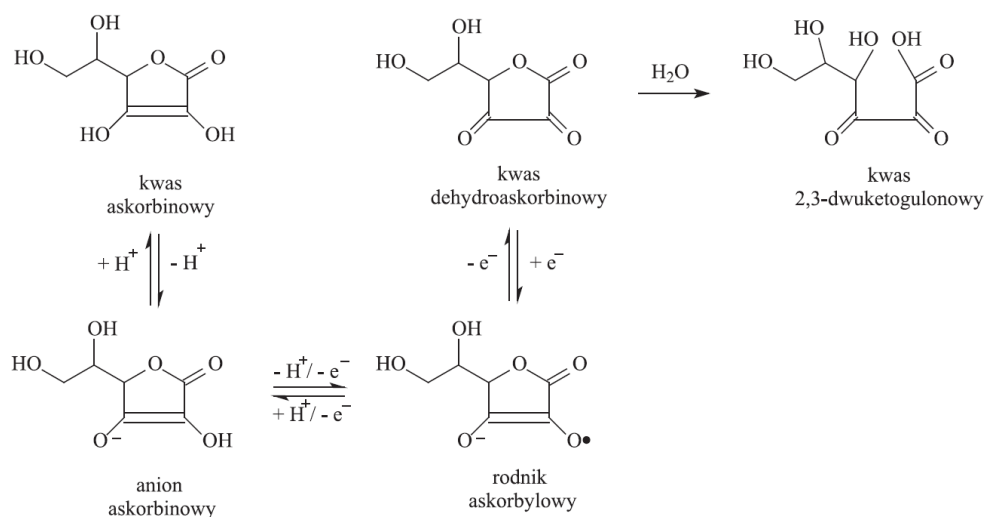
Kwas askorbinowy, znany również jako witamina C, występuje w wielu owocach i warzywach, może być także syntetyzowany przez różne ssaki, ale człowiek nie posiada szlaków metabolicznych prowadzących do jego syntezy, w związku z czym musi być dostarczany na bieżąco z pożywieniem. Kwas askorbinowy powszechnie występuje w układach biologicznych i jest podstawową substancją biorącą udział w procesach biochemicznych żywych komórek. Spełnia rolę nie tylko reduktora i kofaktora reakcji enzymatycznych, ale także jest składnikiem ogólnego redokсового układu buforowego dzięki równowagom z połówicznie utlenioną, w procesie jednoelektronowym, formą kwasu semidehydroaskorbionowego lub całkowicie utlenioną, w procesie dwuelektronowym, formą kwasu dehydroaskorbionowego. W ludzkim organizmie równowaga pomiędzy kwasem askorbinowym a formą w pełni utlenioną we krwi jest stabilizowana poprzez odpowiednie reakcje enzymatyczne. Ponadto, witamina C wspomaga syntezę aminokwasu L-karnityny i katecholamin, biorących udział w procesach regulacji systemu nerwowego człowieka, wpływa na przyswajanie żelaza poprzez redukcję jonów Fe^{3+} do Fe^{2+} w żołądku oraz zmniejsza stężenie histaminy sprzyjając nasileniu się niepożądanych objawów np. w procesach zapalenia alergicznego. Zbyt niskie stężenie witaminy C w organizmie ludzkim może sprzyjać anemii, infekcjom i chorobom psychicznym. Z kolei bardzo duże dawki witaminy C stosowane są w trakcie leczenia różnych schorzeń, np.: cukrzycy, katarakty, jaskry, miażdżycy, chorób serca i terapii nowotworowej.

Jako antyutleniacz kwas askorbinowy jest często składnikiem żywności, np.: różnych napoi, gdyż zapobiega zmianom koloru, smaku i zapachu. Niestety ulega on łatwo rozkładowi pod wpływem enzymów wydzielanych z materiału organicznego w trakcie procesów technologicznych obróbki żywności, w wysokich temperaturach lub w obecności powietrza. Ocenia się, że podczas produkcji soku owocowego straty kwasu askorbinowego mogą przewyższać 50%. W związku z tym dodaje się kwasu askorbinowego aby uzupełnić te straty. Jednak zbyt duże stężenie kwasu askorbinowego może także przyczynić się do zahamowania naturalnych procesów zachodzących w żywności i w konsekwencji zmienić jej smak. Przykładowo, zbyt duży dodatek kwasu askorbinowego do pulpy z jabłek hamuje procesy utleniania, w których powstają związki chemiczne odpowiedzialne za przyjemny aromat soku jabłkowego.

W związku z tym, aby kontrolować stężenie kwasu askorbinowego w procesach technologicznych i produktach końcowych konieczne jest stosowanie szybkich i tanich metod oznaczania tego związku. Do grupy takich metod można zaliczyć metody wykorzystujące techniki elektrochemiczne takie jak np. woltamperometria cykliczna (ang. Cyclic Voltammetry, CV) oraz woltamperometria pulsowa różnicowa (ang. Differential Pulse Voltammetry, DPV).

W układach elektrochemicznych w roztworach o pH poniżej 8,0 kwas askorbinowy utlenia się w procesie dwuetapowym do anionowego rodnika askorbylowego, a następnie do kwasu dehydroaskorbionowego (Rysunek 1). Szczegółowy transfer elektronu obejmuje deprotonację kwasu, a następnie utlenianie jednoelektronowe do rodnika askorbylowego. W kolejnym szybkim etapie zachodzie nieodwracalne jednoelektronowe utlenianie anionowego rodnika do kwasu dehydroaskorbionowego, który nie ulega dalszemu utlenianiu elektrochemicznemu,

ale szybko ulega protonowaniu i hydratacji z wytworzeniem kwasu 2,3-dwuketogulonowego. Jednakże na elektrodach litych (np. elektrody z węgla szklanego, metaliczne) proces może zachodzić przy dużych nadpotencjałach.



Rys. 1. Utlenianie kwasu askorbinowego w procesach elektrochemicznych

Woltamperometria cykliczna wykorzystująca świeżo aktywowane elektrody z węgla szklanego jest wygodną metodą do badania utleniania kwasu askorbinowego. Zarówno potencjał pikowego utleniania (a tym samym nadpotencjał utleniania) oraz intensywność pików są mocno zależne od stanu powierzchni elektrody. Poza różnymi zanieczyszczeniami, powierzchnia elektrody może być zmodyfikowana przez występujące wiązania C-O powstające w trakcie dłuższego kontaktu elektrody z powietrzem lub wilgocią. Dlatego też, powierzchnię elektrody należy aktywować przed pomiarami poprzez wypolerowanie. Działanie to skutkuje świeżą powierzchnią elektrody, na której transfer elektronu w trakcie utleniania kwasu askorbinowego przebiega stosunkowo szybko. W związku z tym, że procesy utleniania kwasu askorbinowego są bardzo szybkie i przebiegają nieodwracalnie, na krzywej woltamperometrycznej obserwuje się zazwyczaj tylko jeden dwuelektronowy pik utleniania natomiast nie obserwuje się pików redukcji.

Aparatura

Potencjostat PalmSens3, elektroda GCE, elektroda Ag|AgCl, elektroda Pt, szklana celka elektrochemiczna z pokrywą teflonową

Odczynniki

NaH₂PO₄, kwas askorbinowy, woda dwukrotnie destylowana.

Literatura

1. A. Kiszka, *Elektrochemia II. Elektrodyka*, WNT, Warszawa, 2001, s. 230–240.
2. A. Cygański, *Metody elektroanalityczne*, WNT, Warszawa, 1995, s. 385–395.

Wykonanie ćwiczenia

Woltamperometria cykliczna

1. Sporządzić 1 dm³ roztworu elektrolitu podstawowego (0,1 M NaH₂PO₄).
2. W kolbie na 100 cm³ sporządzić roztwór wyjściowy kwasu askorbinowego o stężeniu 0,1 M. Jako rozpuszczalnika użyć roztwór elektrolitu podstawowego.
3. Wykorzystując roztwory sporządzone w pkt. 1 i 2 przygotować serie roztworów kwasu askorbinowego o stężeniach 2 mM, 4 mM, 6 mM, 8 mM, 10 mM w 0,1 M NaH₂PO₄.
4. Napełnić naczynie pomiarowe roztworem 0,1 M NaH₂PO₄.
5. Zamontować elektrody: pracującą (GCE), odniesienia (Ag|AgCl) oraz przeciwelektrodę (Pt). Podłączyć elektrody do potencjostatu odpowiednimi przewodami (patrz opisy kabli).
6. Zarejestrować krzywą woltamperometrii cyklicznej w zakresie potencjałów od 0 do 1,0 V względem elektrody odniesienia przy szybkości zmian potencjału $dE/dt = 50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.
7. Po zakończeniu pomiaru uzyskane wyniki zapisać w arkuszu kalkulacyjnym MS Excel.
8. Pkt. 6 i 7 powtórzyć dla wszystkich roztworów kwasu askorbinowego (w kolejności wzrastających stężeń). Przed każdym pomiarem oczyścić elektrodę pracującą.
9. Dla roztworu kwasu askorbinowego o stężeniu 10 mM zarejestrować krzywe woltamperometrii cyklicznej w zakresie potencjałów od 0 do 1,0 V dla różnych szybkości zmian potencjału (50, 30, 20, 15, 10, oraz 5 mV·s⁻¹). Pomiary wykonać w kolejności zmniejszających się szybkości skanowania.

Chronoamperometria

10. Umieścić naczynie pomiarowe z mieszalnikiem na mieszadle magnetycznym a następnie wlać odmierzoną objętość (50 cm³) roztworu podstawowego. Rejestrować krzywą chronoamperometryczną przy potencjale 0,55 V przez 720 s z ciągłym mieszaniem roztworu. Po upływie 2 min dodać pierwszą porcję 0,1 M kwasu askorbinowego o objętości 0,25 cm³ (roztwór sporządzony w pkt. 2), a kolejne 4 porcje kwasu askorbinowego dodawać co 2 min.
11. Zarejestrować krzywe chronoamperometryczne bez mieszania w roztworze elektrolitu podstawowego oraz w roztworach zawierających różne stężenia kwasu askorbinowego 2 mM, 4 mM, 6 mM, 8 mM, 10 mM w 0,1 M NaH₂PO₄ przy przyłożonym potencjale 0,55 V. Pomiar rejestrować przez 30 s. Zmierzyć średnicę elektrody pracującej.

Analiza próbki rzeczywistej

12. Zważyć tabletkę witaminy C i zanotować jej masę całkowitą, a następnie rozetrzeć tabletkę na proszek w moździerzu. Odważyć naważkę proszku, tak aby deklarowane przez producenta stężenie witaminy C w kolbie na 100 ml wynosiło 5 mM. Przenieść ilościowo odważoną porcję proszku z tabletki do kolby na 100 ml. Jako rozpuszczalnika użyć roztwór elektrolitu podstawowego.
13. Napełnić naczynie pomiarowe przygotowanym w pkt. 12 roztworem witaminy C. Zarejestrować krzywą woltamperometrii cyklicznej w zakresie potencjałów od 0 do 1,0 V względem elektrody odniesienia przy szybkości zmian potencjału $dE/dt = 50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.

Opracowanie wyników

Woltamperometria cykliczna

1. W jednym układzie współrzędnych wykreślić zależności natężenia prądu w funkcji potencjału (krzywe woltamperometryczne) zarejestrowane dla roztworu elektrolitu podstawowego oraz roztworów kwasu askorbinowego o różnych stężeniach.
2. Szczegółowo omówić jakościowo przebieg poszczególnych krzywych biorąc pod uwagę charakter badanego procesu (odwracalność) a także wpływ wzrastającego stężenia kwasu askorbinowego.
3. Wykreślić zależność prądu pikowego w funkcji stężenia kwasu askorbinowego.
4. Do otrzymanych punktów dopasować linię trendu wyznaczając również współczynnik korelacji R^2 . Omówić uzyskaną zależność.
5. W jednym układzie współrzędnych wykreślić zależności natężenia prądu w funkcji potencjału (krzywe woltamperometryczne) zarejestrowane dla różnych wartości szybkości zmian potencjału (V). Szczegółowo omówić jakościowo wpływ zmiany wartości V na kształt krzywych woltamperometrycznych.
6. Wyznaczyć wartości prądów i potencjałów pików i wykreślić ich zależność. Do otrzymanych punktów dopasować linię trendu wyznaczając również współczynnik korelacji R^2 . Omówić uzyskaną zależność.
7. Wykreślić zależność wartości prądu od pierwiastka z szybkości zmian potencjału (szybkość skanowania). Do otrzymanych punktów dopasować linię trendu wyznaczając również współczynnik korelacji R^2 . Omówić uzyskaną zależność.

Chronoamperometria

8. Narysować krzywą chronoamperometryczną (wartość prądu w funkcji czasu) dla dodanych 7 porcji kwasu askorbinowego. Uśrednić wartość rejestrowanego prądu dla każdej z dodanych porcji odrzucając wyniki dla pierwszej minuty po dodaniu porcji. Wartości zestawić w tabeli.
9. Wykreślić zależność średniej wartości prądu dla każdej z porcji (obliczone z pkt. 8) od stężenia kwasu askorbinowego (uwzględniać rozcieńczenie roztworu po dodaniu kolejnej porcji kwasu askorbinowego). Do otrzymanych punktów dopasować linię trendu wyznaczając również współczynnik korelacji R^2 . Omówić uzyskaną zależność.
10. W jednym układzie współrzędnych wykreślić zależności natężenia prądu od $t^{-0,5}$ dla pomiarów z pkt. 11 i dopasować linię trendu dla $t^{-0,5}$ przyjmujących wartości z zakresu 0,3 – 0,8. Nachylenia uzyskanych krzywych zestawić w tabeli, a następnie wykreślić zależność nachylenia tych krzywych od stężenia kwasu askorbinowego i dopasować linię trendu. Z wyznaczonego nachylenia tej krzywej oraz w oparciu o równanie Cottrella:

$$I(t) = \frac{nFAD^{1/2}C}{\pi^{1/2}t^{1/2}}$$

gdzie: n - liczba elektronów biorąca udział w procesie ($n = 2$), F – stała Faradaya (96 487 C/mol), A – pole powierzchni elektrody (cm^2), D – współczynnik dyfuzji ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), C – stężenie kwasu askorbinowego (mol/cm^3), t – czas (s);

wyznaczyć współczynnik dyfuzji kwasu askorbinowego w 0,1 M NaH_2PO_4 . Przedyskutować otrzymane wyniki.

Analiza próbki rzeczywistej

11. Wykreślić zależność natężenia prądu w funkcji potencjału (krzywa woltamperometryczna) zarejestrowaną dla roztworu naważki tabletki witaminy C. Wyznaczyć wartość natężenia prądu pikowego utleniania.
12. Korzystając z krzywej kalibracyjnej uzyskanej w pkt. 4 wyznaczyć stężenie witaminy C w roztworze uzyskanym z naważki tabletki, a następnie obliczyć rzeczywistą zawartość witaminy C w tabletkie. Porównać wartość deklarowaną przez producenta z zawartością rzeczywistą witaminy C w tabletkie.