



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 00356**

(22) Data de depozit: **23.04.2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28.02.2014** BOPI nr. **2/2014**

(41) Data publicării cererii:  
**28.10.2011** BOPI nr. **10/2011**

(73) Titular:  
• **UNIVERSITATEA DIN ORADEA,**  
*STR.UNIVERSITĂȚII NR.1, ORADEA, BH,*  
*RO*

(72) Inventatori:  
• **BUNGĂU SIMONA,**  
*STR. NICOLAE BELDICEANU NR.11,*  
*ORADEA, BH, RO;*  
• **GAVRIȘ GEORGETA,**  
*STR. STRUGURILOR NR.28, ORADEA, BH,*  
*RO;*  
• **CĂRĂBAN ALINA MARIA,**  
*STR. ALEXANDRU ODOBESCU NR.4,*  
*BL. PB 69, AP.18, ORADEA, BH, RO;*  
• **FODOR ALEXANDRINA, STR.SOFIEI**  
*NR.14C, ORADEA, BH, RO;*

• **PETREHELE ANDA IOANA GRAȚIELA,**  
*STR.ION HELIADE RĂDULESCU NR.11,*  
*ORADEA, BH, RO*

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**A.M.PISOSCHI ET AL., "ASCORBIC ACID DETERMINATION IN COMMERCIAL FRUIT JUICE SAMPLES BY CYCLIC VOLTAMMETRY", JOURNAL OF AUTOMATED METHODS AND MANAGEMENT IN CHEMISTRY, VOL. 2008, ARTICLE ID 937651, 8 PAGES;**  
**R.A.VERDINI, C.M.LAGIER, "VOLTAMMETRIC IODOMETRIC TITRATION OF ASCORBIC ACID WITH DEAD-STOP END-POINT DETECTION IN FRESH VEGETABLES AND FRUIT SAMPLES", J.AGRIC.FOOD CHEM., 48(7):2812-7, JUL., 2000; JP 6078795 A**

(54) **METODĂ DE DETERMINARE A ACIDULUI ASCORBIC DIN FRUCTE**



# RO 126744 B1

1           Invenția se referă la o metodă de determinare a acidului ascorbic din fructe,  
2           conținând acid ascorbic, întrucât vitamina C existând în natură sub două forme structurale:  
3           acidul ascorbic (5R)-5-[(S-1,2-dihidroxietil]-3,4-dihidroxi-2(5H)-furanonă și acidul dihidro-  
4           ascorbic, (acid L-treo-2,3-hexodiulosonic  $\gamma$ -lactonă), compuși biologic activi hidrosolubili, se  
5           pune problema determinării rapide și exacte a conținutului de vitamina C, în principal din  
6           fructe, în scopul folosirii acestora cu maximum de beneficii, stocării lor temporare și  
7           eficientizării biotehnologiilor de obținere a preparatelor naturale cu un conținut în vitamina  
8           C cât mai mare și corect determinat.

9           Se cunosc diferite metode și procedee de determinare a acidului ascorbic -vitamina  
10          C - din fructe: portocale, mandarine, măceșe, lămâi, grapefruit, kiwi, roșii, cum sunt metoda  
11          titrimetrică sau spectrofotometrică, aplicate unui conținut de acid ascorbic - vitamina C -  
12          cuprins în intervalul de concentrație 3 - 28 mg/100 g fruct.

13          Determinarea conținutului de acid ascorbic din fructe s-a realizat prin voltametrie  
14          ciclică cu electrod de Pt, când, la 490 mV apare picul reprezentativ al oxidării anodice a  
15          acidului ascorbic, iar dependența înălțimii picului de concentrația acidului ascorbic este  
16          liniară pentru domeniul 0,1-10 mmol/l (A. M. Pisoschi et al. **Ascorbic Acid Determination  
17          in Commercial Fruit Juice Samples by Cyclic Voltammetry, Journal of Automated  
18          Methods and Management in Chemistry, vol. 2008, Article ID 937651, 8 pag.**).

19          Determinarea acidului ascorbic din fructe și legume proaspete s-a realizat și printr-o  
20          tehnică combinată: titrimetrie-voltametrie, pentru o cantitate limitată de acid ascorbic, până  
21          la 0,1 mg pe probă, prin observarea punctului final "end-point" al titrării (Verdini RA, Lagier  
22          CM, **Volammetric iodometric titration of ascorbic acid with dead-stop end-point  
23          detection in fresh vegetables and fruit samples, J. Agric. Food Chem. 2000 Jul;  
24          48(7):2812-7**).

25          **JP 6078795 (A)** descrie o metodă pentru determinarea acidului ascorbic din lichide,  
26          corelată cu scăderea conținutului de oxigen dizolvat din probă, monitorizat cu un electrod  
27          sensibil de oxigen.

28          Dezavantajele metodelor cunoscute sunt legate de obținerea unor valori nu totdeauna  
29          relevante ale conținutului de acid ascorbic - vitamina C - prezentat în tabelele cu valori  
30          alimentare, deoarece zona de proveniență a materialului vegetal, condițiile meteorologice  
31          pe perioada de cultură sau perioada recoltării, condițiile de înmagazinare, timpul de păstrare  
32          până la realizarea determinărilor, modifică rezultatele conținutului de vitamină C în limite  
33          foarte largi, datele prezentate nefiind corecte.

34          Problema tehnică pe care o rezolvă invenția se referă la o metodă de determinare  
35          rapidă și exactă a conținutului de acid ascorbic-vitamina C din fructe denumită în continuare  
36          metoda „clock”, cu mijloace tehnice fiabile, sensibile, la o temperatură optimă de lucru ușor  
37          de menținut, uzuală pentru determinările analitice, aplicabilă și la determinarea altor  
38          substanțe de interes biochimic cum sunt vitaminele hidrosolubile și aminoacizii.

39          Metoda „clock” de determinarea conținutului de acid ascorbic - vitamina C - din fructe,  
40          conform invenției, înlătură dezavantajele de mai sus, prin aceea că determinarea cantitativă  
41          a conținutului de acid ascorbic - vitamina C - din fructe, constă în măsurarea timpului de  
42          consum al acidului ascorbic pe cale potențiometrică în sistemul de oxido-reducere: iodură  
43          de potasiu-apă oxigenată-acid ascorbic, sistem în care acidul ascorbic având rolul de agent  
44          de captare reacționează cu iodul după o cinetică și mecanism de reacție cunoscute ce  
45          permite măsurarea cu precizie a timpului de consum a acidului ascorbic cu un milivoltmetru  
46          în montaj potențiometric, până la consumul complet al acestuia din amestecul de reacție, în  
47          condiții optime determinate experimental, referitoare la aciditate,  $[H^+]_0 = 1,5 \cdot 10^{-3} M$ , la o

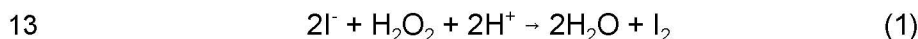
# RO 126744 B1

conversie convenabilă $X = 0,13$ , la concentrația optimă de reactant, iodura de potasiu, care este cu un ordin de mărime mai mare decât concentrația de apă oxigenată, la o temperatura optimă de lucru de 293K, la o forță ionică controlată dată de percloratul de potasiu în intervalul de concentrație $2,95 \times 10^{-2} - 9,35 \times 10^{-2}$ , pentru care timpul de consum al acidului ascorbic a fost același cu al probelor fără perclorat, cu o abatere relativă standard în limitele erorilor normale de 0,4%, realizându-se un grad de recuperare R, %, al acidului ascorbic de 99,3-101,0% pentru sortimentele de fructe și alimente analizate în condiții real convenabile, pentru care s-a trasat dreapta de calibrare a acidului ascorbic în domeniul $4 \times 10^{-5} \text{ M} - 1,6 \times 10^{-5} \text{ M}$ , conform recomandărilor IUPAC și s-a formulat ecuația dreptei prelucrate statistic, stabilind limita de detecție a acidului ascorbic la $8 \times 10^{-8} \text{ M}$ (14 $\mu\text{g/l}$ ) și limita de determinare: $10^{-7} \text{ M}$ (18 $\mu\text{g/l}$ ), iar pentru concentrația de $8 \times 10^{-5} \text{ M}$ acid ascorbic, prezența mai multor substanțe existente în fructe sau sucuri ca substanțe organice nu interfera măsurătorile, cu excepția cisteinei sau a ionilor de metale tranziționale Cu, Pb, Zn, Mo, Mn cu efect catalitic când determinările nu se pot efectua, fapt ce necesită fie trasarea dreptei de calibrare în prezența matricei complexe de ioni, fie mascarea lor cu agent de mascare EDTA $10^{-3} \text{ M}$ , pentru ioni de $\text{Cu}^{2+} 10^{-4} \text{ M}$ .	1 3 5 7 9 11 13 15
Prin aplicarea metodei conform invenției, se obțin următoarele avantaje:	17
- folosește mijloace tehnice simple, selective, fiabile, de sensibilitate adecvată;	
- timp scurt de lucru;	19
- reactivi ieftini, ușor de obținut;	
- temperatură optimă de lucru ușor de menținut, uzuală pentru determinări analitice;	21
- metoda „clock” se poate aplica și la determinarea conținutului de substanțe biologice active de interes biochimic: vitamine hidrosolubile și aminoacizi;	23
- metoda „clock” este o metodă rapidă, simplă și folosește aparatură comună;	
- măsurătorile au fost utilizate pentru elaborarea unei metode noi, metoda „clock”, de determinare a vitaminei C din: fructe proaspete (citrice, roșie, ardei), pseudofructe de măceș și produse farmaceutice care conțin acidul ascorbic ca substanță activă;	25 27
- noua metodă s-a folosit la un studiu statistic asupra conținutului în vitamina C a fructelor de <i>Capsicum annum</i> pentru a demonstra că tabelele cu valori alimentare care prezintă conținutul în acid ascorbic al unor fructe nu sunt întotdeauna relevante;	29
- dreptele de calibrare și măsurătorile de potențial pot fi realizate și punct cu punct, fără achiziție de date;	31
- metoda poate fi folosită la determinări ale acidului ascorbic din produse farmaceutice care nu au în componență compuși activi sau aditivi cu caracter reducător care ar putea perturba sistemul redox ales;	33 35
- sistemul redox ales corespunde necesităților de determinare a unor substanțe cu rol biologic din alimente și produse de uz farmaceutic;	37
- evoluția sistemului redox se poate urmări potențiometric sub control strict al condițiilor de reacție: temperatură, concentrația reactanților;	39
- prezența ionilor de metale tranziționale se poate înlătura utilizând un agent de mascare comun, cum este EDTA $10^{-3} \text{ M}$ , diferențele între rezultate fiind nesemnificative;	41
- performanțele analitice ale metodei: limită de detecție, eroare relativă standard pentru serii diferite în cadrul aceleiași determinări, s-au calculat și corespund recomandărilor IUPAC.	43
În continuare, invenția este descrisă în detaliu, cu referire și la fig. 1...8, care reprezintă:	45
- fig. 1, schema aparatului;	47
- fig. 2, dependența potențial în funcție de timp și maximul curbei derivate $dE/d_t = f(t)$ ;	

# RO 126744 B1

- 1 - fig. 3, influența acidității masei de reacție asupra vitezei de reacție;  
- fig. 4, influența acidității asupra vitezei de reacție în cazul  $[KI]_0 = 6 \times 10^{-4} \text{ M}$ ;  
3 - fig. 5, influența concentrației de iodură de potasiu asupra vitezei de reacție în cazul  $[H_2O_2]_0 = 6 \times 10^{-4} \text{ M}$ ;  
5 - fig. 6, influența forței ionice;  
- fig. 7, dreapta de calibrare pentru acidul ascorbic în condițiile prezentate la mod de  
7 lucru;

9 - fig. 8, comparație între valorile de timp obținute în prezența și absența EDTA.  
Metoda "clock" folosește un sistem de reacții redox de tip iodură de potasiu-apă  
oxigenată-acid ascorbic, în care acesta din urmă joacă rol de agent de captare. În mediu acid  
11 are loc reacția relativ lentă între  $H_2O_2$  și  $I^-$  cu formarea de  $I_2$ .

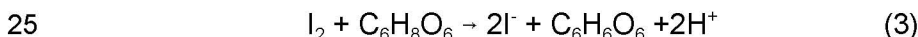


15 Cinetica și mecanismul acesteia sunt cunoscute, legea de viteză fiind

$$17 \quad - \frac{d[H_2O_2]}{dt} = k_1[H_2O_2][I^-] + k_2[H_2O_2][H^+][I^-] \quad (2)$$

21 mărimile constantelor de viteză la 25°C sunt:

23  $k_1 = 0,69 \pm 0,01 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$  și  $k_2 = 10,5 \pm 0,01 \text{ M}^{-2} \text{ min}^{-1}$ . Iodul rezultat este consumat  
pe măsură ce se formează de către acidul ascorbic.



27 Constanta de viteză caracteristică acestui proces este mare. Apariția iodului nu poate  
fi sesizată până la consumul complet al acidului ascorbic din amestecul de reacție.

29 Măsurarea timpului de consum a agentului de captare s-a făcut pe cale  
potențiomtrică, conform cu schema aparatului, din fig. 1.

31 Extragerea acidului ascorbic s-a făcut atât din fructe proaspete, cât și uscate  
(măceșe), cu ajutorul unei soluții de acid oxalic, solvent frecvent utilizat pentru vitamina C.  
33 Materialul vegetal l-au constituit fructele de *Rosa canina*, recoltate în perioada septembrie-  
octombrie 2001, selecționate manual, care au fost uscate natural, în condiții de laborator și  
35 măcinate. Fructele proaspete de citrice au fost analizate în ziua procurării lor.

Probele de acid ascorbic s-au obținut prin extracția din produsul vegetal cu soluție  
37 de acid oxalic. Pentru toate fructele analizate, mai puțin măceșul, se iau fructele și se obține  
un suc, prin stoarcere. 50 g pulpă de fruct se amestecă cu 30 ml acid oxalic 1% și se  
39 omogenizează agitând vasul din 10 în 10 min, timp de 2-3 s, fiind necesară o oră ca timp  
minim de contact. Apoi se filtrează prin frită Por 160, iar filtratul este centrifugat o oră la 4000  
41 rotații/minut, pentru a separa materiile solide, insolubile. În cazul măceșelor, fructele uscate  
mărunțite corespunzător se trec prin sită. 5 g de produs vegetal cernut se extrage succesiv  
43 de trei ori cu câte 10 ml acid oxalic 1% și apoi se procedează ca mai sus. Extractul obținut  
se aduce la balon cotat de 100 ml.

45 Fiecare amestec de reacție a avut un volum total de 25 ml. Ordinea adăugării  
soluțiilor în vasul de reacție, concentrațiile soluțiilor de bază și cele inițiale ale amestecului  
47 sunt prezentate în tabelul 1. Inițierea reacției s-a făcut prin injectarea rapidă a 0,5 ml soluție  
de apă oxigenată  $3 \cdot 10^{-10} \text{ M}$ , momentul zero al reacției definindu-se operațional ca fiind cel al  
49 injectării rapide a celor 0,5 ml soluție de apă oxigenată.

Componența amestecului de reacție în ordinea de adăugare

Specia chimică	Volum adăugat (ml)	Concentrația inițială în amestecul de reacție (mol/l)
KI 0,15 M	1	$6 \cdot 10^{-3}$
HClO <sub>4</sub> $3,75 \cdot 10^{-2}$ M	5	$7,5 \cdot 10^{-3}$
Acid ascorbic $2 \cdot 10^{-3}$ M	între 0,1 și 2,0	între $8 \cdot 10^{-6}$ și $1,6 \cdot 10^{-4}$
H <sub>2</sub> O	între 18,4 și 16,5	
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> $3 \cdot 10^{-2}$ M	0,5	$6 \dots 10^{-4}$

Evoluția concentrației de iodură s-a făcut prin măsurători potențiometrice. Electroful redox de măsură constă dintr-o plăcuță de Pt imersată în amestecul de reacție, iar cel de referință, unul de calomel saturat. Procesul s-a urmărit într-un vas termostatat prevăzut cu agitare continuă. Pentru înregistrarea curbelor potențial funcție de timp s-a utilizat un potențiomtru Digitronix DXP-2040 (Seiko) legat prin placa de achiziție de date la un calculator.

În condiții de exces de acid, grad de consum al apei oxigenate mic și datorită refacerii iodurii prin reducerea iodului în procesul (3), viteza de reacție la consumul apei oxigenate este practic constantă. Când acidul ascorbic a reacționat în totalitate, iodul este eliberat. Dependența potențialului în funcție de timp prezintă un punct de inflexiune. Sfârșitul reacției corespunde de fapt cotului ce indică o creștere brusca a potențialului în funcție de timp. Este util să se ia ca punct de terminare a procesului (definit operațional) chiar punctul de inflexiune, căci acesta se determină cu mai multă precizie.

Apariția iodului pe probe fără agent de captare are loc printr-o modificare similară a potențialului. Timpul corespunzător acestui punct de echivalență este proporțional cu concentrația agentului de captare. Acest timp s-a determinat cu precizie din maximul curbei derivate  $dE/dt = f(t)$  fig. 2. Reprezentarea lui în funcție de concentrația de acid ascorbic este liniară și constituie chiar dreapta de calibrare.

Experimentele efectuate au urmărit influența parametrilor fizico-chimici asupra vitezei de reacție (timpul de consum) a acidului ascorbic, în vederea stabilirii condițiilor optime de lucru ale metodei conform invenției, denumită metoda "clock", pentru sistemul redox: iodură de potasiu-apă oxigenată-acid ascorbic, în fig. 2...8.

#### a) Influența acidității

Aciditatea afectează viteza de reacție a sistemul de reacții redox utilizat, în sistemul de reacții paralele reacția catalizată având o pondere accentuată. Dependența liniară este datorată faptului că reacția este de ordinul unu în raport cu aciditatea.  $[H^+]_0$  s-a ales  $1,5 \cdot 10^{-3}$  M, valoare convenabilă pentru măsurarea timpului (nici exagerat de lung, nici foarte scurt) fig. 3. Influența acidității asupra vitezei de reacție în cazul  $[H_2O_2]_0 = 6 \times 10^{-4}$  M;  $[KI]_0 = 6 \times 10^{-3}$  M;  $T = 273$  K;  $[acid\ ascorbic]_0 = 8 \times 10^{-5}$  M.

#### b) Influența conversiei

Dependența timpului de conversie este arătată în fig. 4. La conversii mici timpul de consum al acidului ascorbic este prea scurt, ceea ce duce la scăderea sensibilității, iar la cele mari, prea lung, măbind nejustificat durata analizei. Pe de altă parte, viteza nu mai poate fi considerată constantă și descompunerea apei oxigenate, un proces lent și nedorit, poate avea loc în timpul analizei. S-a ales ca o valoare convenabilă  $X = 0,13$ . Influența acidității asupra vitezei de reacție în cazul  $[H^+]_0 = 1,5 \times 10^{-3}$  M;  $[KI]_0 = 6 \times 10^{-4}$  M;  $T = 273$  K;  $[acid\ ascorbic]_0 = 8 \times 10^{-5}$  M.

# RO 126744 B1

1 c) Influența reactantului

2 Dependența timpului de concentrația de iodură de potasiu este arătată în fig. 5.  
3 Dependența este logaritmică, ceea ce sugerează un ordin unu în raport cu iodura, fapt  
4 confirmat de altfel de cercetările anterioare. A fost aleasă o concentrație care să fie cu un  
5 ordin de mărime mai mare decât cea de apă oxigenată. Influența concentrației de iodură de  
6 potasiu asupra vitezei de reacție în cazul  $[H_2O_2]_0 = 6 \times 10^{-4} M$ ;  $T = 273K$ ;  $[acid\ ascorbic]_0 = 8$   
7  $\times 10^{-5} M$ .

8 d) Influența temperaturii

9 Se observă o dependență de tip Arrhenius, fig. 6. S-a ales o valoare de 293 K, uzuală  
10 pentru determinările analitice, ușor de menținut și care asigură și o sensibilitate  
11 corespunzătoare. Influența temperaturii asupra vitezei de reacție în cazul  $[H_2O_2]_0 =$   
12  $6 \times 10^{-4} M$ ;  $[KI]_0 = 6 \times 10^{-3} M$ ;  $T = 273 K$ ;  $[acid\ ascorbic]_0 = 8 \times 10^{-5} M$ .

13 e) Influența forței ionice

14 Influența forței ionice a fost stabilită prin adăugarea unor concentrații crescătoare de  
15  $NaClO_4$  (1M). Forța ionică stabilită de substanțe în absența  $NaClO_4$  a fost  $1,35 \cdot 10^{-2} M$ . Prin  
16 adăugare de  $NaClO_4$ , s-au făcut determinări la forțe ionice de  $2,95 \cdot 10^{-2} M$ ,  $4,55 \cdot 10^{-2} M$ ,  
17  $5,35 \cdot 10^{-2} M$ ,  $7,35 \cdot 10^{-2}$ ,  $9,35 \cdot 10^{-2} M$ . Timpul de consum al agentului de captare a fost  
18 același cu al probelor fără perclorat de sodiu, cu abatere relativă standard în limitele erorilor  
19 normale de 0,4%.

20 f) Trasarea dreptelor de calibrare în condițiile alese convenabil a fost trasată dreaptă  
21 de calibrare fig. 7 pentru acid ascorbic în domeniul  $4 \cdot 10^{-5} \dots 6 \cdot 10^{-5} M$ . Limitele de detecție  
22 s-au estimat conform recomandărilor IUPAC, utilizând relația:

$$23 \quad \text{-----} \\ 24 \quad = t_{\text{blanc}} + 3 \cdot Sd_{\text{blanc}}$$

25 unde  $t_{\text{blanc}} = 0,2$  s și este media măsurătorilor experimentale individuale cu probă oarbă (fără  
26 agent de captare), iar  $Sd = 0,1$  reprezintă deviația standard de la această medie.

27 Deviația relativă standard s-a calculat pentru  $n = 5$  măsurători individuale la  
28 concentrații de  $8 \cdot 10^{-5} M$  acid ascorbic, obținându-se o valoare de 0,5%.

29 Ecuația dreptei prelucrate statistic este următoarea:

$$30 \quad t = (-1,4 \pm 5,3) + (2,74 \pm 0,18) \cdot 10^7 [C_6H_8O_6]_0$$

31 Limita de detecție în acest caz a fost stabilită la  $8 \cdot 10^{-8} M$  (14  $\mu g/l$ ), iar limita de  
32 determinare, la  $10^{-7} M$  (18  $\mu g/l$ ).

33 Utilizând condițiile propuse, s-au făcut măsurători cu o concentrație de  $8 \cdot 10^{-5} M$  acid  
34 ascorbic în prezența mai multor substanțe care pot fi prezente în fructe sau sucuri, tabelul  
35 2, și care ar putea afecta măsurătorile.

36

37 *Tabelul 2*  
38 *Interferenții posibili din probele de sucuri*

39 Aditiv	40 Raport masic (aditiv: acid ascorbic)	41 Recuperare (%)
42 Acid citric	400	99
43 Acid oxalic	120	101
44 Acid tartric	400	101
45 EDTA	200	99

Tabelul 2 (continuare)

Aditiv	Raport masic (aditiv: acid ascorbic)	Recuperare (%)
Glucosa	400	98,5
Amidon	500	100
Acid acetil-salicilic	3	101
Cisteină	1	278
Etanol	500	99

După cum se observă din tabelul 2, majoritatea substanțelor organice, cu excepția cisteinei, nu interferau măsurătorile, însă în cazul prezenței nedorite a unor urme de ioni ai metalelor tranzitionale (Cu, Pb, Zn, Fe, Mo, Mn etc.), reacția este catalizată și determinările nu se pot efectua. În acest caz, se sugerează fie trasarea drepte de calibrare în prezența matricei complexe de ioni, fie mascarea acestora cu EDTA. Aceasta a fost realizată prin trasarea unei drepte de calibrare pentru acidul ascorbic în prezența EDTA  $10^{-3}$  M și ioni de  $\text{Cu}^{2+}$   $10^{-4}$  M. Este evidentă mascarea ionilor de cupru de către EDTA prin faptul că diferențele sunt practic nesemnificative, sistemul nefiind influențat de prezența EDTA.

Se dau în continuare 7 exemple de realizare a invenției, pe probe reale de fructe, în legătură cu schema aparatului și modul de lucru.

Valorile obținute prin metoda „clock” au fost comparate cu metoda titrimetrică și spectrofotometrică cu 2,6 diclorfenolindofenol. În tabelul 3 sunt prezentate datele comparative, criteriile chemometrice, cât și recuperarea.

Tabelul 3

Fruct	Metoda „clock”		Metoda spectrofotometrică		Metoda titrimetrică		R %
	[acid ascorbic] mg/100 g fruct	rsd (n=3) %	[acid ascorbic] mg/100 g fruct	rsd (n=3) %	[acid ascorbic] mg/100 g fruct	rsd (n=5) %	
Grapefruit <i>Citrus decumana</i>	19,6	0,5	19,6	0,3	19,7	1,1	99,4
Mandarină <i>Citrus nobilis</i>	26,75	0,4	26,6	0,4	26,7	1,2	100,2
Portocală <i>Citrus aurantium</i>	28,17	0,8	28,25	0,8	28,2	0,7	99,8
Lămâie <i>Citrus limonum</i>	24,53	0,7	24,4	0,4	24,5	1,7	100,1
Roșie <i>Lycopersicum esculentum</i>	3,0	0,4	3,1	1,0	2,97	1,5	101,0
Kiwi <i>Actinidia chinensis</i>	15,1	0,3	15,2	0,5	15,2	0,8	99,3
Măceș <i>Rosa Canina</i> ( <i>Cynosbati fructus</i> )	23,33	0,3	23,3	0,3	23,4	0,4	99,7

# RO 126744 B1

1

## Revendicare

3

Metodă de determinare a conținutului de acid ascorbic - vitamina C - din fructe, **caracterizată prin aceea că** determinarea cantitativă a conținutului de acid ascorbic - vitamina C - din fructe constă în măsurarea timpului de consum al acidului ascorbic pe cale potențiometrică în sistemul de oxidoreducere: iodură de potasiu-apă oxigenată-acid ascorbic, sistem în care acidul ascorbic, având rolul de agent de captare, reacționează cu iodul după o cinetică și un mecanism de reacție cunoscute, ce permite măsurarea cu precizie a timpului de consum a acidului ascorbic cu un milivoltmetru în montaj potențiometric, până la consumul complet al acestuia din amestecul de reacție, în condiții optime determinate experimental, referitoare la aciditate,  $[H^+]_0 = 1,5 \cdot 10^{-3} M$ , la o conversie convenabilă  $X = 0,13$ , la concentrația optimă de reactant, iodura de potasiu, care este cu un ordin de mărime mai mare decât concentrația de apă oxigenată, la o temperatură optimă de lucru de 293 K, la o forță ionică controlată dată de percloratul de potasiu în intervalul de concentrație  $2,95 \times 10^{-2} \dots 9,35 \times 10^{-2}$ , pentru care timpul de consum al acidului ascorbic a fost același cu al probelor fără perclorat, cu o abatere relativă standard în limitele erorilor normale de 0,4%, realizându-se un grad de recuperare R, %, al acidului ascorbic de 99,3...101,0% pentru sortimentele de fructe și alimente analizate în condiții real convenabile, pentru care s-a trasat dreapta de calibrare a acidului ascorbic în domeniul  $4 \times 10^{-5} \dots 1,6 \times 10^{-5} M$ , conform recomandărilor IUPAC, și s-a formulat ecuația dreptei prelucrate statistic, stabilind limita de detecție a acidului ascorbic la  $8 \times 10^{-8} M$  (14  $\mu g/l$ ) și limita de determinare:  $10^{-7} M$  (18  $\mu g/l$ ), iar pentru concentrația de  $8 \times 10^{-5} M$  acid ascorbic, prezența mai multor substanțe existente în fructe sau sucuri ca substanțe organice nu interfera măsurătorile, cu excepția cisteinei sau a ionilor de metale tranziționale Cu, Pb, Zn, Mo, Mn cu efect catalitic când determinările nu se pot efectua, fapt ce necesită fie trasarea dreptei de calibrare în prezența matricei complexe de ioni, fie mascarea lor cu agent de mascare EDTA  $10^{-3} M$ , pentru ioni de  $Cu^{2+} 10^{-4} M$ .

5

7

9

11

13

15

17

19

21

23

25



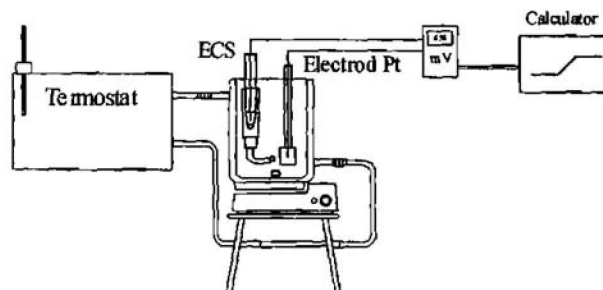


Fig. 1

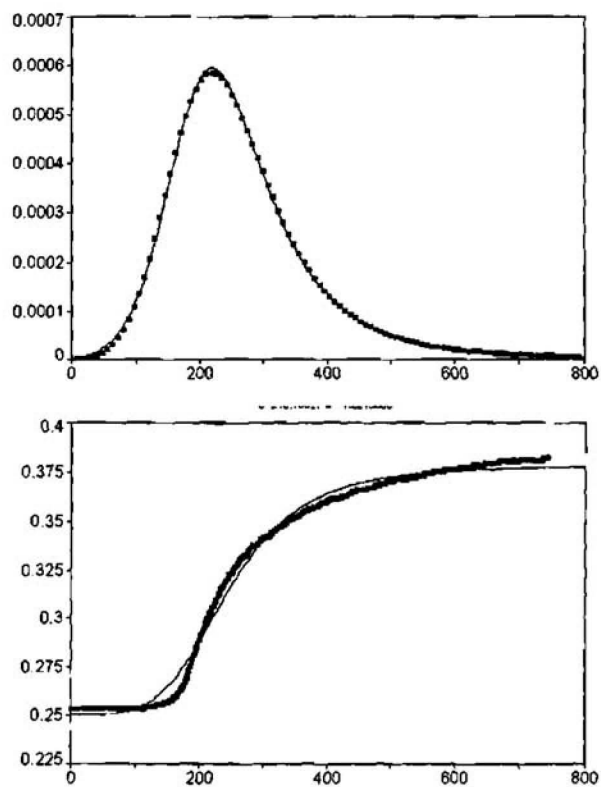


Fig. 2

(51) Int.Cl.

G01N 33/02 (2006.01);

G01N 33/15 (2006.01)

VITAMINA C2

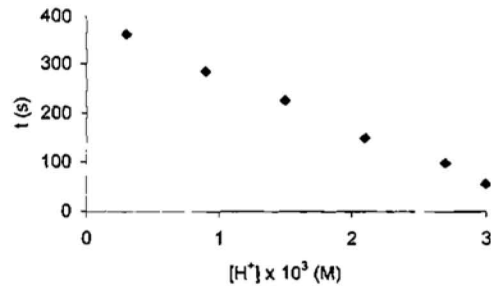


Fig. 3

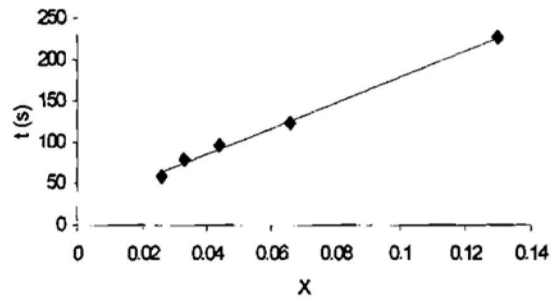


Fig. 4

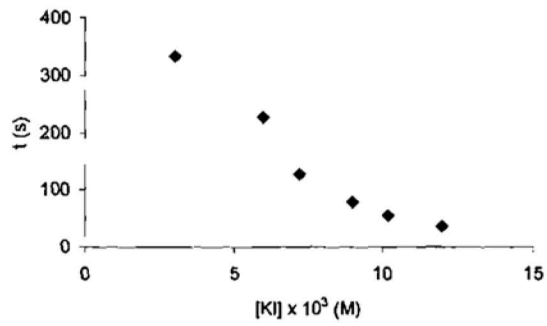


Fig. 5

VITAMINA C3

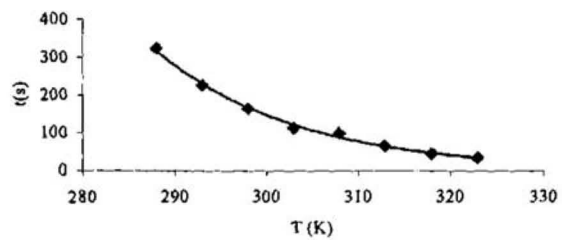


Fig. 6

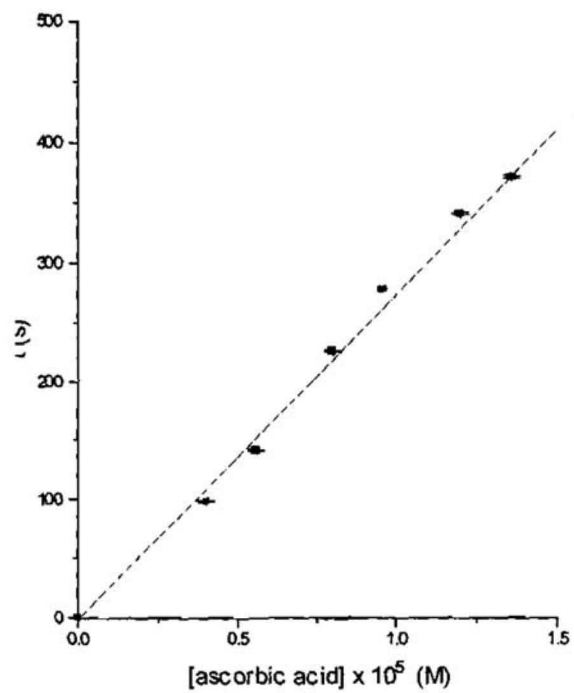


Fig. 7

(51) Int.Cl.

G01N 33/02 (2006.01),

G01N 33/15 (2006.01)

VITAMINA C4

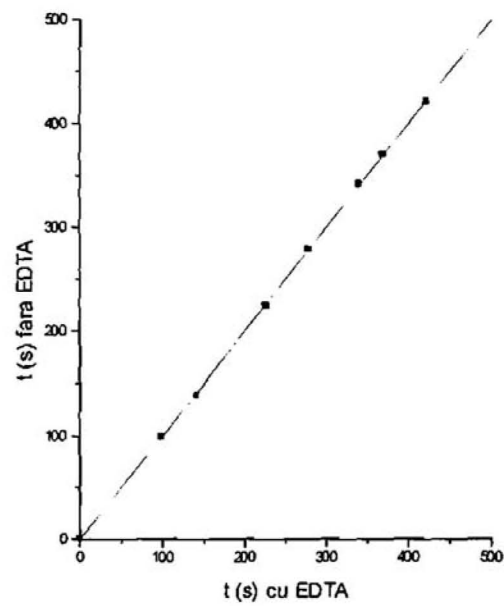


Fig. 8



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
sub comanda nr. 66/2014