

Z Katedry Chemii Nieorganicznej Wydziału Mat.-Fiz.-Chem. UMCS
Kierownik: prof. dr Włodzimierz Hubicki

Krystyna HUBICKA

**Amperometryczne oznaczanie kwasu
askorbinowego za pomocą $K_3[Fe(CN)_6]$**

**Амперометрическое определение аскорбиновой кислоты
при помощи $K_3[Fe(CN)_6]$**

**Amperometrische Bestimmung von Ascorbinsäure
mit Hilfe von $K_3[Fe(CN)_6]$**

Sama ilość prac na temat ilościowego oznaczania kwasu askorbinowego i wielorakość stosowanych w tym celu metod świadczy najlepiej o tym, jak wielką wagę przywiązuje się do dokładnego szybkiego sposobu oznaczania tego związku. Klasyczna metoda oparta na własnościach utleniających 2-6-dwuchlorofenolindofenolu opracowana przez Tillmanna (1) ulepszona następnie przez Stroheckera i Vaubela (2) względnie Dewjatnina i Doroszenkę (3) lub innych jest stosowana najczęściej mimo nietrwałości roztworów tego barwnika i kłopotliwego mianowania roztworów.

Liczne zaproponowane metody jodometryczne, manganometryczne, bromometryczne, jodanometryczne niezależnie od sposobu stwierdzenia punktu końcowego reakcji mają jedną zasadniczą wadę, mianowicie, że odczynniki w niej stosowane są przeważnie silnymi utleniaczami i tym samym oprócz kwasu askorbinowego utleniają cały szereg innych substancji o stosunkowo wysokim potencjale redox. To zaznacza się szczególnie, gdy mamy do czynienia nie z czystym preparatem witaminy C, ale z wyciągiem roślinnym. Rzecz zrozumiała, że ta właściwość wspomnianych odczynników może powodować zbyt wysokie wyniki analiz. Zaletą natomiast tych metod może być tylko to, że oznaczania przeprowadza się w roztwo-

rach kwaśnych, w których kwas askorbinowy jest stosunkowo trwałą.

Tabela 1

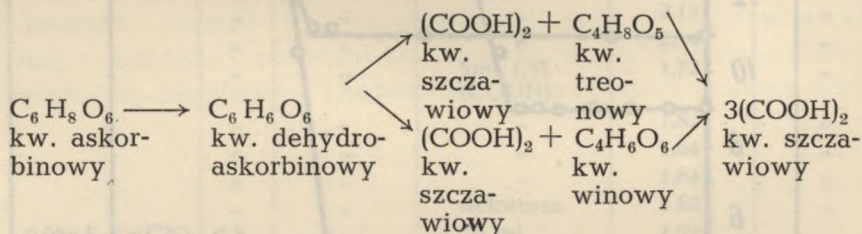
Normalne potencjały redox niektórych substancji

Reakcja	E ₀ V
$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e} \rightarrow \text{Mn}^{+2} + 4\text{H}_2\text{O}$	+ 1,51
$\text{ClO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6\text{e} \rightarrow \text{Cl}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+ 1,44
$\text{BrO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6\text{e} \rightarrow \text{Br}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+ 1,42
$\text{JO}_3^- + 6\text{H}^+ + 6\text{e} \rightarrow \text{J}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	+ 1,08
$\text{J}_2 + 2\text{e} \rightarrow 2\text{J}^-$	+ 0,62
2-6-dwuchloroindolofenol (pH = 0)	+ 0,64
(pH = 7)	+ 0,22
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3} + \text{e} \rightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{-4}$	+ 0,36
kwas askorbinowy (pH = 0)	~ + 0,35
" " (pH = 7)	~ + 0,00

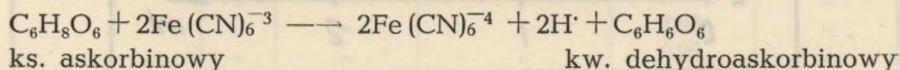
Sam kwas askorbinowy nie tworzy termodynamicznego odwracalnego układu utleniająco redukcyjnego i jak to już Laki (4) stwierdził, potencjał redox tego związku jest w silnym stopniu zależnym od pH roztworu. Di Gleria (5) podaje, że przy pH = 0 dla kwasu askorbinowego E = 0,3295 V, z badań zaś Laki (4) jak i Greena (6) wynika, że przy pH bliskim 7 dla kwasu askorbinowego E = 0. Green podaje wzór $E_H = 0,375 - 0,060 \text{ pH}$, wyciągając wniosek, że wszystkie wskaźniki serii Clarka aż do kwasu indygocterosulfonowego włącznie mogą być użyte przy miareczkowaniu kwasu askorbinowego. Ostatnio zależnością potencjału redox kwasu askorbinowego od pH środowiska zajmowali się Erdy i Svehla (7). Otrzymane przez nich wyniki różnią się od danych Greena (6), mianowicie przy pH = 0, E wynosi prawie że 0,4 V, a przy pH = 6 prawie że 0,1 V. Wysoka cena 2-6-dwuchloroindoloidolu nietrwałość jego roztworu i dość czasochłonne nastawianie nasunęły mi myśl zastosowania do oznaczania kwasu askorbinowego substancji utleniających używanych do nastawiania roztworów $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, a to chromianu, dwuchromianu potasu oraz żelazniczanku potasu (8), których to roztwory można szybko nastawić przez odważenie odpowiednich ilości wysuszonych preparatów. Jako metodę pomiarów zastosowałam metodę amperometryczną. Wiado-

mo jest z badań Lingane i Kolthoffa (9), że jon żelaziciankowy daje dobrze wykształconą falę polarograficzną, a z badań natomiast Kolthoffa i Pana (10), iż chromian i dwuchromian potasu można z powodzeniem zastosować do oznaczeń amperometrycznych, jako że posiadają one własność polaryzowania elektrody pomiarowej. W dostępnej mi literaturze nie spotkałam się z zastosowaniem powyższych odczynników do amperometrycznego oznaczenia kwasu askorbinowego. Z metod amperometrycznych oznaczania tego związku należy wspomnieć opracowaną przez Colsona, Crowella i Friesa (11). Autorzy ci stosowali jako roztwór miareczkowany mieszaninę 0,75 ml 0,3 n HCl 10 ml 0,1 n KJ 10 ml roztworu kwasu askorbinowego miareczkując ją 0,01 n KJO₃. W tych warunkach potencjał utleniający JO₃, jak łatwo obliczyć, wynosi około + 0,87 V. Potencjał ten jest duży, co może doprowadzić do zbyt wysokich wyników, bowiem jak Strohecker i Matt (12) udowodnili, utlenianie kwasu askorbinowego do dehydroaskorbinowego następuje tylko przy zastosowaniu utleniaczy o potencjale redox mniejszym od + 0,77 V.

Według Stroheckera i Matta (12) w słabo kwaśnym środowisku lub obojętnym utlenianie kwasu askorbinowego jonami chromianowymi powinno iść w kierunku powstawania kwasu dehydroaskorbinowego, natomiast w silnie kwaśnym dalej do kwasu szczawiowego i treonowego względnie winowego w myśl reakcji



Reakcja pomiędzy K₃Fe(CN)₆ a kwasem askorbinowym przebiega w środowisku obojętnym zbuforowanym według Erdeya zgodnie z równaniem.

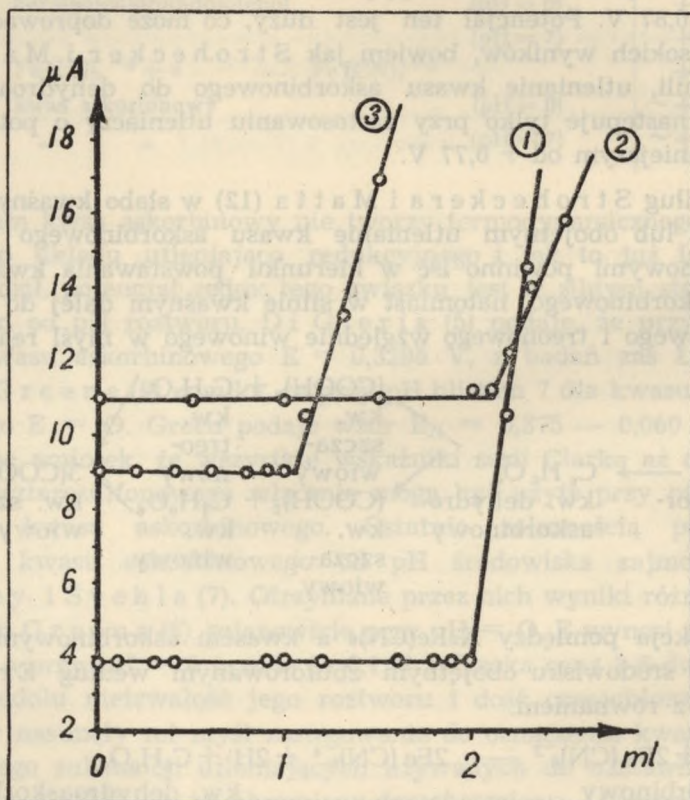


Jak widać z tej reakcji kwas askorbinowy można oznaczyć za pomocą K₃Fe(CN)₆ obok kwasu dehydroaskorbinowego, tzn. jego pierwszego produktu utlenienia.

Aparatura i pomiary

Do pomiarów użyto normalny zestaw amperometryczny stosując mikroelektrodę wirującą platynową, akumulator ołowiowy 2 V. Ilość obrotów motorka około 600 na minutę, galwanometr zwierciadlany firmy Lange o czułości 10^{-9} ampera na podziałkę skali. Jako drugiej elektrody użyto kalomelowej nasyconej łącząc ją z naczynkiem pomiarowym za pomocą klucza elektrolitycznego wypełnionego żelazem agar-agaru nasyconego KCl.

Jako odczynników użyto 0,05 n roztworów K_2CrO_4 , $K_2Cr_2O_7$, $K_3Fe(CN)_6$. Wszystkie trzy roztwory były sporządzone z preparatów pro analisi firmy Merck, Darmstadt. Roztwory sporządzono przez odważkę wysuszonych soli. 0,01 n roztwór kwasu askorbinowego



o zawartości 0,8806 g/l sporządzono z preparatu firmy B.H.D. Preparat ten oznaczony metodą Tillmanna wykazał zawartość 99,7% kwasu askorbinowego. Dekstroza użyta przy niektórych pomiarach

była preparatem firmy B.H.D., kwas siarkowy, kwas szczawiowy oraz KH_2PO_4 , NaH_2PO_4 użyte do buforu fosforanowego były preparatami chemicznie czystymi F.O.Ch. Gliwice. Miareczkowań dokonowano przy użyciu mikrobiurety.

Pomiary wstępne wykazały, że najlepsze amperogramy uzyskuje się w wypadku stosowania jako roztworów miareczkujących K_2CrO_4 i $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ przy 0,15 V przyłożonego napięcia, natomiast przy stosowaniu $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ przy napięciu 0,2 do 0,3 V.

Tablica II zestawia niektóre z uzyskanych wyników. Wykres 1 ilustruje odpowiednie amperogramy, na których uwzględniono po-

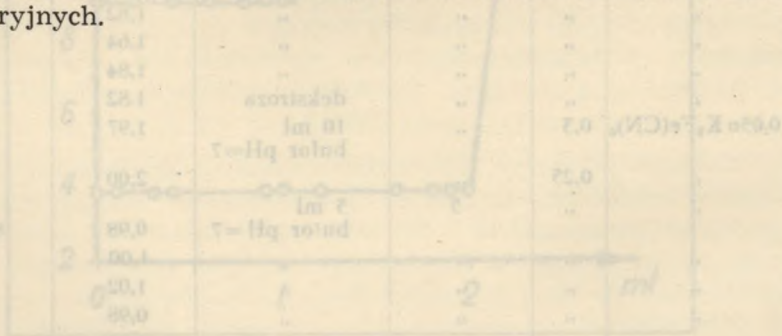
Tabela II

Odczynnik	V	ml kw. askorb. 0,00997 n	dodatki	ml odcynnika zużytego	ml odcynnika teoret.
0,05n $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	0,15	10		1,9	1,994
"	"	"		2	"
"	"	"		2,1	"
"	"	"		2,1	"
"	"	"		2,05	"
"	"	5		0,94	0,997
"	"	"		0,95	"
0,05n K_2CrO_4	"	10	10 ml $\text{ln H}_2\text{SO}_4$	1,98	1,994
"	"	"	"	2,16	"
"	"	"	"	2,12	"
"	"	"	"	2,14	"
"	"	"	5ml 1,5% (COOH)	1,72	"
"	"	"	"	1,82	"
"	"	"	"	1,64	"
"	"	"	"	1,84	"
"	"	"	dekstroza	1,82	"
0,05n $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	0,3	"	10 ml bufor pH=7	1,97	"
"	0,25	"	"	2,00	"
"	"	5	5 ml bufor pH=7	0,98	8,997
"	"	"	"	1,00	"
"	"	"	"	1,02	"
"	"	"	"	0,98	"
"	"	"	"	1,04	"
"	"	"	5 ml bufor + dekstroza	1,00	"
"	"	"	"	0,97	"

prawkę na wartość prądu dyfuzyjnego i , którą należy uwzględnić z uwagi na przyrost objętości roztworów w czasie miareczkowania

$$i_{\text{cor.}} = i \cdot \frac{V_1 + V_2}{V_1}$$

Jak wynika z powyższej tabeli, przy zastosowaniu $K_2Cr_2O_7$ jako odczynnika utleniającego otrzymuje się wyniki dość odbiegające od siebie, rozrzut ich wynosi około 10%. Przy użyciu K_2CrO_4 , jako odczynnika utleniającego kwas askorbinowy w roztworze kwaśnym, rozbieżność wyników jest jeszcze większa, przy czym rzecz dziwna, przy użyciu 1 $\frac{1}{2}$ % kwasu szczawiowego wyniki były z reguły za niskie, przy użyciu 2 n kwasu siarkowego za wysokie. Natomiast miareczkowanie amperometryczne kwasu askorbinowego zbuforowanego buforem fosforanowym o pH = 7 roztworem $K_3Fe(CN)_6$ dało wyniki stosunkowo mało odbiegające od siebie, leżące w granicach błędów dopuszczalnych dla metod graficznych. Rozrzut wyników wynosił około 4%. Przy pomiarach szybkich można z powodzeniem zadowolić się odczytem dwóch wartości prądu dyfuzyjnego przed punktem stechiometrycznym oraz dwóch po punkcie, wystarczają one w zupełności do wykreślenia amperogramu. Nie zauważono przy szybkim miareczkowaniu na powietrzu (5—10 min.) jakichś specjalnych zakłóceń względnie wyników za niskich. Nie różniły się te miareczkowania od identycznych przeprowadzonych w atmosferze azotu. Dodatek dekstrozy nie wpływał na wyniki. Metoda oznaczania kwasu askorbinowego za pomocą roztworu $K_3Fe(CN)_6$ moim zdaniem nie ustępuje metodzie Tillmanna, a jest o wiele szybszą, tańszą, małoskomplikowaną i nadaje się do pomiarów seryjnych.



zawartość 0,0025 g/l - 1 ml roztworu z preparatu tleny II H₂O₂ Prę-
 parat ten oznaczony metodą Tillmanna wykazał zawartość 98,7%
 kwasu askorbinowego. Dekstroza użyta przy niektórych pomiarach

LITERATURA

1. Tillmann J. — Z. Unters. Lebensmittel 54, 53 (1927).
2. Strohecker R., Vaubel R. — Ang. Chem. 49, 466 (1936).
3. Dewjatnin W., Doroszenko W. — Biochem. Zeitschr. 280, 118 (1935).
4. Laki K. — Chem. Zentralblatt II, 84 (1933).
5. Di Gleria J. — Chem. Zentralblatt I, 1409 (1935).
6. Green D. P. — Biochem. J. 27, 1044 (1933).
7. Erdey L., Svehla G. — Z. anal. Chem. 150, 408 (1956).
8. Kolthoff J. M., Sandell E. B. — Textbook of Quantitative Inorganic Analysis. New York 1948, s. 624.
9. Lingane J. J., Kolthoff J. M. — J. Am. Chem. Soc. 61, 825 (1939).
10. Kolthoff J. M., Pan Y. D. — J. Am. Chem. Soc. 61, 3402 (1939).
11. Colson D. M., Crowell W. R., Fries S. L. — Anal. Chem. 22, 529 (1950).
12. Strohecker R., Matt F. — Z anal. Chem. 133, 5 (1951).

РЕЗЮМЕ

В этой работе доказана возможность определения аскорбиновой кислоты путем амперометрического титрования, применяя в качестве окислителя 0,05 раствор $K_3Fe(CN)_6$, Раствор $K_3Fe(CN)_6$ готовится взвешиванием определенного количества сухой соли. Титрование проводится в растворе буферированном KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 до $pH = 7$. Пользуясь вращающимся платиновым микроэлектродом, нужно работать при напряжении 0,2 — 0,3 V.

Результаты анализа повторительны, средняя ошибка $\pm 2\%$ допустима пределом графических методов.

Применение $K_2Cr_2O_7$ или K_2CrO_4 как окислителя в небуферированном растворе с добавкой или без добавки кислоты дает расходящиеся результаты.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass auf dem Wege der amperometrischen Titration bei Anwendung von 0,05 n $K_3Fe(CN)_6$ -Lösung die Ascorbinsäure bestimmt werden kann. Die Lösung wird durch Abwägen des getrockneten Präparats eingestellt. Die Titration wurde in gepufferter KH_2PO_4 Na_2HPO_4 -Lösung ($pH = 7$) durchgeführt. Bei Anwendung einer rotierenden Platinmikroelektrode arbeitet man bei der Spannung 0,2—0,3 V. Die Ergebnisse sind reproduzierbar. Der mittlere Fehler beträgt $\pm 2\%$, also überschreitet nicht die in der graphischen Methode zulässigen Grenzen. Bei Anwendung von $K_2Cr_2O_7$ bzw. K_2CrO_4 als Oxydationsreagens in ungepufferter saurer oder nicht saurer Lösung erhält man sehr voneinander abweichende Ergebnisse.