



AZ ÖSSZASZKORBINSAV-TARTALOM ÉS AZ ANTIOXIDÁNS-AKTIVITÁS KÖLTSÉGHATÉKONY MEGHATÁROZÁSA. ÉLELMISZER-KÉMIAI ESETTANULMÁNY

COST-EFFECTIVE DETERMINATION OF TOTAL ASCORBIC ACID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY. A FOOD CHEMISTRY CASE STUDY

Csavidári Alexandra Ana,^{1,2} Bogyor Andrea,^{1,2} Bitay Enikő^{3,4}

¹ Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kémia és Vegésmérnöki Kar, Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kolozsvár, Románia, alexandra.csavidari@ubbcluj.ro

² Erdélyi Múzeum Egyesület Kutatóintézete, Kolozsvár, Románia

³ Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Műszaki és Humántudományi Kar, Marosvásárhely, Románia

⁴ Óbudai Egyetem, Bánki Donát Gépész és Biztonságtechnikai Mérnöki Kar, Budapest, Magyarország

Abstract

This study investigates the cost-effective and reliable determination of total ascorbic acid (AA) content, as well as antioxidant activity, from a range of 32 alcoholic and non-alcoholic beverages. 5 cold-pressed oil samples and 2 types of honey were also considered. Among the iodometric methods, the back-titration of unreacted iodine with thiosulfate yielded the best results for AA content. The method proved simple, fast, reliable, and accurate, with a recovery rate of ascorbic acid exceeding 99% in 2 standardized commercial pharmaceutical products. Total antioxidant activity determination was based on the reaction of antioxidant species with ABTS, followed by a photometric assessment of the reaction's extent. Results, expressed in terms of AA content, were good and reliable, yet in some cases less precise and accurate. Most beverages exhibited higher antioxidant activity than their respective AA content, likely influenced by other antioxidant compounds such as flavonoids and anthocyanins present in fruit-based drinks. Both methods proved useful in demonstrating the nutritional value of various easy to consume beverages, oils and honey.

Keywords: *total ascorbic acid content, antioxidant activity, food samples, iodometry, photometry.*

Összefoglalás

A tanulmány célja az aszkorbinsav-tartalom (AS), valamint az összantioxidáns-aktivitás költséghatékony és megbízható meghatározása 32 alkoholos és alkoholmentes italból, 5 hidegen sajtolt olajmintából és kétféle mézből. A jodometriás módszerek közül az el nem reagált jódtioszulfáttal történő visszatitrálása generálta a legjobb eredményeket az AS-tartalom meghatározásában. A módszer egyszerűnek, gyorsnak, megbízhatónak és pontosnak bizonyult: az aszkorbinsav visszanyerési aránya meghaladta a 99%-ot 2 szabványos kereskedelmi gyógyszerkészítmény esetében. Az összantioxidáns-aktivitás meghatározása az antioxidánsfajok ABTS-sel való reakcióján és ennek fotometriás értékelésén alapult. Az AS-tartalomban kifejezett eredmények megbízhatónak, viszont néhány esetben kevésbé pontosnak bizonyultak. A legtöbb ital magasabb antioxidáns-aktivitást mutatott, mint a megfelelő AS-tartalma, amely valószínűleg más antioxidáns vegyületek, például a gyümölcsalapú italokban található flavonoidoknak és antocianinoknak köszönhető. Mindkét módszer hasznosnak bizonyult a különféle, könnyen fogyasztható italok, olajok és mézek tápértékének kimutatásában.

Kulcsszavak: *aszkorbinsav-tartalom, antioxidáns-aktivitás, élelmiszerminták, jodometria, fotometria.*

1. Bevezetés

1.1. A C-vitamin fontossága az emberi szervezetben

A C-vitamin (L-aszkorbinsav) nélkülözhetetlen tápanyag az emberi szervezet számára. Fontosságát Szent-Györgyi Albert magyar tudós ismerte fel. Általános nevén mint aszkorbinsav (AS) ismert, és az emberi szervezet egészséges élettani működésében betöltött kulcsszerepének köszönhetően folyamatos kutatások tárgyát képezi [1, 2]. A C-vitamin kulcsfontosságú az immunrendszer (született vagy adaptív) számára, de számos légúti és szisztémás fertőzés megelőzésében és kezelésében is [3].

Segít fenntartani a vérnyomást, és összefüggésbe hozható a rák és a szív- és érrendszeri betegségek megelőzésével [1, 4]. Pozitív hatással van a cukorbetegség, a közönséges megfázás, a szélütés és a vérszegénység gyógyítására is [5]. A legújabb kutatások feltárták szerepét a géntranszkripció és a sejtjelátviteli útvonalak szabályozásában [3].

Az emberi szervezet nem képes előállítani a minimálisan szükséges napi 110 mg-os mennyiséget férfiaknál, illetve 78 mg C-vitamint nőknél [1]. Ezért a bevitelét külső forrásból kell biztosítani, például megfelelő táplálékkal vagy étrend-kiegészítőkkel. Ellenkező esetben, hiánya skorbuthoz vagy más súlyos, akár halálos betegséghez is vezethet [3]. A C-vitamin-hiány gyakori probléma a világ bizonyos területein, különösen az alacsony és közepes jövedelmű országokban, de nem ritka a magas jövedelmű régiókban sem [6]. Mivel a C-vitamin felszívódása az emésztőrendszerben körülbelül 80%-os egy napi például 100 mg-os bevitel mellett, a C-vitaminban gazdag étrend kiemelten fontos még akkor is, ha az emberi szervezet nem tud 2,5 g-nál többet felvenni/raktározni (a részleges oxidációja miatt két metabolitát: az aktív dehidro-aszkorbinsavvá és az inaktív oxálsavvá) [4, 7].

A C-vitamin fő természetes forrásai a gyümölcsök (például bogyók, papaja, kivi, citrusfélék, őszibarack, alma vagy körte), zöldségek (például kelbimbó, karfiol, káposzta vagy édes paprika), egyes fűszernövények (például petrezselyem vagy sóska) és a leveik. Mindez beépíthető egy gyors ütemű életmódba [1, 4].

Egyes környezeti tényezők, mint például a levegőnek, fénynek vagy hőnek való kitettség, nem megfelelő tárolási körülmények vagy különféle élelmiszer-feldolgozási eljárások csökkenthetik e termékek AS-tartalmát [5, 8]. Ezért a piac ma-

napság számos C-vitaminnal dúsított gyümölcs-italokat és/vagy kiegészítőket kínál [9, 10]. Az aszkorbinsavat az élelmiszer-kémia E300 élelmiszer-adalékanyagként azonosítja, és gyakran használják tartósítószerként és/vagy antioxidánsként is.

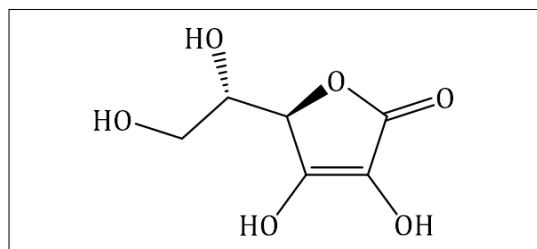
Emiatt ezeknek az aszkorbinsavforrásoknak a tápanyag- és bioaktív tartalmáról való pontos információ elengedhetetlen az egészségügyi előnyök megértéséhez. Ennek eredményeként bőséges tudományos irodalom áll rendelkezésre, amely részletes információkat tartalmaz a természetes és szintetikus C-vitamin-források teljes AS-tartalmának kimutatására és értékelésére szolgáló módszerekről.

1.2. Az aszkorbinsav-tartalom meghatározásának módszerei

A C-vitamin, az aszkorbinsav biológiailag aktív L-enantiomerjének szerkezeti képlete az 1. ábrán látható. Tartalmát különböző mintákban általában mint összeszkorbinsav-koncentrációt fejezik ki. Ez az L és D enantiomerek racém keverékének felel meg.

Számos módszert javasoltak a teljes AS-tartalom mennyiségi meghatározására. A klasszikus és olcsó megközelítés az oxidáló oldatokkal történő titráción alapul. Más technikák közé tartoznak a színreakciók (például 2,6-diklór-fenol-indofenollal), az UV-VIS spektrofotometria, a nagy teljesítményű folyadékkromatográfia, a kapilláris elektroforézis, a kemilumineszcencia, a fluorimetria, amperometria és különböző enzimatiszus módszerek, mindegyik a maga előnyeivel és hátrányaival [1, 11, 12, 13].

A titrimetriás módszerek egyszerűségük, költséghatékonyságuk és gyorsaságuk miatt előnyösek nagyszámú minta elemzésére. Színes minták esetén azonban a végpontérzékelés nehézkes lehet. A nagy teljesítményű folyadékkromatográfia a legpontosabb módszer az aszkorbinsav mennyiségi meghatározására, de magasan képzett laboratóriumi szakértelmet és költséges beren-



1. ábra. A C-vitamin szerkezeti képlete

dezéseket igényel. Az elektroforézis és a kemilumineszcencia viszonylag olcsóbb alternatívák, de érzékenységük kisebb. A fluorimetria és voltammetria gyors eredményeket ad, ugyanakkor speciális műszerezést és precíz kalibrálást igényel [1, 14].

A felsorolt eljárások közül a legegyszerűbb és legköltséghatékonyabb a titrálás. Egyszerre precíz és pontos, mivel olyan eredményeket hoz létre, amelyek összehasonlíthatók a kifinomultabb spektrofotometriai és kromatográfiás módszerekkel. Ha automatikusan és/vagy friss mintákon hajtjuk végre, a mintákban lévő aszkorbinsav levegő által indukált oxidációja elkerülhető, vagy legalábbis minimalizálható [10].

Az AS-tartalom gyakran összefügg egy bizonyos élelmiszer minta antioxidáns-kapacitásával. Mivel az AS redukálószer, reagálhat mindenféle oxidáló anyaggal vagy szabadgyökökkel [15]. Az élelmiszeriparban a 2,2'-azino-bis(3-etil-benzotiazolin-6-szulfonsavat) – rövidítve ABTS – használják a leggyakrabban a különböző termékek antioxidáns-kapacitásának felmérésére.

A jelen dolgozat egyik célja a romániai piacon jelen lévő különféle italok összeszkorbinsav-tartalmának meghatározása volt. Ezek a következő kategóriákba tartoztak: hidegen sajtolt és cukorral tartósított szirupok, frissen facsart gyümölcslevek, szénsavas üdítőitalok, pasztőrözött gyümölcslevek, alkoholos italok. Néhány méz- és olajmintát is figyelembe vettünk.

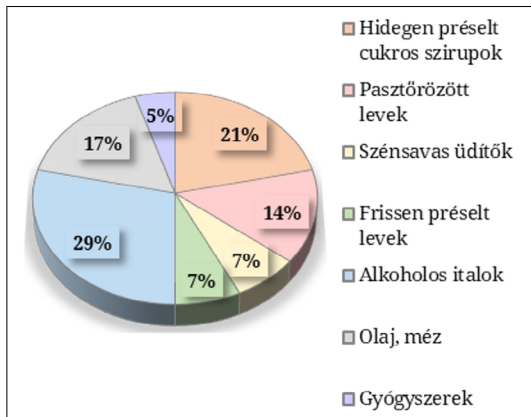
További célunk volt ezen termékek összantioxidáns-tartalmának kifejezése, valamint az AS-koncentrációjukkal való összefüggés meghatározása.

2. Kísérleti eljárások leírása

2.1. Vegyszerek, berendezések és minták

Kereskedelmi forrásból (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) származó analitikai tisztaságú vegyszereket használtunk. Ionmentesített vízzel (HydroPure 300, MultiLab, Bukarest, Románia) a következő oldatokat állítottuk elő: 10^{-3} mol/L ABTS, 10^{-2} mol/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 10^{-2} mol/L KI, 1.05×10^{-2} mol/L KIO_3 , 0.5 mol/L HCl, 4.73×10^{-3} mol/L I_2/KI , illetve 2%-os keményítőt. Minden egyes kísérletsorozat előtt frissen készítettük a különböző koncentrációjú aszkorbinsav, valamint a nátrium-tioszulfát oldatokat.

A kísérletek során szabványos laboratóriumi üvegedényeket és eszközöket (Labbox, Labware, Bukarest, Románia) használtunk: poharakat, lombikokat, Schelbach-vonalas bürettákat, illetve állítható térfogatú mikropipettákat. Egy KERN



2. ábra. A vizsgált élelmiszer minták csoportjai

laboratóriumi mérleget (SC. Driatheli Group SRL, Kern, Győröd, Románia hivatalos partnere) és egy VIS V-1100, egycsatornás spektrofotométert (DLAB, AMEX-lab, Bukarest, Románia) is alkalmaztunk. Ez utóbbit egy dedikált szoftverrel (M.Wave Professional) működtettük. A fotometriai méréseket egy 1 cm-es optikai üvegküvetében végeztük. A kapott adatok statisztikai feldolgozása a Microsoft Office Excel dedikált eszközeivel történt.

Összesen 41 élelmiszer mintát vizsgáltunk meg. Ezek 5 kategóriába sorolhatók, ahogyan azt a 2. ábra is szemlélteti. A minták a román piacról, kereskedelmi és egyéni termelőktől kerültek begyűjtésre. 9 db hidegen sajtolt gyümölcszörp (tartósításhoz hozzáadott cukorral), 6 db pasztőrözött zöldség- vagy gyümölcslé, 3 db szénsavas üdítő, 3 db frissen facsart gyümölcslé, 11 db alkoholos ital, 5 db hidegen sajtolt olaj, ill. kétféle méz minta lett elemezve.

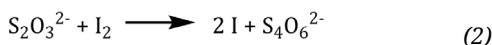
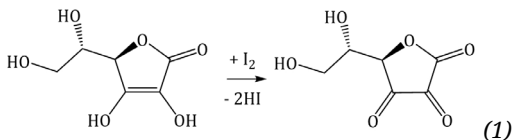
Az alkalmazott módszerek validálására két, standardizált és ismert aszkorbinsav-tartalmú, kereskedelmi forgalomban kapható gyógyszerkészítményt használtunk: Aspirin Plus C (240 mg AS-tartalom) és Redoxon (1000 mg AS-tartalom) pezsgőtablettát, mindkettőt a Bayer Bitterfeld GmbH-tól (Greppin, Németország).

2.2. Kísérleti módszerek

Az összeszkorbinsav-tartalom meghatározása titrimetriás módszerrel történt. Ezek az aszkorbinsav jóddal dehidroaszkorbinsavvá történő oxidációján alapulnak – lásd az (1)-es reakciót. A jóddal (I_2) közvetlenül hozzáadható a mintákhoz – „1. Jodometria” vagy in situ előállítható savas közegben, a jodid/jodát (I^-/IO_3^-) redoxpár segítségével –, lásd a (3)-as reakciót, a „2. Jodometria” esetén.

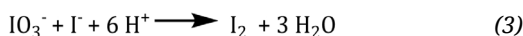
Az összantioxidáns-aktivitás meghatározása azon alapul, hogy a mintában lévő antioxidánsok képesek-e reagálni a zöldeskék ABTS-sel (szinteleníteni a vizsgált mintát). Ennek a folyamatnak a mértéke fotometriásan lett követve, 735 nm hullámhosszon.

2.2.1. Az aszkorbinsav-tartalom titrimetriás meghatározása



1. Jodometria: Az eljárás a folyékony mintához jódfelesleg hozzáadásával kezdődik. Az I_2 -felesleg miatt a minta megőrzi a jódtól jellegzetes barna színét. A mintában jelenlévő aszkorbinsav a jódot jóddá redukálja. A maradék jódot nátrium-tioszulfáttal (vissza)titráljuk keményítő jelenlétében – lásd a (2)-es reakciót [14, 15]. A titrálás során a minta halványasárgává, majd néhány csepp keményítő hozzáadásával kékes-indigóvá válik. A végpontot akkor érjük el, amikor a minta visszanyeri eredeti színét, vagy szintelenné válik (például szintetikus AS szintelen oldatok esetén). Ennek a módszernek az az előnye, hogy a minta teljes aszkorbinsav-mennyiségét a kívánt módon (jóddal) sikerül oxidálni, nem pedig más reakcióutakon (például a levegőtől a folyékony mintába oldott oxigén által). Ráadásul a módszer rendkívül egyszerű és költséghatékony.

2. Jodometria: Egy másik titrimetriás módszer in situ jódtermelést foglal magában. A folyékony mintához kálium-jodidot (KI), sósavat (HCl) és keményítőt adunk. Továbbá kálium-jodáttal (KIO_3) titráljuk. Ez a (3)-as reakciónak megfelelően jódot (I_2) hoz létre, amely azonnal reagál a mintában lévő AS-val – lásd az (1)-es reakciót. Amíg az AS jelen van, a minta színe változatlan marad. A végpontot akkor érjük el, amikor az összes AS elfogy, a I_2 felhalmozódik, és ezáltal megváltozik a minta színe (például szintelenről sötétkékre). Mivel a titrálás előrehaladása során jódt keletkezik, az (1)-es reakció az AS oldott oxigén oxidációjával versenghet. Ez befolyásolhatja az eredményeket [7, 14].



A különféle italokat és az olajokat 5 és 50 ml közötti térfogatú mintákban elemeztük. A méz

esetében 2 g-ot 10 ml vízben oldottunk fel, és a kapott oldatot vetettük alá vizsgálásnak. A gyógyszer-pezsőtablettákat 250 ml-es mérőlombokban vízben oldottuk, és a kapott oldatot titráltuk. Minden titrálást hármas ismétlésben végeztünk el.

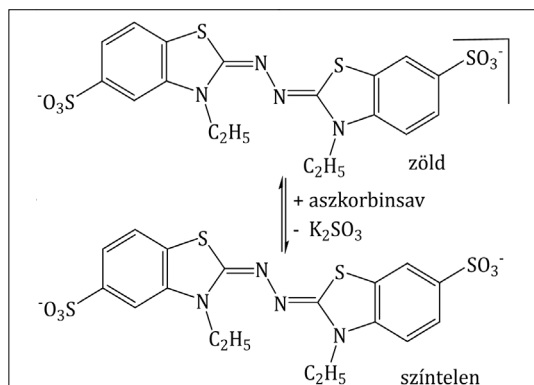
Az eredményszámítás a minta és a titráló térfogatát, valamint a használt oldatok koncentrációját vette figyelembe. Az eredményeket mg/L aszkorbinsavban fejeztük ki, kivéve a mézet, ahol mg/100g termékben adtuk meg.

2.2.2. Az összantioxidáns-aktivitás fotometriai meghatározása

A 2,2'-azino-bisz (3-etil-benzotiazolin-6-szulfon-sav), röviden ABTS, egy vízben jól oldódó vegyület [16]. Zöldeskék színű, és az abszorbancia maximuma 735 nm-nél mutatkozik (lásd a 8. ábrát). A mintához adva egy része reakcióba lép ennek redukáló anyagaival ([17, 18]), és a minta színintenzitásának értéke (abszorbanciája) csökkenni fog. Az abszorbanciák különbsége egy kalibrációs egyenlet segítségével korrelálható az összantioxidáns-aktivitással. Az itt bemutatott esetben a kalibrálást úgy végeztük el, hogy azonos mennyiségű ABTS-t reagáltatunk különböző mennyiségű AS-val, a 3. ábrán bemutatott reakcióeséma szerint.

A módszer frissen készített/hígított aszkorbinsav-oldatokat, valamint az alkalmazott folyékony élelmiszerminták többszörös és akár 5000-szeres hígítását igényelte.

A kalibrálást és a minták elemzését hármas ismétlésben végeztünk. Az eredmények számítása figyelembe vette a minta térfogatát, a hígítási együtthatókat, valamint a 735 nm-es abszorbanciakülönbségeket az aszkorbinsav-koncentráció függvényében. Az eredményeket mg/L ekvivalens aszkorbinsav-tartalomban adtuk meg.



3. ábra. Az ABTS-gyök és az aszkorbinsav közötti reakció vázlata [19]

3. Az eredmények kiértékelése

3.1. Az ekvivalenciapont meghatározása a titrimetriás módszereknél

Mindkét alkalmazott jodometriás módszerben a végpont (ekvivalenciapont) meghatározása színváltozásokon alapul. Ha szintelen mintát vagy szintetikus AS-oldatot használunk, az „1. Jodometria” esetében az indigókékéről a szintelenre való áttérés figyelhető meg. A 4. ábra szemlélteti a színváltozások sorrendjét egy vizes jóddal (A) tioszulfáttal végzett klasszikus titrálás során. Először sárgává válik (B); néhány csepp keményítő hozzáadása után a szín mélykékre változik (C); majd a titrálás befejeztével szintelenné válik (D).

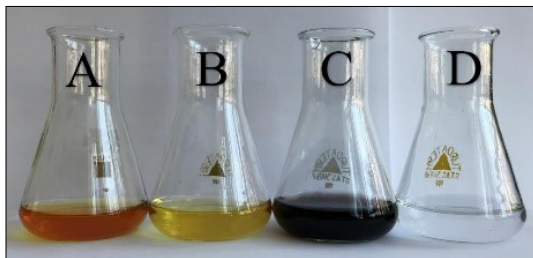
Másrészt, a színes folyékony állagú élelmiszer-minták (például gyümölcslevek) elemzése a végpont helyes kimutatásához színösszehasonlítást igényel a minta eredeti színével. Az 5. ábra a 4. ábrához hasonló sorozatot mutat be, de egy vöröses céklalé esetében (B). Jóddal (A) és keményítővel keverve, intenzív sötét színeket hoz létre, mint a (C) és (D) lombikokban. A titrálás végpontját (E) akkor érjük el, amikor a céklalé eredeti színét (B) megkapjuk.

A „2. Jodometria” esetében a szintetikus AS-oldat szintelenről mélykékre változik, amikor a KIO_3 -titrálásnál a végpontot elérjük. A módszer jól működik szintelen vagy világos színű minták esetén. Viszont a vörös, kék vagy intenzív színű élelmiszer-minták esetében a végpontfelismerés nehéznek bizonyul, mivel semmi vagy csak csekély színváltozás észlelhető.

A 6. ábra egy házi készítésű vörösbortitrálására vonatkozó kísérletet szemlélteti. Nyilvánvaló, hogy maga a minta (baloldalt) majdnem ugyanolyan színű, mint a titrálás végpontjánál kapott szín (jobbaldalt). A módszer másik hátránya, hogy bár ezeket a titrálásokat savas közegben végeztük, a megfelelő kémiai reakciók meglehetősen lassúak, ezért a színfejlődés szobahőmérsékleten néha akár 8 percig is tart.

Ennek eredményeként az „1. Jodometria” megbízhatóbb és reprodukálhatóbb eredményeket szolgál. Mindazonáltal mindkét megközelítést két, ismert AS-tartalmú kereskedelmi gyógyszerészeti termékkel teszteltük. Az eredményeket az 1. táblázat foglalja össze.

Az eltérések kis értékei azt igazolják, hogy mindkét titrimetriás módszer precíz adatokat generál, de a „2. Jodometria” és a Redoxon tabletta esetében nem feltétlenül pontosakat (valószínűleg a Redoxon intenzív narancssárga színe okozta a hibás végpontdetektálást).



4. ábra. Végpontérzékelés. Színváltoztatási sorrend a jódtioszulfáttal való titrálásánál – „1. Jodometria”



5. ábra. Végpontérzékelés. Színváltoztatási sorrend jódtioszulfáttal történő visszatitrálásához vöröses színű céklalében – „1. Jodometria”



6. ábra. Végpontérzékelés. A házi készítésű eredeti vörösbormintának (baloldalt) és a titrált megfelelőjének (jobbaldalt) hasonló színeinek bemutatása – „2. Jodometria”

1. táblázat. Az alkalmazott kísérleti módszerek validálása során kapott értékek.

Módszer	Redoxon	Aspirin Plus C
	Visszakapott (%)	
1. Jodometria	99.99 ± 0.73	99.43 ± 3.53
2. Jodometria	74.71 ± 0.33	99.00 ± 0.00
Fotometria	113.97 ± 32.56	96.69 ± 14.11

Az Aspirin Plus C tabletta szintelen vizes oldatot hoz létre, így a helyes végpont kimutatásának nincs akadálya.

Ezzel szemben az „1. Jodometria” mindkét vizsgált terméknel nagyon jó értékeket mutatott, pontosnak és precíznek bizonyult. Emiatt választottuk az összeszorkorbinsav-tartalom meghatározására mindegyik figyelembe vett minta esetén.

3.2. A vizsgált minták összeszorbinsav-tartalma

A 2.1. pontban bemutatott 41 élelmiszer minta összeszorbinsav-tartalmát a 2.2.1. pontban leírt „1. Jodometria” módszer segítségével határoztuk meg. Az eredményeket a **7. ábra** mutatja be mg/L-ben kifejezve (C_{AA} -értékek). Minden szín a minták egy bizonyos osztályának felel meg.

A frissen facsart gyümölcslevek (IV) a legmagasabb aszorbinsav-tartalommal rendelkeznek, körülbelül 500 mg/L-rel. Ez összhangban van az irodalmi adatokkal, amelyek szerint a narancslé a tárolás során megőrzi bioaktív vegyületeit. A friss narancslé C-vitamin-tartalma a megfelelő, modern ipari feldolgozási technikáknak köszönhetően a kereskedelmi forgalomban lévőkéhez hasonlítható [8].

A hidegen sajtolt, cukorral tartósított szirupok közül (I. osztály) a málna tartalmazza a legtöbb AS-t. Ezt követi a fenyőbimbó, a fekete ribizli és a homoktövis. A pasztőrözött gyümölcslevek kategórián belül (II) a cékla és az almale bizonyult a legjobbnak. Ezzel szemben a szőlő- és káposztalé kevesebb AS-t mutat, de még mindig hasonló az I. mintakategóriával.

A szénsavas üdítőitalokban (III) található AS-t általában a gyártási folyamat során adják hozzá. Például a bodza-citrommal ízesített „Biborfeni” ital címkéjén 200 mg/L AS szerepel. Ennek ellenére a vizsgálat folyamán visszanyert érték ennek körülbelül csak a 65%-a.

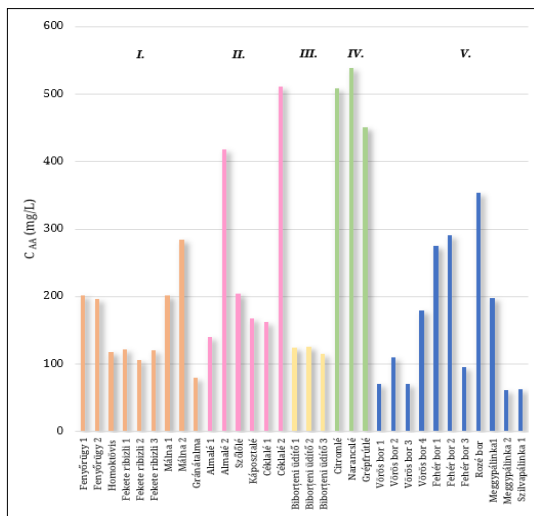
Egyes alkoholos italok (V) AS-ban gazdagabbnak bizonyulnak, mint az I. osztályú gyümölcslevek (például néhány bor, különösen a rozé). Az egyik cseresznyepálinka is magas AS-tartalommal rendelkezik, valószínűleg azért, mert nagyon érett gyümölcsből, hideg alkoholos extrakció által készült. Ezzel szemben a szilvapálinka elkészítése lepárlást igényel; ezért a gyümölcsökben lévő aszorbinsav lebomlik hőkezelés közben.

Hangsúlyozni kell, hogy **7. ábra** adatai pont ezt a mintakészletet jellemzik. Így a C_{AA} -értékek ingadozása, valamint a fordított sorrend is lehetséges, a gyümölcsök és zöldségek fajtájától, betakarítási évszaktól és helyétől függően. Az adatok azonban azt bizonyítják, hogy a frissen facsart gyümölcslevek mellett, a pasztőrözött termékek és a hidegen sajtolt szirupok is értékes C-vitamin-forrást jelentenek a modern emberi táplálkozásban.

Az AS-tartalom meghatározásnak alávetett élelmiszer minták között 5 db hidegsajtoltással nyert olaj is szerepelt. Ezeknél is a „1. Jodometria”-módszer alkalmaztuk a szokásos módon. Emiatt az

eredményeket másként kell értelmezni. Az olajok nem keverednek a vizes reagens oldatokkal. Mégis, mivel az aszorbinsav vízben oldódik, bizonyos mértékig az olajosból a vizes fázisba extrahálódik (a keverékeket 10 percig ultrahanggal is kevertettük). Ennélfogva a **2. táblázat**ban szereplő eredmények az egyes olajminták AS-tartalmának csak részértékeit mutatják be. Mégis, azt bizonyítják, hogy a hidegsajtoltással nyert olajok jó C-vitamin források a táplálkozásban (az értékek hasonlóak vagy magasabbak, mint a **7. ábrán** szereplő legjobb adatok).

A **3. táblázat** kétféle mérre mutatja be az eredményeket: az egyik a hosszabb tárolás miatt már kikristályosodott, a másik friss és folyékony. Vizes oldataikat az „1. Jodometriá”-nak vetettük alá, és a kapott C_{AA} -értékek nem mutattak szignifikáns eltérést. Így a méz még egyéves tárolás alatt is érintetlenül megőrzi C-vitamin tartalmát.



7. ábra. Összeszorbinsav-tartalom: I. hidegen sajtolt cukorral tartósított szirupok; II. pasztőrözött gyümölcslevek; III. szénsavas üdítőitalok; IV. frissen facsart gyümölcslevek; V. alkoholtartalmú italok

2. táblázat. Hidegen sajtolt olajok részleges aszorbinsav-tartalma.

Minta	C_{AA} (mg/L)
Dióolaj	535,6
Mákolaj	667,7
Szőlőmagolaj	858,5
Szezám-magolaj	271,5
Tökmagolaj	584,2

3. táblázat. A mézminták aszkorbinsav-tartalma

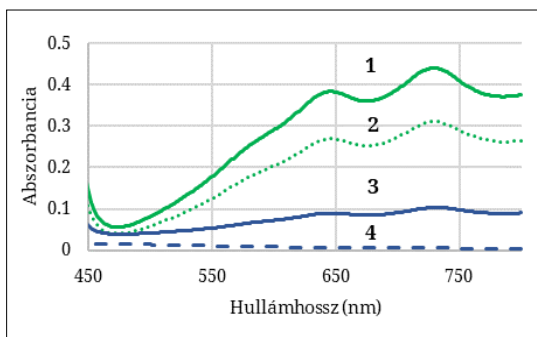
Minta	C _{AA} (mg/100g)
Méz 1 (szilárd, kikristályosodott a hosszú tárolás során)	42,9±18,0
Méz 2 (friss, folyékony)	65,3±11,8

A fenti adatok egybevágnak a helyi gyártmányra vonatkozó egyéb megállapításokkal: a romániai akácméz AS-értéke 77–99 mg/100g [20], az erdélyi vegyes virágméz pedig körülbelül 61 mg/100g AS-t tartalmaz [21]. Egy másik tanulmány megemlíti, hogy a méz aszkorbinsav-tartalma általában $0,34 \pm 0,00$ és $75,8 \pm 0,41$ mg/100 g között van [22]. Így a 3. táblázatban bemutatott eredmények reálisak, összhangban állnak más közölt adatokkal, és ismét igazolják, hogy a kiválasztott módszer hatékony a különböző élelmiszerminták aszkorbinsav-tartalmának meghatározásában, amennyiben azok vizes oldatban vagy folyékony állagban kivizsgálhatóak.

3.3. A vizsgált minták összantioxidáns-aktivitása

A 8. ábra szemlélteti az ABTS molekuláris abszorpciaspektrumát vizes oldatban – lásd az 1. görbét. 735 nm-en mutat maximumot. Ezen a hullámhosszon a kísérleti Lambert–Beer-egyenest merekségéből határoztuk meg a 7484 ± 753 L/mol·cm moláris abszortív együtthatót (5 ABTS-koncentráció, hármas ismétlés; korrelációs együttható 0,9945).

$$\Delta A_{735} = (1,57 \pm 1,48) \cdot 10^{-2} + (29642 \pm 2754,18) \cdot [AA] \quad (4)$$



8. ábra. Moláris abszorpciaspektrumok az alábbiakhoz: 1. $5 \cdot 10^{-5}$ mol/L ABTS vizes oldat; 2. az 1. oldat, amely $3 \cdot 10^{-6}$ mol/L AS-t tartalmaz; 3. egy 500-szoros hígítású feketeribizli-szirup, amely $5 \cdot 10^{-5}$ mol/L ABTS-t tartalmaz; 4. egy 500-szorosra hígított feketeribizli-szirup

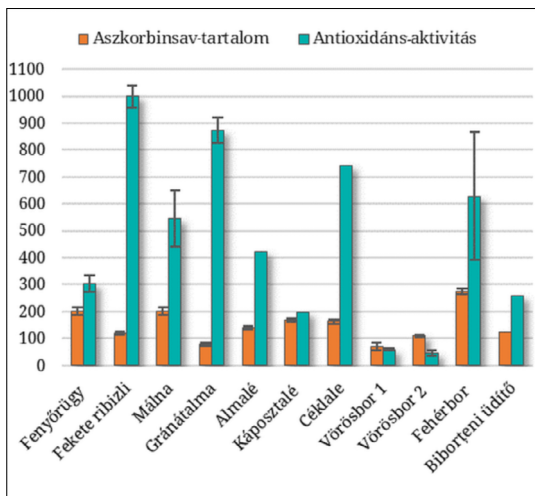
Az 1. görbe $5 \cdot 10^{-5}$ mol/L ABTS-koncentrációnak felel meg, míg a 2. görbe azonos mennyiségű ABTS-t de $3 \cdot 10^{-6}$ mol/L AS-t is tartalmaz. A 3. ábrán bemutatott reakció miatt sztöchiometrikus mennyiségű ABTS fogy el, és a keverék abszorbanciája csökken. Ezért különböző AS-tartalmak ($7,5 \cdot 10^{-6}$ mol/L-ig) felhasználásával a (4) kalibrációs egyenest olyan eltérésekből kaptuk, mint az 1. és 2. görbe közötti különbség. Ez az összantioxidáns-aktivitást mint egy aszkorbinsav-tartalmat fejezi ki, és mint ilyen, magasabbnak kell lennie, mint a megfelelő minták tiszta AS-tartalma.

A (4) kalibrációs egyenlet korrelációs együtthatója 0,9834, és 7 különböző AS moláris koncentrációval, de állandó $5 \cdot 10^{-5}$ mol/L ABTS-sel, hármas ismétlésű mérési sorozaton alapul.

Folyékony élelmiszerminták esetén ugyanannyi ABTS-t adunk hozzá, és a 735 nm-es abszorbanciaértéket összehasonlítjuk az 1. görbe értékével. A mintákat úgy kell hígítani, hogy spektrumaik az 1. görbe spektruma alatt legyenek. A 8. ábrán a 3. görbe ennek az eljárásnak a példáját mutatja, 500-szoros hígítású feketeribizli-szirupra. Az antioxidáns-kapacitást ezután az 1. és 3. görbe közötti abszorbanciakülönbségekből (ΔA_{735}) fejezzük ki a (4) egyenlet segítségével. A feketeribizli-szirup azonos hígítása bizonyítottan elhanyagolható abszorbanciaértékekkel rendelkezik – lásd a 4. görbét. Így a 3. görbe, hasonlóan a 2. görbéhez, csak az el nem reagált ABTS-tartalomnak köszönhető.

Ezt a módszert a Redoxon és Aspirin Plus C tabletták vizes oldatainál is alkalmaztuk. Az eredményeket az 1. táblázat utolsó sorában mutatjuk be. Az AS jó visszanyerési értéke az Aspirin Plus C esetében összhangban van azzal a ténnyel, hogy egyetlen antioxidáns-fajtája az aszkorbinsav. Ezel szemben a Redoxon tabletták esetében a visszanyerések meghaladták a 100%-ot. Ez a megállapítás összhangban van az irodalmi adatokkal [23], és valószínűleg annak köszönhető, hogy a készítményben más antioxidánsfajok is jelen vannak.

A 9. ábra zöldeskék színnel szemlélteti az ilyen meghatározások eredményeit, mg/L AS-ban kifejezve, a 2.1. szakaszban leírt minták közül 11 véletlenszerűen kiválasztott italra. Megfigyelhető, hogy a feltételezéseknek megfelelően az összantioxidáns-aktivitás általában magasabb, mint a narancssárga színnel ábrázolt aszkorbinsav-tartalom. Tehát nem egyszerűen az AS-nek köszönhető, ami tovább bizonyítja, hogy az ilyen italok értékes tápanyagforrások lehetnek. A gyümölcsök és zöldségek, amelyekből készülnek, különféle flavonoidokat és antocianinokat tartalmaznak,



9. ábra. Összehasonlítás az összeszkorbinsav-tartalom és az antioxidáns-aktivitás között. Mindkettőt mg/L AS-ban fejeztük ki

amelyek a kívánt antioxidáns-tulajdonságokkal rendelkeznek.

A 9. ábrán látható eredmények a megfelelő hibasávokkal együtt láthatók. Nyilvánvaló, hogy az alkalmazott titrimetriás módszer precíz, pontos és reprodukálható, mivel a három különböző mérésen alapuló relatív szórás- (RSD) értékek 0,66% és 9,89% között mozognak. Ezzel szemben az antioxidáns-aktivitási RSD-értékek gyengébbek, 10,51% és 37,88% között mozognak. Ez az alacsonyabb pontosság vagy a több egymást követő, de szükséges hígítási lépés során bekövetkező hiba terjedésének, vagy egyes minták színének köszönhető. Az utóbbi nullától eltérő abszorbanciát jelent 735 nm hullámhosszon.

4. Következtetések

A modern élet gyors ütemében a könnyű és elegendő C-vitamin-bevitel nagy jelentőséggel bír az emberi táplálkozás szempontjából. Ezért a gyors, megbízható és költséghatékony meghatározása mindenféle élelmiszermintából folyamatos kihívást jelent.

A jelen dolgozatban összesen 41 élelmiszermin-tán, főként könnyen fogyasztható italokon végez-tünk összeszkorbinsav-tartalom meghatározást. Két egyszerű és költséghatékony titrimetriás módszert alkalmaztunk, mindkettő az AS jóddal történő oxidációján alapult. A kezelt minta I_2 -feleslegének visszatitrálását alkalmazó módszer bizonyult megbízhatónak és reprodukálhatónak, könnyű ekvivalenciapont felismeréssel. Az eredmények megegyeztek más jelentésekkel, például

a frissen facsart narancslére vagy a mézre vonatkozókkal. A különböző hidegen sajtolt olajoknál csak részleges eredményeket lehetett elérni, de ezek magas tápértéke még így is bebizonyosodott.

Egyes italok esetében az aszkorbinsav-tartalom-ban kifejezett összantioxidáns-aktivitást egyszerű fotometriás módszerrel határoztuk meg. Ha nem is olyan precízen, mint a fent említett titrimetriás technika, az eljárás jó eredményeket mutatott, és ismét igazolta egyes elemzett termékek tápértékét.

Mindkét kísérleti technikát 2, kereskedelmi fo-rgalomban kapható, ismert aszkorbinsav-koncent-rációjú gyógyszerkészítmény jó AS-visszanyerési arányával igazoltuk.

Köszönetnyilvánítás

Jelen munka az Erdélyi Múzeum-Egyesület (Kolozs-vár, Románia) anyagi támogatásával valósult meg, a 433.6/2021 számú külső kutatási projekt keretében.

Szakirodalmi hivatkozások

- [1] López-Pastor J. A., Martínez-Sánchez A., Aznar-Poveda J., García-Sánchez A.-J., García-Haro J., Aguayo E.: *Quick and Cost-Effective Estimation of Vitamin C in Multifruit Juices Using Voltammetric Methods*. Sensors, 20. (2020) 676. <https://doi.org/10.3390/nano12040645>.
- [2] Lovander M. D., Lyon J. D., Parr D. L., Wang J., Parke B., Leddy J.: *Review—Electrochemical Properties of 13 Vitamins: A Critical Review and Assessment*. Journal of The Electrochemical Society, 165. (2018) (2) G18-G49. <https://doi.org/10.1149/2.1441704jes>
- [3] Carr A. C., Maggini S.: *Vitamin C and Immune Function*. Nutrients, 9. (2017) 1211. <https://doi.org/10.3390/nu9111211>
- [4] EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies): *Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin C*. EFSA Journal, 11. (2013) 3418. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3418>
- [5] Feszterová M., Mišiakova M., Kowalska M.: *Bioactive Vitamin C Content from Natural Selected Fruit Juices*. Applied Sciences, 13. (2023) 3624. <https://doi.org/10.3390/app13063624>
- [6] Rowe S., Car A. C.: *Global Vitamin C Status and Prevalence of Deficiency: A Cause for Concern?* Nutrients, 12. (2020) 2008. <https://doi.org/10.3390/nu12072008>
- [7] Trifunski S., Zugravu C. A., Munteanu M. F.; Borcan F.; Pogurschi E. N.: *Determination of the Ascorbic Acid Content and the Antioxidant Activity of Different Varieties of Vegetables Consumed in Romania, from Farmers and Supermarkets*. Sustainability, 14. (2022) 13749. <https://doi.org/10.3390/su142113749>

- [8] Salara F. J., Sánchez-Bravo P., Menac P., Cámara M., García-Viguera C.: *Comparison of Vitamin C and Flavanones between Freshly Squeezed Orange Juices and Commercial 100% Orange Juices from Four European Countries*. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 75. (2024) 255–263.
<https://doi.org/10.1080/09637486.2024.2303034>
- [9] Cendrowski A., Królak M., Kalisz S.: *Polyphe-nols, L-Ascorbic Acid, and Antioxidant Activity in Wines from Rose Fruits (Rosa Rugosa)*. Molecules, 26. (2021) 25–61.
<https://doi.org/10.3390/molecules26092561>
- [10] Tantray A.K., Dar S.A., Ahmad S., Bhat S.A.: *Spectrophotometric and Titrimetric Analysis of Phytoascorbate*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6. (2017) 27–31.
- [11] Balogh T., Szarka A.: *A Comparative Study: Methods for the Determination of Ascorbic Acid in Small and Middle Sized Food Analytic Laboratories*. Acta Alimentaria, 45. (2016) 354–362.
<https://doi.org/10.1556/aalim.2015.0017>
- [12] Xu H., Cai Q., Nie Q., Qiao Z., Liu S., Li Z.: *Ultra-sensitive Determination of Ascorbic Acid by Using Cobalt Oxyhydroxide Nanosheets to Enhance the Chemiluminescence of the Luminol-H₂O₂ System*. Royal Society of Chemistry Advances, 8. (2018) 23720–23726.
<https://doi.org/10.1039/C8RA03528H>
- [13] Skrovankova S., Mlcek J., Sochor J., Baron M., Kynicky J., Jurikova T.: *Determination of Ascorbic Acid by Electrochemical Techniques and Other Methods*. International Journal of Electrochemical Science, 10. (2015) 2421–2431.
[https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)04857-5](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)04857-5)
- [14] Sharaa I. E., Mussa S. B.: *Determination of Vitamin C (Ascorbic Acid) Contents in Vegetable Samples by UV-Spectrophotometry and Redox Titration Methods and Estimation the Effect of Time, Cooking and Frozen on Ascorbic Acid Contents*. International Journal of Progressive Sciences and Technologies, 15. (2019) 281–293.
<https://doi.org/10.52155/ijpsat.v15.2.1144>
- [15] Griffiths H. R.: *Antioxidants: Characterization and Analysis, Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, Amsterdam, 2016. 221–226.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00037-4>
- [16] Alija D., Ziberi E., Xhabiri G., Idrizi X., Durmishii N., Ferati I.: *Control of Vitamin C (Ascorbic Acid) in Non-Alcoholic and Fresh Drinks*. In: UBT International Conference, Lambert Academic Publishing, Mauritius, 2017. 157.
<https://doi.org/10.33107/ubt-ic.2017.157>
- [17] Oroian M., Escriche I.: *Antioxidants: Characterization, Natural Sources, Extraction and Analysis*. Food Research International, 74. (2015) 10–36.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
- [18] Dong J.-W., Cai L., Xing Y., Yu J., Ding Z.-T.: *Re-Evaluation of ABTS•+ Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products*. Natural Product Communications, 10. (2015) 2169–2172.
<https://doi.org/10.1177/1934578X1501001239>
- [19] Kumar S., Krishna Chaitanya R., Preedy V. R.: *Assessment of Antioxidant Potential of Dietary Components*. In: HIV/AIDS: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants (Szerk.: Preedy V. R., Watson R. R.). Elsevier, London, 2017. 239–225.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809853-0.00020-1>
- [20] Al-Mosa A., Brima E. I., Fawy K. F., Ghrama H. A. A., Mohammed M. E. A.: *Antioxidant Vitamins in Honey Samples from Different Floral Origins and Altitudes in Asir Region at the South-Western Part of Saudi Arabia*. Current Nutrition & Food Science, 15. (2019) 296–304.
<https://doi.org/10.2174/1573401314666180606085841>
- [21] Dobrinás S., Matei N., Soceanu A., Birghila S., Popescu V.: *Estimation of Vitamin C and Cd, Cu, Pb Content in Honey and Propolis*. Scientific Study & Research, 7. (2006) 729–734.
- [22] Combarros-Fuertes P., Estevinho L. M., Dias L. G., Castro J. M., Tomás-Barberán F. A., Tornadijo M. E., Fresno-Baro J. M.: *Bioactive Components and Antioxidant and Antibacterial Activities of Different Varieties of Honey: A Screening Prior to Clinical Application*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67. (2019) 688–698.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05436>
- [23] Szoke A., Zsebe Z., Turdean G. L., Muresan L. M.: *Composite Electrode Material Based on Electrochemically Reduced Graphene Oxide and Gold Nanoparticles for Electrocatalytic Detection of Ascorbic Acid*. Electrocatalysis, 10. (2019) 573–583.
<https://doi.org/10.1007/s12678-019-00543-4>