Archive of SID

پژوهشی

مجله علمی - پژوهش دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره پانزدهم، شماره ۴۸، مهر و آبان ۱۳۸۴ (۳۱ - ۲۶)

اندازه‌گیری میزان ویتامین ث با روش تیتراسیون دو مرحله‌ای اکسیداسیون - احیا در انواع مرکبات

محمدعلی ابراهیم‌زاده (Ph.D.)* **سیدجلال حسینی‌مهر** (Ph.D.)** **میترا محمودی** (Ph.D.)***
محمدرضا قایخلو (M.ST.)**** **سیدمسعود حسینی** (M.ST.)****

چکیده

سابقه و هدف : شواهد حاکی از آن است که مصرف میوه‌ها به علت دارا بودن مواد آنتی اکسیدانت، از قبیل ویتامین ث خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی و سرطان را کاهش می‌دهند. از آنجا که مرکبات منبع غنی از این ویتامین می‌باشند، این مطالعه مقدار این ویتامین را در برخی گونه های پر مصرف مرکبات اندازه‌گیری می‌کند.

مواد و روش‌ها : سیزده گونه رسیده و پرمصرف مرکبات از باغ های تحقیقاتی فجر ساری تهیه و میزان ویتامین ث با روش تیتراسیون دو مرحله ای اکسیداسیون- احیا اندازه‌گیری شد. اطلاعات به دست آمده با آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و توکی آنالیز شد.

یافته‌ها : میانگین ویتامین ث در تمامی میوه ها ۱۸/۳ ± ۸۵/٤ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب میوه (با محدوده ۵۷/۹ تا ۱۳۱/٦) بود. بیش‌ترین مقدار این ویتامین در پرتقال شهسواری، ٤/۲ ± ۱۳۱/٦ ، و پرتقال خونی سانگینولا ۲/۲ ± ۱۰۰/۷ میلی‌گرم و کم‌ترین مقدار آن در تانجلو ، ۲/۳ ± ۵۷/۹ و نارنگی ۲/۲ ± ۷۰/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه بود. ارتباطی بین مقدار ویتامین ث و اسید سیتریک موجود در آب میوه یافت نشد.

استنتاج : بین میزان ویتامین ث در انواع مرکبات مورد تحقیق در این مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. به منظور دریافت مقدار بیش‌تری از ویتامین ث از طریق رژیم روزانه، مصرف مرکبات حاوی ویتامین ث بیش‌تر، پیشنهاد می‌گردد.

واژه های کلیدی : ویتامین ث، تیتراسیون، مرکبات

مقدمه

بررسی‌ها نشان می‌دهد، مصرف میوه و سبزیجات موجب کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، و فرایندهای تخریبی در بافت‌های بدن می‌شود (٤-۱). این آثار بیولوژیک مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی ازقبیل ویتامین ث می‌باشد که از تخریب بافت‌ها توسط رادیکال‌های آزادجلوگیری می‌کند(۵-۲).

E این تحقیق طی شماره ۳۲-۸۳ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه مازندران انجام شده است.

* استادیار شیمی داروئی، عضو هیأت علمی(استادیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران
** استادیار داروسازی هسته ای، عضو هیأت علمی(استادیار) ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
*** استادیار فارماکولوژی، عضو هیأت علمی(استادیار)، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
**** مهندس کشاورزی، کارشناس تحقیق و توسعه شرکت فجر
* ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، دانشکده داروسازی

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-25]
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

E تاریخ دریافت : ۸۳/۷/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۳/۱۰/۱ تاریخ تصویب: ۸۳/۷/۱٤

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-25]

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

مقدار اسکوربیک اسید (ویتامین ث) یک شاخص اساسی برای تعریف ارزش تجاری میوه‌ها و سبزیجات می‌باشد(٦). مقدار توصیه شده این ویتامین، ٦٠ میلی‌گرم روزانه می‌باشد اما، مصرف روزانه، ١٢٠ میلی‌گرم جهت کاهش بیماری‌های مزمن مانند سرطان پیشنهاد می‌گردد (٥). کمبود این ویتامین در بدن موجب بروز بیماری‌های زیادی از جمله، اسکوربوت می‌شود. عقیده بر آنست که این ماده به عنوان حد واسط در بیوسنتز و متابولیسم برخی مواد که درسیستم ایمنی بدن دخالت دارد شرکت می‌کند(٧). فرایند های اکسیداتیو نقش مهمی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌های مزمن از قبیل تصلب شرائین و سرطان دارند. در این فرایندها، تولید اکسیژن نوزاد موجب تخریب بافتی و تغییر ساختمان و عملکرد تقریبا تمامی بیومولکول‌ها (از قبیل چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه) می‌شود.بدن انسان مکانیسم‌های متعددی برای محافظت از این ذرات فعال دارد، آنزیم‌هائی از قبیل کاتالاز، سوپر اکسید دیس موتاز و آنزیم‌های ترمیم‌کننده، مانند DNA گلیکوزیلاز و آنتی‌اکسیدان‌ها از قبیل اسکوربیک اسید(ویتامین ث)، آلفا توکوفرول (ویتامین E) و بتا کاروتن ها از جمله این مکانیسم ها می باشند(٨). ویتامین ث می‌تواند آلفا توکوفرول را از رادیکال توکوفرول که از واکنش با سایر رادیکال‌ها تشکیل شده، مجددا تولید نماید. این ویتامین در تولید فرم احیاشده گلوتاتیون نیز نقش دارد. ماده اخیر اکسیژن نوزاد را در سیستم تنفسی نابود می‌کند(١٠،٩). مرکبات، به عنوان یک منبع غنی از ویتامین ث شناخته شده است، اما اختلاف قابل ملاحظه‌ایی در میزان این ویتامین در انواع مرکبات وجود دارد. از آنجا که تاکنون این اختلاف بررسی نشده است، میزان ویتامین ث در سطح ١٣ گونه پرمصرف مرکبات بررسی می‌شود تا ضمن افزایش اطلاعات عموم خوانندگان، گامی کوچک در افزایش سطح اطلاعات متخصصین علم تغذیه برداشته شود تا با توجه بیش‌تر به این اختلاف در انواع میوه‌ها، درارائه‌رژیم‌های‌غذائی‌سرشارازویتامین‌ث در پیش‌گیری از انواع بیماری‌ها موفق تر از همیشه عمل نمایند.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه ها:

نمونه ها از ١٣ نوع مرکبات رسیده شامل؛ پرتقال (تامسون، ایتالیائی، بیروتی، بی‌اسید، شهسواری، خونی سانگینولا و خونی مورو)، تانجلو، نارنگی معمولی و نارنگی یافا یا کلمانتین، لیمو شیرین، نارنج و گریپ فروت از نهالستان تحقیقات بنیادساری درطی سال ١٣٨٣تهیه شد. ازآنجا که مقدار ویتامین ث در مراحل مختلف رشد میوه متفاوت می‌باشد، از میوه‌های رسیده نمونه‌ها انتخاب شدند. شاخص رسیده بودن با اندازه‌گیری مقدار قند (با اندازه‌گیری میزان فروکتوز با رفرکتومتری) و اسیدیته میوه (با تیتراسیون مستقیم حجم معینی از آب میوه با سود با غلظت) مشخص شد. مناسب‌ترین زمان (حالت رسیده) در هر گونه زمانی بود که نسبت قند به اسیدیته در محدوده ٧ تا ٩ بود. از هر میوه ٣ بار نمونه‌گیری شده و در هر نمونه عمل سنجش ٣ بار تکرار شد. از آنجا که شرایط کشت، اعم از آب، خاک، رطوبت، تازگی زمان چیدن میوه و میزان رسیده بودن در میزان مواد موجود در میوه‌ها، تاثیر به سزائی داشته و روند مطالعه را با مشکلات زیادی روبرو می نمود، طرح عملیاتی این تحقیق در غیاب اطلاعات قبلی، به عنوان یک مطالعه اولیه و مقدماتی طراحی شد. بنابراین سعی گردید با انتخاب کلیه میوه‌ها از یک منطقه زراعی، بسیاری از پارامترها یکسان و امکان مقایسه بین گونه‌های مختلف فراهم شود. و نیز با تعیین روزانه نسبت قند به اسید در مطلوب‌ترین زمان رسیدن، جمع‌آوری

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-25]
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

میوه‌ها انجام شد و تنها از میوه‌های تازه چیده شده (به جهت برخورداری از حداکثر ویتامین ث) استفاده شد. با این اقدامات در حد امکان به بهترین وجه شرایط یکسانی در مقایسه این میوه ها با یکدیگر ایجاد گردید. کلیه مواد شیمیائی موردنیاز این تحقیق ازکارخانه مرک خریداری شد.

تعیین مقدار ویتامین ث با روش تیتریمتری با ید، پتاسیم یداید و پتاسیم یدات در حضور معرف نشاسته توسط بسیاری از محققین گزارش شده است. سهولت انجام این روش و ارزانی مواد مورد نیاز جهت سنجش از سایر مزایای این روش می‌باشد(۷). روش پذیرفته شده درفارماکوپه‌های آمریکا (USP) و اروپا [1] نیزهمین روش می‌باشد(۱۲،۱۱). بر این مبنا، در این تحقیق نیز از روش تیتراسیون استفاده شده است.

محلول تیو سولفات سدیم با غاظت۱۰ میلی‌مول بر dm^3، محلول یدید پتاسیم با غاظت ۵ میلی‌مول بر dm^3 و محلول‌یدات‌پتاسیم باغلظت ۱ میلی‌مول بر dm^3 تهیه شد.

انجام تیتراسیون با استفاده از محلول تیوسولفات سدیم در محیط اسیدی درحضور معرف نشاسته صورت پذیرفت. نقطه پایان تیتراسیون با بی‌رنگ شدن (از رنگ بنفش پررنگ اولیه) مشخص گردید. محاسبه میزان ویتامین ث با دردست داشتن مول ید تیتر شده با محلول تیوسولفات‌سدیم انجام پذیرفت. ابتدا ازحجم‌تیوسولفات مصرفی، تعداد مول آن را محاسبه، و از این طریق میزان ید وارد واکنش شده با محلول تیوسولفات در خلال تیتراسیون محاسبه شد. تعداد ید وارد واکنش شده با ویتامین ث از تفاوت میزان ید تیتر شده با محلول تیوسولفات و کل ید آزاد شده در روند واکنش، که خود براساس حجم مصرفی محلول تیوسولفات و غلظت مولی آن قابل محاسبه است، به دست آمد. از تعداد مول‌های ید، تعداد مول‌های ویتامین ث تعیین و با توجه به حجم آب میوه اولیه، تعداد مول اسید اسکوربیک (ویتامین ث) در لیتر محاسبه شد. از ضرب عدد حاصل در ۱۷٤/۲ (وزن مولکولی ویتامین ث) مقدار این ویتامین به صورت گرم در لیتر محاسبه و سرانجام به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر گزارش شد(۱۳). عمل تیتراسیون با محلول حاوی غلظت‌های مشخص از ویتامین ث استاندارد (۱۰، ۲۰، ٤۰، ۸۰ و ۱٦۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) تکرار شده و پس منحنی استاندارد رسم گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده ازآنالیز واریانس یک‌سویه(ANOVA) ومتعاقب آن تست توکی انجام پذیرفت. نتایج بر اساس میانگین بیان گردید. نتایج با احتمال کمتر از ۰/۰۵ ($P < 0.05$) معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش دهم انجام شد.

یافته‌ها

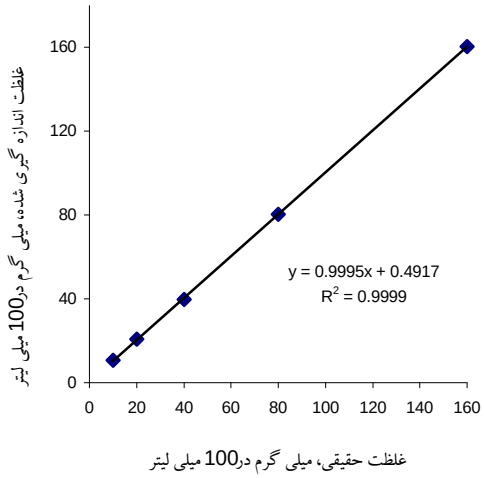
نمودار شماره ۱ منحنی استاندارد تیتراسیون ویتامین ث با غلظت‌های مختلف را نشان می‌دهد. میزان ویتامین ث با روش تیتراسیون دو مرحله ای تعیین شد. پس از ترسیم منحنی استاندارد و محاسبه معادله خط، ضریب تعیین بالایی به دست آمد ($r^2 = 0.9999, F = 3.77$). نمودار شماره ۲ میزان ویتامین ث اندازه‌گیری شده را در نمونه‌ها نشان می‌دهد. پرتقال شهسواری با ٤/۲ ± ۱۳۱/٦ و خونی سانگینولا با ۲/۲ ± ۱۰۰/۷ میلی‌گرم ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌میوه به ترتیب دارای بیش‌ترین مقدار ویتامین و تانجلو با ۲/۳ ± ۵۷/۸ و نارنگی معمولی با ۲/۲ ± ۷۰/۲ میلی‌گرم ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌میوه نیز کم‌ترین میزان ویتامین ث را دارا بودند ($P < 0.001$). میزان اسید سیتریک این میوه‌ها نیز با

1. European Pharmacopoeia

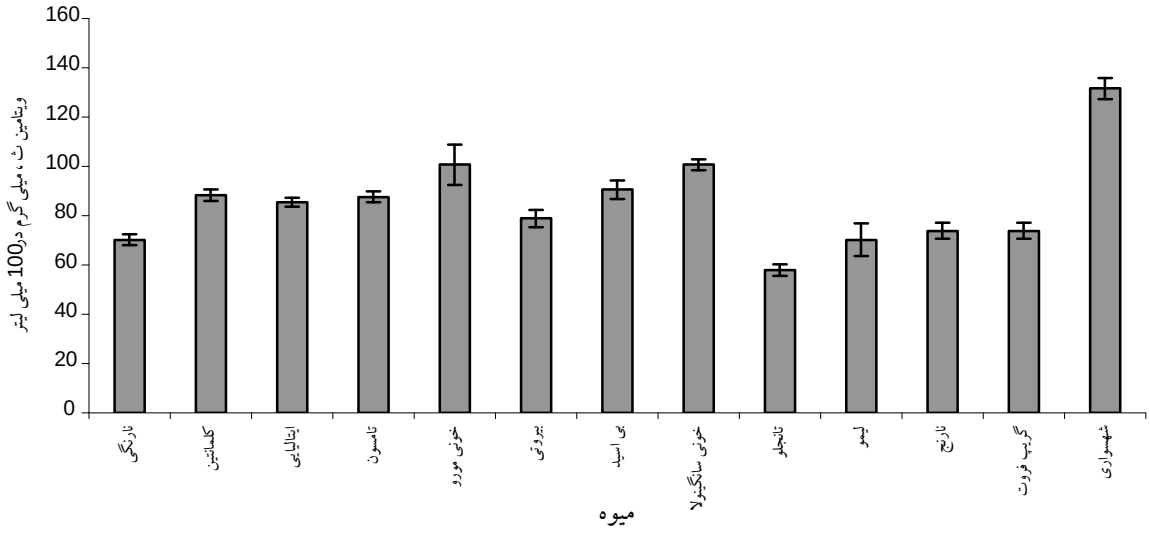
www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-25]
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

یکدیگر مقایسه شد. پرتقال مورو با ۰/۲ ± ۲/۲ و نارنج با ۰/۲ ± ۱/۷ و پرتقال بی اسید با ۰/۱ ± ۰/۳ و لیمو با ۰/۱ ± ۰/۴۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه به ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار اسید سیتریک بودند. میانگین اسید سیتریک در کلیه میوه‌ها ۰/۲ ± ۱/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌میوه به دست آمد. از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین میزان ویتامین ث و اسید سیتریک میوه‌ها مشاهده نشد ($P > 0.05$).



نمودار شماره ۱ : ارتباط بین غلظت حقیقی ویتامین ث (x) در مقابل غلظت اندازه گیری شده (y) با استفاده از روش تیتراسیون.



نمودار شماره ۲ : مقدار ویتامین ث اندازه گیری شده در انواع مرکبات

بحث

ارتباط بین خاصیت آنتی اکسیدانی و مقدار ویتامین ث در پرتقال به اثبات رسیده است. علی رغم وجود مقدار زیادی مواد فنلی از قبیل هسپریدین و ناریروتین، ۸۷ درصد خاصیت انتی اکسیدانی در پرتقال به واسطه وجود ویتامین ث در این میوه می‌باشد(۱۲). تحقیقات نشان می‌دهد بین میزان ویتامین ث در آب پرتقال با فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کل آب میوه، ارتباط معنی‌داری وجود دارد(۲). مقادیر ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-25]

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

پرتقال با استفاده از روش دی‌کلروفنل ایندوفنل، ۵۲/۳ میلی‌گرم (۱۵) و در پرتقال، گریپ فروت و لیمو با روش HPLC به ترتیب ٤٩/٨، ٦٤/٧ و ۵۱/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه گزارش شده است(١٦). با استفاده از روش تیتراسیون با ید، مقدار ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب پرتقال و آب لیمو در هند ٦٧/١ و ۵۲/۸ میلی‌گرم و مقدار این ویتامین در همین مطالعه با روش HPLC، به ترتیب ٦٣/٢ و۵۱/۳ گزارش شده است(۱۷). مقدار ویتامین ث در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب لیمو در تایلند با روش اندازه‌گیری تیتراسیون با ید، ۱۰/۵ میلی‌گرم گزارش شده است(۱۸). نتایج مطالعات مختلف بیانگر این مساله است که مرکبات به عنوان منبع غنی از ویتامین ث بوده که میزان آن در انواع آن مختلف می‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که پرتقال شهسواری، خونی سانگینولا و خونی مورو دارای بیش‌ترین مقدار ویتامین ث می‌باشند. نارنگی کلمانتین، پرتقال تامسون و پرتقال ایتالیائی نیز از این بابت در حد وسط قرار داشته و نارنگی معمولی، لیمو شیرین و تانجلو نیز دارای کم‌ترین مقدار ویتامین ث می‌باشند.

مقایسه مقادیر گزارش شده در دیگر مقالات با نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، که گونه‌های مرکبات ایرانی به مراتب دارای مقدار ویتامین ث بیش‌تری نسبت به انواع کشت شده در سایر کشورها می‌باشند. در بین انواع مرکبات، پرتقال شهسواری بیش‌ترین ویتامین ث را دارا می باشد. بر خلاف نظر مثبت عامه مردم بر لیمو، مقدار این ویتامین در لیمو تقریبا از تمامی میوه‌ها کم‌تر بود. نظر به نقش ارزشمند ویتامین ث در سلامتی، پیشنهادمی گرددکه افرادجامعه به مصرف بیش‌ترمرکباتی هدایت شوند که دارای ویتامین ث بیش‌تری می‌باشند.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت و پشتیبانی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه انجام شده است که از ایشان تشکر و قدردانی می گردد. ازمدیریت بخش تحقیق و توسعه شرکت فجر ساری نیز به جهت همکاری قدردانی می گردد.

فهرست منابع

1. Sanchez-Moreno C. Effect of orange juice intake on vitamin C concentration and biomarkers of antioxidant status in humans. ***Am J Clin Nutr.*** 2003; 78(3): 454-60.
2. Proteggente AR. The compositional characterisation and antioxidant activity of fresh juices from sicilian sweet orange varieties. ***Free Radic Res.*** 2003; 37(6): 681-7.
3. Sun J. Antioxidant and antiproliferative activity of common fruits. ***J Agric Food Chem.*** 2002; 20(25): 7449-54.
4. Wolfe K.Antioxidant activity of apple peels. ***J Agric Food Chem.*** 2003; 51(3): 609-14.
5. Toit R.Composion of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. ***Toxicology.*** 2001; 166: 63-69.
6. Saari NB. Ascorbate oxidase from starfruit: preparation and its application

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-25]
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

in the determination of ascorbic acid from fruit juices. ***Food Chemistry.*** 1999; 66: 57-61.

7. Arya SP.N. spectrophotometric methods for the determination of vitamin C. ***Analytica Chimica Acta.*** 2000; 417: 1-14.
8. Mc Call MR. Can antioxidant vitamin materially reduce oxidative damage in humans? ***Free Radical Biology & Medicine.*** 1999; 26(7/8): 1034-1053.
9. Anderson D. Comparative in vitro and invivo effects of antioxidants. ***Food and Chemical Toxicology.***1999; 37:1015-1025.
10. Niki E. Antioxidant activity: are we measuring it correctly. ***Nutrition.*** 2000; 18(6): 524-24.
11. Brater M.D. The United States Pharmacopoeia (USP) 25 and National Formulary (NF) 20, Webcom Limited. ***Toronto.*** 2002; p. 163.
12. Calam D. ***European Pharmacopoeia,*** 4th ed, Council of Europe, Strasbourg. 2002; p. 675.
13. Skinner J. in: Microscale Chemistry; Experiments in Chemistry, Measuring the amount of vitamin C in fruit drinks. ***Royal Society of Chemistry.*** 1997, p. 67 (cf. J. Chem. Ed. 69, A213-4, 1992).
14. Miller N.J, Rice-Evans C.A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant blackcurrant drink. ***Food Chemistry.*** 1997; 60(3): 331-337.
15. Kabasakails V, Siopidou D, Moshatou E. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. ***Food Chemistry.*** 2000; 70: 325-328.
16. Vinci G, Botre F, Mele G. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. ***Food Chemistry.*** 1995; 53: 211-214.
17. Jain A, Chaurasia A, Verma K.K. Determination of ascorbic acid in soft drink, preserved fruit juices and pharmaceuticals by flow injection spectrophotometery. ***Talanta.***1995; 42(6): 779-787.
18. Suntornsuk L, Gritsanapun W, Nilkamhank S, Paochom A. Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration. ***Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis.*** 2002; 28: 849-855.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-25]

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com