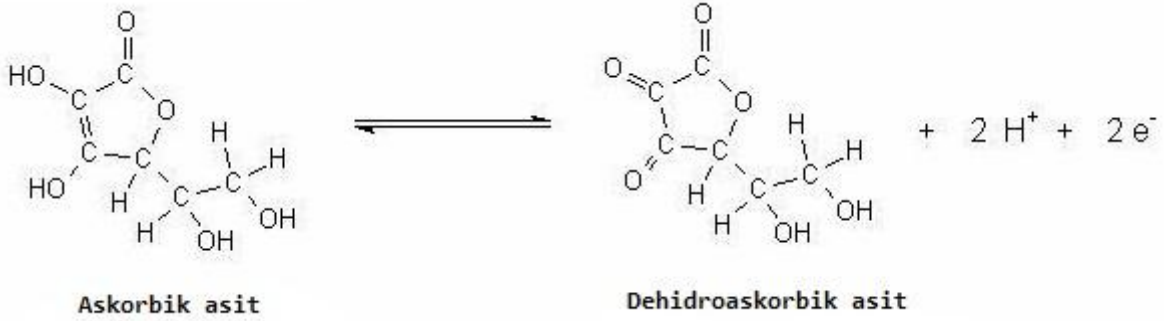


### 3. GIDALARDA ASKORBİK ASİT TAYİNİ

C vitamini olarak bilinen L-Askorbik asit (ASA), besinlerle alınması gereken önemli bir vitamindir. L-Askorbik asit, kimyasal olarak suda çözünen, hafif asidik bir karbohidrattır. Yapısal olarak D-Glukoz'a benzer.



Bitkiler ve hayvanlar L-Askorbik asit sentezi yapabilirler ama insanlarda L-Glunolakton oksidaz enzimi olmadığı için sentez gerçekleştirilemez. L-Askorbik asit, suda çözüldüğü için vücutta depolanamaz ve her gün alınması gerekir. Besin maddelerindeki L-Askorbik asit hava ile temas ettiğinde yükseltgenir ve vitamin etkisini kaybeder. Aynı zamanda, yiyeceklerin fazla pişirilmesi sonucu tahrip olur. Çiğ besin maddelerinde L-Askorbik asidi yükseltgeyen enzim inaktif halde bulunur. Kesme ve soyma işlemleri ile enzim aktive edilerek L-Askorbik asit yükseltgenir. Bu enzimin aktivitesi bakır iyonu varlığında artar.

C vitamini, ince bağırsaklarda emilir. 100 mg'a kadar olan dozlarda emilim %95 oranında gerçekleşirken miktar arttıkça emilim azalmaktadır. 1 gram C vitamini alındığında emilim %70'lere kadar düşer. Bu nedenle besin maddeleri ile alınan C vitamini, saf alınan C vitamininden daha iyi emilir. Fazla C vitamini idrar ile oksalat kristali şeklinde dışarı atılır.

Günde 100-200 mg askorbat, vitamin eksikliğine bağlı hastalıkları önlemeye yeterlidir. Doğada en çok taze sebze ve meyvelerde bulunur. Meyveler arasında en çok askorbik asit içerenler; limon, portakal, greyfurt, kivi, ananas, çilek ve Frenk üzümüdür. Sebzeler, özellikle kuşburnu, karnabahar, lahana, ıspanak, kuru soğan, biber, turp, tere, maydanoz ve yer elması askorbik asit bakımından en zengin kaynaklardır.

Tablo 3.1 bazı meyve ve sebzelerde Askorbik asit miktarı

Sebze- Meyve	Askorbik asit miktarı (g/100g)
Kuşburnu	0,45
Maydanoz	0,18
Yeşil sivri biber	0,1
Kivi	0,09
Karnabahar	0,08
Portakal	0,05
Mandalina	0,03
Limon	0,03

L-Askorbik asit eksikliğinde Skorbüt hastalığı görülür. Bu hastalık yetersiz ve anormal kollojen sentezine bağlı olarak ortaya çıkar. Eklemlerde şişme, dişeti kanamaları ve anemi ile karakterize bir hastalıktır. Anemi, demir emiliminin azalmasına bağlı olarak ortaya çıkar.

Son yıllarda yapılan çalışmalara göre C vitamininin uzun süre yüksek dozda alınması pro-oksidan etki göstermektedir. Akut olarak toksitesi gözlenmemiştir.

### 3.1.Gıdalarda vitamin analizleri

- ❖ Gıdalardaki vitamin değerini belirlemek
- ❖ Mevzuata uygunluğunu araştırmak
- ❖ Etiket bilgilerine uygunluğunu araştırmak üzere yapılabilir.

Gıdalardaki vitamin analizleri, volumetrik titrasyon ve enstrümental analiz yöntemleri ile tayin edilebilir.

Çoğu gıda maddesindeki vitamin analizleri spektroskopik yöntemlerle yapılabilmektedir. Bunun için gıda maddesindeki vitamin uygun çözücülerle ( çoğunlukla asidik ortamda) özütlenip çözeltiye alınır. Çözelti özel bir kromatografik kolondan geçirilerek vitaminler ayrılır ve fluometri veya başka optik yöntemler kullanılarak miktarları bulunur.

Doğruluk açısından en geçerli yöntem HPLC olsa da çok pahalı olduğu için pek tercih edilmemektedir.

Gıdalarda en çok yapılan vitamin analizleri;

- ❖ Meyve ve sebze ürünlerinde, gazozda **A vitamini (beta karoten)** tayini,
- ❖ Bitkisel margarinlerde **A ve D vitamini** tayini,
- ❖ Meyve ve sebze ürünlerinde **C vitamini** tayinidir.

Erime noktası 192 °C ve molekül ağırlığı 176 olan renksiz kristallerden oluşan C vitamini, bir antiskorbüt faktörüdür.

- Hem indirgen gücü olan hem de asidik özellik veren bir dijenol grup ihtiva eder.
- Benzen, eter, petrol eteri, kloroform ve yağda çözünmez.
- C vitamini (Askorbik asit) vitaminler arasında en dayanıksız olanıdır.
- Alkalilerle ve oksidasyona karşı ve özellikler Cu ve Fe gibi katalizörler bulunduğu ortamlarda çok hassastır.
- Kuru kristaller halinde iken dayanıklıdır.
- Asit çözeltilerinde de (ph 4'den aşağıda) oldukça dayanıklıdır.
- Havanın oksijeni ile okside olur ve bunun sonucunda vitamin aktivitesini kaybeder.
- Doğada indirgenmiş ( $C_6H_8O_6$ ) ve yükseltgenmiş ( $C_6H_6O_6$ ) şeklinde bulunur.

### 3.2. Askorbik asit tayini

#### 3.2.1. Titrimetrik titrasyonla Askorbik asit tayini

Titrimetrik titrasyonla askorbik asit tayini yaparken askorbik asit miktarı belirlenecek olan numune erlene alınır, derişimi bilinen ayarlı çözelti ise bürete alınır ve uygun bir indikatör ile çözeltilerin tepkimeye girmesi sağlanır. Bu yöntemle titrimetrik titrasyon adı verilir.

Askorbik asidin kuvvetli bir indirgen olması nedeniyle 2,6-diklorfenolindofenol boya çözeltisi ile yapılan titrasyon sonucu oluşan dehidro askorbik asitin pembe renk oluşturması ilkesine dayanır.

## **Gerekli çözeltiler:**

### **\* %3'lik ve %6'lık okzalik asit çözeltisi**

**\*2,6 diklorfenolindofenol (boya) çözeltisi :** 50 mg 2,6 diklorfenolindofenol 50 ml sıcak suda çözülür. Üzerine 42 mg NaHCO<sub>3</sub> (sodyum bikarbonat) eklenir, su ile 200 ml'ye tamamlanır, süzülür (Bu çözelti buzdolabında 10-14 gün dayanıklıdır).

**\*Standart askorbik asit çözeltisi :**10 mg askorbik asit 50 ml okzalik asit çözeltisi içinde çözündürülür.( 0,2 mg / 1 mL)

### **\*Ekstraksiyon:**

Askorbik asit analizine geçmeden önce, analiz yapılacak olan örnek cinsine göre bir dizi işlemden geçirilerek analize hazırlanmalıdır.

Eğer örnek katı ise; 200-300 g örnek aynı miktar %6 lık okzalik asit ile blender yardımı ile iyice homojenize edilir ve karışımdan 10-4 g tartılarak %3 lik okzalik asit ile 100 mL'lik balonjojeye aktarılarak çizgisine kadar tamamlanır ve filtre edilir.

Eğer örnek sıvı ise; doğrudan 20 g veya 20 mL alınarak 100 mL'lik balonjojeye aktarılır. %3'lik okzalik asit ile hacmine tamamlanır.

### **Deneyin yapılışı:**

Ayarlama için 50 ml'lik birerlenmeye 5 ml askorbik asit çözeltisi (5 ml çözelti tam 1 mg askorbik asit içerir) alınıp üzerine okzalik asit çözeltisinden 5 ml eklendikten sonra bürete doldurulmuş olan boya çözeltisi ile titre edilir. Titrasyon, son bir damla boya çözeltisi eklenince 15 sn. süreyle kaybolmayan hafif pembe bir renk oluşana kadar sürdürülür. Harcanan hacim kaydedilir. Harcanan (ml) boya çözeltisi 1 mg askorbik aside eşdeğerdir. Buna göre 1 ml boya çözeltisinin eşdeğeri olan askorbik asit miktarı, yani çözeltinin faktörü (F) aşağıdaki gibi bulunur:

**BOYA ÇÖZELTİSİNİN FAKTÖRÜ (F) = 1 / HARCANAN BOYA ÇÖZELTİSİ (ml)**

Eğer örnek katı ise yukarıda açıklanan ekstraksiyon işlemlerinden elde edilen filtrattan 5-20 ml veya sıvı ise doğrudan 5-20 mL alınarak 50 ml'lik bir erlenmayere aktarılır. Bürete doldurulmuş bulunan 2,6 diklorofenolindofenol çözeltisi ile titre edilir. Titrasyonun bitiş noktası, son bir damla boya çözeltisi damlatılınca 15 sn süreyle sabit kalan pembe rengin oluştuğu andır. Harcanan hacim kaydedilir.

Sonucun hesaplanması:

Örnekteki askorbik asit aşağıdaki eşitlikten yararlanarak hesaplanır.

$$\text{ASKORBİK ASİT MİKTARI (mg/100 g)} = V \times F \times 100 / W$$

**V:** Titrasyonda harcanmış olan 2,6- diklorofenolindofenol çözeltisi miktarı, (ml)

**F:** 2,6-diklorofenolindofenol çözeltisinin faktörü. Yani, bu çözeltinin 1 ml'sinin eşdeğer olduğu askorbik asit miktarı, (mg)

**W:** Titrasyonda kullanılan filtratın içerdiği örnek miktarı,(g) (Bu değer 100 ml'lik balona alınan ezmedeki örnek miktarından veya kimi zaman yapıldığı gibi doğrudan alınan esas örnek miktarından yararlanılarak hesaplanır.)