

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРИСУТСТВИИ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

Г. Х. БУНЯТЯН и Г. В. МАТИНЯН

Поиски методов определения количества аскорбиновой кислоты в присутствии редуцирующих веществ служили предметом многих исследований. Были разработаны методы, при которых количество аскорбиновой кислоты определялось после удаления редуцирующих веществ. Однако, эти методы не всегда безупречны, а с другой стороны—более или менее трудоемки.

В 1943 г. Леви (1) предложил метод определения аскорбиновой кислоты без удаления редуцирующих веществ путем титрования исследуемой жидкости индофенолом до и после добавления концентрированной соляной кислоты, ибо аскорбиновая кислота в отличие от других редуцирующих веществ теряла свою способность восстанавливать индофенол в присутствии 20% соляной кислоты.

Простота метода, предложенного Леви, побудила нас заняться его проверкой, а с другой стороны—изучить поведение и других редуцирующих веществ, которые сопутствуют аскорбиновую кислоту, в среде 20% HCl, т. к. Леви были приведены данные только по поводу глюкоредукто-на и гипосульфита.

Концентрированная соляная кислота нами добавлялась к титруемо-му раствору в соответствии с тем, чтобы получить 20% HCl в растворе. Титрация индофенолом производилась до тех пор, пока розовая окраска не исчезала в течение 20 секунд. Титр краски в различных опытах коле-бался от 0,2—0,217.

Проведенные нами исследования показали, что не при всех количест-вах аскорбиновой кислоты 20% HCl достаточно для полного подавления ее редуцирующей способности. Помимо этого при одной и той же концен-трации аскорбиновой кислоты имеет значение и объем титруемого раство-ра. Результаты исследований приведены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, количество необходимой соляной кислоты для полного подавления редуцирующего свойства аскорбиновой кислоты различно в зависимости от количества и объема титруемого раствора.

С увеличением количества аскорбиновой кислоты и объема титруе-мого раствора концентрация соляной кислоты возрастает, что следует иметь в виду при титрации аскорбиновой кислоты в присутствии конц. HCl.

Следующие опыты были поставлены с цистеином. и различными по-

лифенолами. Титровались они краской сначала в кислой среде, которая создавалась добавлением 1—2 капель 1% HCl, и затем при наличии конц. HCl.

Полученные результаты приведены в таблице 2.

Таблица 1

№№ п/п	Количество аскорбиновой кислоты в мг титруемого ра- створа	Объем титруемого раствора в мл	Необходимая конц. HCl для полного подав- ления редуц. способности ас- корбиновой кислоты
1	5	1.0	20
2	20	1.0	20
3	20	2.0	22
4	25	1.0	21
5	25	2.0	22
6	30	1.0	23
7	30	2.0	25
8	35	1.0	24
9	35	2.0	26
10	50	0.5	21
11	100	0.5	22
12	150	0.5	25,6
13	200	0.5	27

Как видно из таблицы 2, при добавлении 1% HCl титруются индофенолом, хотя медленно: цистеин и в незначительном количестве гидрохинон и пирогаллол. При добавлении конц. HCl (20% в титруемом растворе) цистеин не титруется, но заметные количества краски обесцвечиваются пирогаллолом, несколько меньше гидрохиноном и пирокатехином. Таким образом, по своему поведению цистеин подобен аскорбиновой кислоте, и при наличии его невозможно судить о количестве аскорбиновой кислоты, титруя до и после добавления конц. HCl. Что же касается пирогаллола и гидрохинона, то они могут мешать, если имеются в больших количествах. Поставленные нами опыты показали, что при конц. от 5—15 мг % кроме пирогаллола остальные полифенолы не титруются, в особенности когда берется маленький объем титруемого раствора (1—2 мл).

Были поставлены опыты также с тиомочевинной, которая часто применяется как стабилизатор аскорбиновой кислоты, и гипосульфитом. Они выявили интересные свойства и потому полученные данные приводим в отдельной таблице 3.

Из таблицы 3 видно, что гипосульфит при добавлении 1% HCl (1—2 капли) и конц. HCl хорошо титруется краской в обоих случаях; и даже при конечной конц. HCl —20% (учитывается и объем краски, ушедшей

Таблица 2

Взятые вещества	Конц.	Объем титр. раст. в мл	Израсход. краска в мл в кисл. среде	Израсход. краска в присутствии 20% HCl
	$\frac{M}{500}$			
Цистеин		5,0	5,3	0
Пирогаллол	"	"	0,15	1,5
Гидрохинон	"	"	0,1	0,45
Пирокатехин	"	"	0	0,32
Флороглюцин	"	"	0	0
Адреналин	"	"	0	0,1
Резорцин	"	"	9	0
О р ц и н	"	"	0	0
Т а н н и н	20 мг %	"	0	0

на титрацию), при конц. HCl —25—27%, титрация идет, но потребное количество краски уменьшается примерно в три раза. Учитывая, что аскорбиновая кислота ($\frac{N}{400}$) не титруется индофенолом при 20% конц. HCl, мы титровали аскорбиновую кислоту + гипосульфит вместе при различных количествах HCl. Как видно из таблицы, при добавлении 1% HCl на $1 \text{ мл } \frac{N}{400}$ аск. к-ты + $1 \text{ мл } \frac{N}{400}$ гипосульфита идет 2,55 мл индофенола, такое же количество краски идет при конц. HCl —12,7%, но при 20% конц. HCl —столько, сколько при одном гипосульфите, т. е. создавая 20% конц. HCl, можно титровать один гипосульфит, и разница при титрации с 1% HCl и 20% HCl даст количество аскорбиновой кислоты. 20% конц. HCl создается все время добавлением новых порций конц. HCl соответственно объему обесцвечивающейся краски.

Из таблицы видно, что одна тиомочевина индофеноллом не титруется при добавлении 1% HCl, но при наличии больших количеств HCl —12%, она хорошо титруется. При конц. 20 и больше процентов HCl расход краски уменьшается с количеством добавленной HCl. Таким образом, аскорбиновую кислоту можно титровать в присутствии тиомочевины только без добавления конц. HCl. Из таблицы видно, что на $1 \text{ мл } \frac{N}{400}$ тио-

мочевины + 1 мл $\frac{N}{400}$ аскорбиновой кислоты идет краски столько, сколько на одну аскорбиновую кислоту, а при 20% HCl — на одну тиомочевину.

Таблица 3

Взятые вещества	Конц.	Объем титр. раст. в мл	Израсход. краска в мл в кис- лой среде	Конц. HCl в ‰	Израсход. краска в мл при до- бавлении конц. HCl
Аскорбиновая к-та	$\frac{N}{400}$	1,0	0,95	20,0	0
Гипосульфит	"	1,0	1,65	11,0	1,82
"	"	1,0	—	15,0	1,82
"	"	1,0	—	20,0	1,65
"	"	1,0	—	25,0	0,57
"	"	1,0	—	27,2	0,55
Аскорбиновая к-та + гипосульфит	"	1,0 + 1,0	2,55	12,7	2,56
"	"	1,0 + 1,0	—	20,0	1,7
Тиомочевина	"	1,0	0	12,0	1,15
"	"	1,0	—	20,0	0,6
"	"	1,0	—	23,0	0,12
"	"	1,0	—	27,2	0,1
Аскорбиновая к-та + + тиомочевина	"	1,0 + 1,0	0,96	15,0	2,4
"	"	1,0 + 1,0	—	20,0	0,
"	"	1,0 + 1,0	—	23,0	0,12

Были произведены исследования, в которых взамен индофенола для титрации применялся $\frac{N}{400}$ J_2 . Конец титрации узнавался по окраске заранее добавленного хлороформа. Незначительный избыток иода быстро окрашивал хлороформный слой. Полученные результаты изображены в таблице 4.

Из таблицы 4 видно, что аскорбиновая кислота перестает титроваться иодом при гораздо больших концентрациях HCl, при 27%, что наблюдалось также в опытах Леви. Гипосульфит одинаково хорошо титруется при всех концентрациях и, как показывают приведенные данные, при 25% конц. HCl можно титровать иодом один гипосульфит.

Таким образом, при наличии тиосульфата можно определить количество аскорбиновой кислоты, производя титрацию иодом до и после добавления соответствующих количеств конц. HCl. Что же касается тиомочевина, то, как видно из таблицы, она в слабокислой среде в отличие от индофенола титруется иодом, а также при добавлении конц. HCl, причем в присутствии 20% конц. HCl ее редуцирующая способность угнетается и почти исчезает при 30% конц. HCl. Полученные результаты говорят о том, что определение аскорбиновой кислоты иодом при наличии тиомочевина с применением конц. HCl может дать ошибочные данные.

Таблица 4

Взятые вещества	Конц.	Объем титр. раст.	Израсход. N $\frac{N}{400}$ J ₂ в мл в кислой среде	Конц. HCl в %/о	Израсход. N $\frac{N}{400}$ J ₂ в мл при добавл. конц. HCl
Аскорбиновая к-та	$\frac{N}{400}$	1,0	1,02	17,0	0,4
"	"	1,0	—	20,0	0,25
"	"	1,0	—	27,2	0
Гипосульфит	"	1,0	1,03	13,0	1,03
"	"	1,0	—	20,0	1,03
"	"	1,0	—	27,2	1,03
Аскорбиновая к-та + гипосульфит	"	1,0 + 1,0	2,05	13,0	2,05
"	"	1,0 + 1,0	—	20,0	1,5
"	"	1,0 + 1,0	—	25,0	1,03
Тиомочевина	"	1,0	1,0	10,0	1,8
"	"	1,0	—	20,0	0,6
"	"	1,0	—	27,0	0,3
"	"	1,0	—	30,0	0,05
Аскорбиновая к-та + тиомочевина	"	1,0 + 1,0	2,05	14,0	1,8
"	"	1,0 + 1,0	—	20,0	1,0
"	"	1,0 + 1,0	—	25,0	0,35
"	"	1,0 + 1,9	—	27,0	0,35
"	"	1,0 + 1,0	—	30,0	0,06

В присутствии тиомочевина и гипосульфита количество аскорбиновой кислоты можно определить и следующим путем. Определенное количество испытуемого раствора титровать иодом с добавлением 1% HCl, к такому же количеству раствора прибавить 1—2 капли 5% раствора FeCl₃.

и снова произвести титрацию. При этом аскорбиновая кислота полностью окисляется и титруются только тиомочевина и гипосульфит, по разнице потраченного иода можно судить о количестве аскорбиновой кислоты. Так как при этом употребляется 1% KI можно в качестве индикатора применять крахмал.

По мнению Леви, аскорбиновая кислота в присутствии конц. HCl переходит из диенольной в кетонную форму и перестает редуцировать индофенол и иод. Но, как мы видим, цистеин ведет себя, как аскорбиновая кислота, а с другой стороны—полифенолы при наличии конц. HCl лучше окисляются индофенолом, а при высоких конц. HCl редуцирующая способность гипосульфита и тиомочевины также падает. Это все вместе говорит о несостоятельности предположения Леви, и поэтому вопрос механизма понижения редуцирующей способности аскорбиновой кислоты в сильно кислой среде остается открытым.

Полученные нами результаты, говорят о том, что, применяя конц. HCl , можно определить индофенольным титрованием количество аскорбиновой кислоты в присутствии полифенолов, если их количество не превышает 5—15 мг %, и гипосульфита, а в присутствии тиомочевины аскорбиновую кислоту можно титровать только добавлением 1—2 капли 1% HCl . Иодом можно определить аскорбиновую кислоту, производя титрацию при добавлении 1% HCl и создавая среду 25% HCl . Примечением FeCl_3 можно окислить аскорбиновую кислоту и титровать иодом только тиомочевину и гипосульфит в присутствии 1% HCl , разница до добавления FeCl_3 и после него даст количество аскорбиновой кислоты.

Из других редуцирующих веществ цистеин (повидимому, и глутатион) ведет себя аналогично аскорбиновой кислоте в присутствии конц. HCl , стало быть без его удаления невозможно вышеописанным путем определить количество аскорбиновой кислоты.

Нами ведутся исследования по определению количества аскорбиновой кислоты в крови и моче, с применением конц. HCl .

ЛИТЕРАТУРА

1. Levy L. F.—Biochem. J., 37, 714, 1943; Nature, 152, 693, 1943.

ԱՍԿՈՐԲԻՆԱԹՔԻ ԳԱՆԱԿԱԿԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԽԻՏ ԱՂԱԹՔԻ ՆԵՐԿԱՑՈՒԹՅԱՐՔԻ

Հ. Խ. ԲՈՒՆՅԱԹՅԱՆ ԵՎ Հ. Վ. ՄԱՏԻՆՅԱՆ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Խիտ աղաթթիի ներկայությունը ասկորբինաթթվի քանակությունը կարելի է որոշել ինդոֆենոլային ախտացիայի միջոցով պուլիֆենոլների, որոնք վերջիններիս քանակը բարձր է 5—15% -ից, ինչպես և հիպոսուլֆիտային առկայության դեպքում: Թիոմիդանյութի ներկայության ժամանակ ասկորբինաթթուն կարելի է զերել ինդոֆենոլով միայն 1% աղաթթու (1—2 կաթիլ) ալկալացնելով, այդ դեպքում թիոմիդանյութը չի ախտացնում:

ներկով: Ասկորբինաթթվի քանակը կարելի է որոշել և իողի միջոցով հի-
պոսուլֆիտի առկայությամբ, օգտագործելով խիտ աղաթթու և կատարելով
ստիտրացիան $1\frac{0}{0}$ և խիտ աղաթթվի ներկայությամբ, սակայն այդ ան-
հնար է թիոմիզանյութի առկայության դեպքում: Երբ ներկա են թիոմի-
զանյութը և հիպոսուլֆիտը, ասկորբինաթթվի քանակը կարելի է որոշել
միողի միջոցով հետևյալ ձևով. սկզբում տիտրել լուծույթի որոշ քանակու-
թյուն իողի միջոցով, սա կտա ասկորբինաթթվի, հիպոսուլֆիտի և թիոմի-
զանյութի ընդհանուր քանակը, ապա նույն քանակությամբ լուծույթի վրա
ավելացնել $1-2$ կաթիլ $5\frac{0}{0}$ FeCl_3 , այդ դեպքում ասկորբինաթթուն ամ-
րադրվածությամբ օքսիդանում է, և այժմ կատարելով տիտրացիան, որոշվում
է միայն հիպոսուլֆիտի և թիոմիզանյութի ընդհանուր քանակը, իսկ առա-
ջին և երկրորդ տիտրացիաների տարբերությունը կտա միայն ասկորբին-
աթթվի քանակությունը:

Այժմ մեզ մոտ աշխատանքներ են տարվում ասկորբինաթթուն արյան
և մեղի մեջ որոշելու ուղղությամբ, օգտագործելով խիտ աղաթթու: