

PRÍSPEVOK K POLAROGRAFICKÉMU STANOVENIU KYSELINY L-ASKORBOVEJ V RASTLINNOM MATERIÁLI

JOZEF SEDLÁK

Endokrinologický ústav Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Presné a špecifické stanovenie kyseliny L-askorbovej v rastlinnom materiáli nie je ani dodnes uspokojivo vyriešené. Ešte treba veľa zdokonaľovať metódy, aby sme mohli presne stanoviť vedľa seba voľnú kyselinu L-askorbovú, kyselinu dehydroaskorbovú a kyselinu L-askorbovú viazanú na askorbigen v rastlinnom materiáli.

Titračné a kolorimetrické metódy, pri ktorých sa používa Tillmansov reagent 2,6-dichlórfenolindofenol, sú najrozšírenejšie. V poslednom čase sa veľa pracuje metódou J. H. Roosa a spolupracovníkov [1], pri ktorej sa ako reagent používa *m*-dinitrofenylhydrazín a ktorou možno stanoviť vedľa seba kyselinu askorbovú, dehydroaskorbovú a diketogulónovú. Najnovšie prichádzajú do popredia fyzikálne metódy. Z nich najväčší význam má polarografická metóda.

V tejto práci chceme poukázať na niektoré nové výsledky pozorovania pri polarografickom stanovení voľnej kyseliny L-askorbovej (ďalej kyseliny askorbovej) v rastlinnom materiáli, ktoré sme zistili pri hľadaní najvhodnejšieho spôsobu extrakcie a pri riedení rastlinných štiav acetátovým tlmivým roztokom.

Experimentálna časť

Zariadenie

Pracovali sme na Heyrovského polarografe typu V 301 v obvyklom polarografickom zapojení s Kalouskovou nádobkou a referentnou merkurosulátovou elektródou. Výška rezervoára $h = 72$ cm, doba kvapky meraná pri potenciáli -700 mV v základnom elektrolyte $t = 1,6$ sek., prietoková rýchlosť ortuti $5,75 \cdot 10^{-3}$ g sek $^{-1}$, akumul. 4 V.

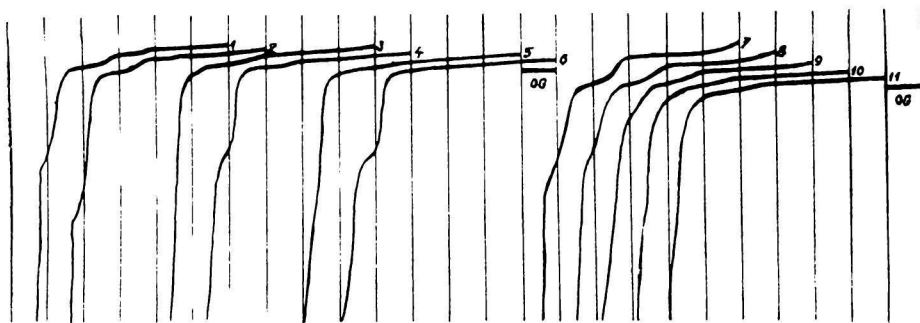
Reagencie

Ako štandardnú látku sme použili kyselinu askorbovú *Farmakon*, n. p., Olomouc, ktorú sme prechovávali nad silikagélom. Podľa jodometrickej titrácie s 0,01 N- J_2 kyselina askorbová bola 96,9 %. Ostatné reagencie boli čistoty p. a. (Lachema). Ako základný elektrolyt sme používali acetátový tlmivý roztok o pH 4,7. Vzdušný kyslík z roztokov sme odstraňovali vybublávaním s najčistejším dusíkom.

Pracovný postup

Rastlinný materiál na pokusy sme kupovali v čerstvom stave z úrcdy 1955 na bratislavskom trhu. Polarografické analýzy sme robili Zumanovou metódou [2], ktorá umožňuje stanoviť kyselinu askorbovú a SH-látky vedľa seba. Na extrahovanie rastlinného materiálu a na prípravu štandardných roztokov sme používali acetátový tlmivý roztok o pH 4,7, ktorý sme pred použitím zbavili kyslíka a nasýtili dusíkom. Aby sme zistili optimálne podmienky pre extrahovanie kyseliny askorbovej, robili sme extrakciu

z 10—20 g návažku zeleniny alebo ovocia, ktoré sme v niektorých prípadoch až štyrikrát rozotierali s čistým kremenným pieskom v trecej porcelánovej miske vždy s 10 ml acetátového tlmivého roztoku v atmosfére CO_2 (polarogram 1, tab. 1). Rastlinný extrakt sme získali filtráciou rozotretej kašovitej masy cez gázu do vhodnej 20—50 ml odmernej banky, kde sme ho doplnili po značku acetátovým tlmivým roztokom.



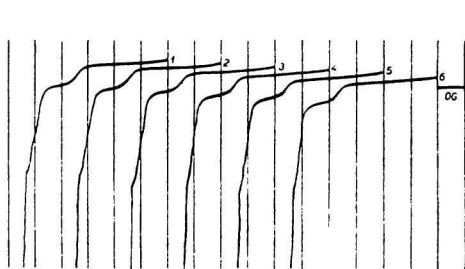
Polarogram 1. Anodické vlny kyseliny askorbovej v jednotlivých extraktoch toho istého 10 g návažku kalerábu a redkovky, získaných s 10 ml acetátového tlmivého roztoku. *Krivky:* 1. 10 ml prvého extraktu kalerábu; 2. ako pri 1 + 0,5 ml 200 mg % roztoku kyseliny askorbovej; 3—6. 10 ml z ďalších extraktov kalerábu po pridaní 0,5 ml 200 mg % roztoku kyseliny askorbovej; 7. 10 ml prvého extraktu redkovky; 8—11. 10 ml z ďalších extraktov redkovky. Krivky od 10. drôtu späť; merkurosulfátová elektróda; citl. 1 70; 200 mV abs.

Pri polarografických analýzach väčších sérií vzoriek sa bežne používajú [3, 4, 5] kalibračné krivky kyseliny askorbovej, zhotovené na základe záznamu koncentračnej závislosti v čistom základnom elektrolyte. V snahe zistiť, či tento spôsob vyhovuje pre hodnotenie anodických vln kyseliny askorbovej v rastlinných extraktoch, urobili sme kalibračné polarogramy priamo v rozličných rastlinných extraktoch alebo šťavách. Hodnoty I_d v mm pri zostrojení grafu 1 a 2 sme vypočítali tak, že sme od celkovej výšky vlny kyseliny askorbovej poskytovanej pridaným štandardným roztokom odčítali výšku vlny kyseliny askorbovej v čistom extrakte po príslušných korekciách na objem. Používali sme $1,5 \cdot 10^{-2}$ M roztok kyseliny askorbovej v acetátovom tlmivom roztoku, ktorý bol nasýtený dusíkom (polarogram 2). Takto pripravený štandardný roztok vydrží 8 hodín. Štandardný roztok o tej istej koncentrácii sme používali aj v 1,5 % kyseline metafosforečnej, ktorý bezo zmeny vydrží 3 dni (polarogram 3).

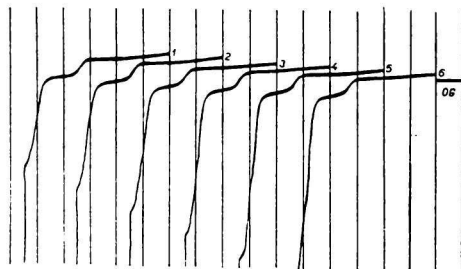
Na extrakciu kyseliny askorbovej z návažku zeleniny alebo ovocia sme používali rozdielne množstvo acetátového tlmivého roztoku. Preto sme skúmali vplyv zriedenia rastlinných štiav týmto roztokom na smernice kalibračných kriviek zhotovených pre tieto šťavy. Najviac sme v tomto smere skúmali šťavu kalerábu. Používali sme kaleráb zimnej odrody z úrody 1955. Šťavu kalerábu na pokusy sme získali rozotieraním 80—100 g návažku kalerábu so suchým pieskom v porcelánovej trecej miske a vytlačením šťavy cez gázu.

V ý s l e d k y

Kyselina askorbová sa acetátovým tlmivým roztokom z rastlinného materiálu ľahšie extrahuje než SH-látky. Takýmto názorným príkladom je polarogram 1 a tab. 1. Pri kapuste, kalerábe a väčšine druhov zeleniny a ovocia stačí jednorazová extrakcia návažku, aby sme vyextrahovali 95—99 % všetkej kyseliny askorbovej.



Polarogram 2.



Polarogram 3.

Polarogram 2. Kalibračný polarogram kyseliny askorbovej v šťave rajčín s jej $1,5 \cdot 10^{-2}$ M roztokom v acetátovom tlmivom roztoku. *Krivky:* 1. 10 ml čistej šťavy rajčín; 2—6. ako pri 1 vždy po pridaní 0,2 ml $1,5 \cdot 10^{-2}$ M roztoku kyseliny askorbovej. Krivky od 10. drôtu späť; merkurosulfátová elektróda; citl. 1 : 70; 200 mV abs.

Polarogram 3. Kalibračný polarogram kyseliny askorbovej v takej istej šťave rajčín ako pri polarograme 2 s jej $1,5 \cdot 10^{-2}$ M roztokom v 1,5 % kyseline metafosforečnej a 4 % kyseline octovej. *Krivky:* 1. 10 ml čistej šťavy rajčín; 2—6. ako pri 1 vždy po pridaní 0,2 ml $1,5 \cdot 10^{-2}$ M roztoku kyseliny askorbovej. Krivky od 10. drôtu späť; merkurosulfátová elektróda; citl. 1 : 70; 200 mV abs.

Tab. 1. Prehľad výsledkov štvornásobného extrahovania kyseliny askorbovej a SH-látok s acetátovým tlmivým roztokom z piatich druhov zeleniny

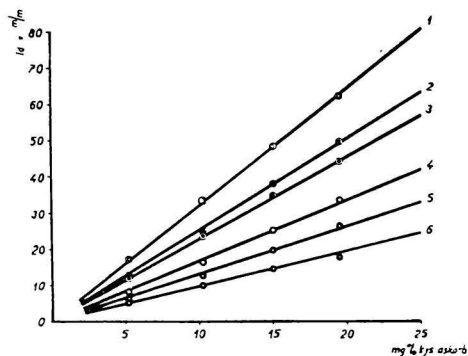
č. vz.	druh zeleniny	% SH-látok (1)				% kyseliny askorbovej (1)			
		vyextrahované z toho istého 10 g návažku zeleniny s 10 ml acetátového tlmivého roztoku na							
		1 krát	2 krát	3 krát	4 krát	1 krát	2 krát	3 krát	4 krát
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	kaleráb	64,0	20,0	13,0	3,0	98,0	2,0	—	—
2	kapusta	65,0	13,6	11,8	9,6	99,0	1,0	—	—
3	redľkovka	71,0	18,0	7,3	3,7	65,0	20,0	10,6	4,4
4	petržlen (vňať)	62,5	22,3	10,7	4,5	70,0	28,1	1,9	—
5	špenát	41,5	24,2	22,5	11,8	57,0	33,0	10,0	—

(1) Za 100 % sme považovali obsah kyseliny askorbovej alebo SH-látok, ktorý sme vo všetkých štyroch extraktoch zistili metódou štandardného pridania.

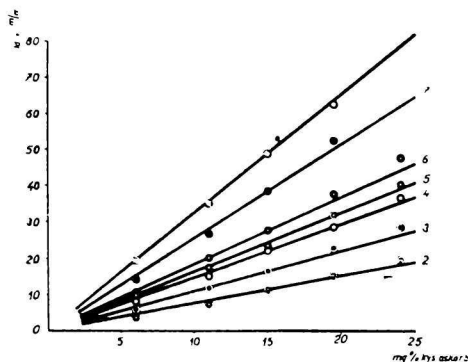
Na dosiahnutie podobných výsledkov pri redľkovke, špenáte, vňati petržlenu, pri šťaveli, zelenej fazuli a hrášku musíme urobiť najmenej trojnásobnú extrakciu. SH-látky sa pomerne ťažšie extrahujú zo všetkých druhov zeleniny a ovocia, okrem dužiny melóna, rajčín a uhoriek, z ktorých sa získa až 95 % obsahu všetkej kyseliny askorbovej aj SH-látok jednoduchým vytlačením šťavy z návažku cez gázu.

Polarografická analýza s úplnou prípravou rastlinného extraktu trvá 10—15 minút. Zakalené a farebné extrakty nie sú na závädu, takže odpadá zdĺhavá filtrácia, cdfarbovanie, prípadne iné úkony za účelom odstránenia interferujúcich látok, čo obyčajne vy-

žaduje ktorákoľvek titračná alebo kolorimetrická metóda na stanovenie kyseliny askorbovej v rastlinnom materiáli. Tieto výhody polarografickej metódy dovoľujú upustiť od používania extrakcie s roztokom kyseliny metafosforečnej, ktorá má najväčší stabilizujúci účinok na kyselinu askorbovú. Jej prítomnosť v rastlinných extraktoch má však nepriaznivý vplyv na zakončenie difúzneho prúdu kyseliny askorbovej, takže sťažuje odčítanie vln. Na túto nevýhodu kyseliny metafosforečnej poukázal už Günther [5].



Graf 1.



Graf 2.

Graf 1. Kalibračné krivky zhotovené na základe záznamu koncentračnej závislosti s $1,5 \cdot 10^{-2}$ M roztokom kyseliny askorbovej. *Priamky:* 1. pre acetátový tlmivý roztok o pH 4,7; 2. pre extrakt kalerábu (10 g vzorky + 20 ml acetátového tlmivého roztoku); 3. pre extrakt zelenej papriky (15 g vzorky + 30 ml acetátového tlmivého roztoku); 4. pre štavu rajčín; 5. pre extrakt vňate petržlenu (10 g vzorky + 30 ml acetátového tlmivého roztoku); 6. pre extrakt špenátu (10 g vzorky + 20 ml acetátového tlmivého roztoku).

Graf 2. Kalibračné krivky zhotovené na základe záznamu koncentračnej závislosti s $1,5 \cdot 10^{-2}$ M roztokom kyseliny askorbovej. *Priamky:* 1. pre acetátový tlmivý roztok o pH 4,7; 2. pre extrakt špenátu (10 g vzorky + 10 ml acetátového tlmivého roztoku); 3. pre extrakt špenátu (10 g vzorky + 20 ml acetátového tlmivého roztoku); 4. pre extrakt špenátu (10 g vzorky + 40 ml acetátového tlmivého roztoku); 5. pre extrakt redkovky (10 g vzorky + 10 ml acetátového tlmivého roztoku); 6. pre extrakt redkovky (10 g vzorky + 20 ml acetátového tlmivého roztoku); 7. pre extrakt redkovky (10 g vzorky + 40 ml acetátového tlmivého roztoku).

Na grafe 1 a 2 vidieť, že kalibračné krivky zhotovené na základe záznamu koncentračnej závislosti kyseliny askorbovej v rastlinných extraktoch majú zreteľne menšiu smernicu (priamky 2—7) ako podobne zhotovená kalibračná krivka pre základný elektrolyt (priamka 1). Preto vyhodnotenie polarografických vln kyseliny askorbovej, zaznamenaných v rastlinných extraktoch podľa kalibračnej krivky pre základný elektrolyt, je viac-menej chybné, čo závisí od druhu rastlinného materiálu a od množstva acetátového tlmivého roztoku použitého na prípravu extraktu. Veľkosť chyby takéhoto vyhodnotenia ilustruje tab. 2, kde sme porovnali výsledky polarografických analýz 10 vzoriek červeného melóna a kapusty, získané metódou štandardného pridania, s výsledkami, ktoré sme odčítali jednak z kalibračnej krivky pre štavu jednej vzorky melóna alebo extraktu kapusty, jednak z kalibračnej krivky kyseliny askorbovej pre základný elektrolyt.

Tab. 2. Porovnanie výsledkov polarografických stanovení kyseliny askorbovej v 10 vzorkách melóna a kapusty, ktoré sa získali odčítaním z kalibračných kriviek zhotovených pre štavu a extrakt jednej vzorky a pre základný elektrolyt, s výsledkami získanými pre uvedené vzorky metódou štandardného prídania

mg kyseliny askorbovej v 100 g návažku určené											
v červenom melóne metódou						v zimnej kapuste metódou					
č. vz.	štandard. prídanie do štavý vzoriek	odčítaním z kalibr. krivky pre štavu jednej vzorky	rozdiel v %	odčítaním z kalibr. krivky pre základný elektrolyt	rozdiel v % voči metóde štand. príd.	č. vz.	štandard. prídanie do štavý vzoriek	odčítaním z kalibr. krivky pre štavu jednej vzorky	rozdiel v %	odčítaním z kalibr. krivky pre základný elektrolyt	rozdiel v % voči metóde štand. príd.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	4,7	4,4	— 6,4	3,9	— 17,0	1	7,6	7,0	— 7,9	4,1	— 46,0
2	2,6	2,5	— 3,8	2,2	— 15,8	2	5,2	5,0	— 3,8	2,8	— 46,4
3	2,3	2,1	— 8,7	2,0	— 13,0	3	23,2	25,4	+ 9,5	15,2	— 34,5
4	4,8	4,4	— 8,3	3,9	— 18,7	4	15,1	15,5	+ 2,6	9,1	— 39,7
5	2,2	2,3	+ 4,5	2,0	— 9,1	5	5,1	4,9	— 3,9	2,7	— 47,0
6	2,7	2,6	— 3,7	2,3	— 14,9	6	11,3	11,5	+ 1,8	6,7	— 40,8
7	3,0	2,8	— 6,7	2,5	— 16,7	7	12,6	12,7	+ 0,8	7,6	— 39,6
8	2,7	2,6	— 3,7	2,3	— 14,9	8	17,5	15,4	— 12,0	8,8	— 49,5
9	4,1	4,2	+ 2,4	3,6	— 12,4	9	8,2	9,3	— 13,4		— 30,5
10	2,7	2,5	— 7,4	2,2	— 18,5	10	5,9	6,7	+ 13,5	4,0	— 32,2
priemerný rozdiel			— 5,6	—	— 15,1	priemerný rozdiel			± 6,9	—	— 40,6

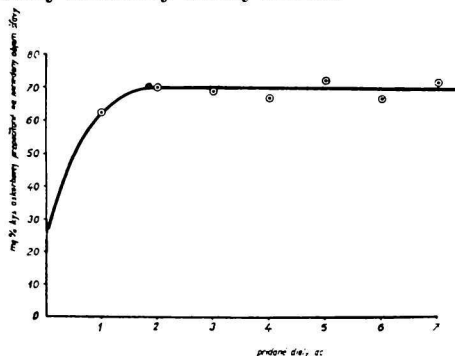
Smernica kalibračnej krivky pre rastlinný extrakt z toho istého druhu rastlinného materiálu, ako vidieť z grafu 2, je ovplyvnená množstvom použitého acetátového tlmivého roztoku na prípravu extraktu. Čím viac acetátového tlmivého roztoku použijeme na prípravu extraktu, tým viac sa blížíme k pomerom pre čistý základný elektrolyt. Táto skutočnosť je závažná pre záznam koncentračnej závislosti v rastlinných extraktoch. Je zrejmé, že musíme pre tento účel použiť takým istým spôsobom pripravený extrakt ako pri sériových analýzach a okrem toho musíme použiť koncentrovaný štandardný roztok kyseliny askorbovej, aby sme štandardným prídavkom rastlinný extrakt príliš nezriedili, lebo potom koncentračná závislosť nie je lineárna.

Porovnaním polarogramov 2 a 3 možno zistiť, že štandardný roztok kyseliny askorbovej v 1,5 % kyseline metafosforečnej, ktorá obsahuje 4 % kyseliny octovej, nemôže sa použiť pre koncentračný záznam v štave rajčín, ktorý po vyhodnotení nie je lineárny. Podobné výsledky sme dostali pre extrakty kalerábu a kapusty. Pre extrakty vňate petržlenu, špenátu, zelenej papriky sme získali koncentračné závislosti lineárne, ale smernice kalibračných kriviek boli oveľa menšie v porovnaní so smernicami kalibračných kriviek zhotovených za rovnakých podmienok so štandardným roztokom kyseliny askorbovej v acetátovom tlmivom roztoku. Poznnamenávame, že kalibračné krivky zhotovené pre základný elektrolyt s obidvoma štandardnými roztokmi boli úplne rovnaké. Z týchto výsledkov usudzujeme, že tu nejde o vplyv samej kyseliny metafosforečnej, ale že tu

spolupôsobia nejaké neznáme látky v rastlinných extraktoch. Podľa našich skúseností pri polarografickom stanovení kyseliny askorbovej a SH-látok v 44 druhoch zeleniny a ovocia [6] je najlepšie používať pre všetky úkony acetátový tlmivý roztok.



Polarogram 4.



Graf 3.

Polarogram 4. Anodické vlny SH-látok a kyseliny askorbovej v čistej šťave kalerábu po zriedovaní acetátovým tlmivým roztokom. *Krivky*: 1. 5 ml čistej šťavy kalerábu; 2—5. ako pri 1 vždy po pridaní 5 ml acetátového tlmivého roztoku; citl. 1 : 20; 1' ako pri 1; citl. 1 : 70; 2'—5'. ako pri 2—5; citl. 1 : 70; krivky od 10. drôtu späť; merkurosulátová elektróda; 200 mV abs.

Graf 3. Závislosť obsahu kyseliny askorbovej v čistej šťave kalerábu, stanoveného polarografickou metódou štandardného pridania, od zriedenia šťavy acetátovým tlmivým roztokom o pH 4,7.

Ak sme rastlinnú šťavu napr. z redkovky, špenátu, vňate petržlenu zriedili acetátovým tlmivým roztokom v pomere 1 : 1, difúzny prúd kyseliny askorbovej neklesol na polovičnú hodnotu. Je dobre známe, že takýto úkaz nenastáva v čistom základnom elektrolyte, pretože by to odporovalo priamej úmernosti medzi difúznym prúdom a koncentráciou depolarizátora. Osobitnú pozornosť sme venovali šťave kalerábu, pri ktorej jedinej zo skúmaných rastlinných štiav sme dostali výsledky priam prekvapujúce. Pri zriedení čistej šťavy kalerábu acetátovým tlmivým roztokom v pomere 1 : 1 nenastal pokles difúzneho prúdu kyseliny askorbovej, ale naopak nastal vzostup a pokles sa prejavil až pri ďalšom zriedení (polarogram 4). Takýto úkaz sme nepozorovali pri polarografickom skúmaní SH-látok, ktorých koncentrácia riedením zreteľne klesá aj v šťave kalerábu (polarogram 4, krivky 1—5). Na grafe 3 vidieť, ako sa mení koncentrácia kyseliny askorbovej, vzťahujúca sa na počiatočný objem šťavy kalerábu, ktorú sme stanovili metódou štandardného pridania pri jednotlivých pomeroch riedenia.

Na základe uvedených výsledkov uzatvárame, že polarografické stanovenie kyseliny askorbovej i SH-látok treba pri väčšine druhov rastlinného materiálu robiť v šťave zriedenej základným elektrolytom prinajmenej v pomere 1 : 1 až 1 : 2. Polarografické stanovenie uvedených látok môžeme robiť priamo iba v šťave melóna, rajčín a uhoriek.

Diskusia

Lahšiu extrakciu kyseliny askorbovej z rastlinného materiálu v porovnaní s extrakciou SH-látok si vysvetľujeme tým, že SH-látky (SH-glutatión) sú výlučne intracelulárnou zložkou [7], kým kyselinu askorbovú obsahujú aj

mimobunkové tekutiny. Okrem toho ako SH-látky sa môžu extrahovať aj vyššie rastlinné polypeptidy než SH-glutatión, pri ktorých predpokladáme oveľa menšiu rozpustnosť vo vode v porovnaní s SH-glutatiónom alebo cysteínom.

Na extrahovanie kyseliny askorbovej z rastlinného materiálu nemusíme používať kyselinu metafosforečnú alebo kyselinu oxalovú, o ktorých je známe, že majú stabilizujúci účinok na kyselinu askorbovú, ak stanovenie urobíme rýchlo, čo práve umožňuje polarografická metóda. Oxydáciu kyseliny askorbovej v rastlinných extraktoch vykonávajú najmä aeróbne oxydázy, ktorých činnosť závisí od prítomnosti stopových množstiev medi, molekulového kyslíka a je urýchľovaná zvýšenou teplotou a svetlom. Preto kyselinu askorbovú dostatočne chránime pred oxydáciou, ak pracujeme za anaeróbných podmienok. Všetky roztoky a extrakty sýtíme napr. plynným N_2 , CO_2 alebo H_2 . Extrakciu nerobíme za zvýšenej teploty a na priamom slnečnom svetle. Konечно aj niektoré rastlinné šťavy samy obsahujú látky, ktoré chránia kyselinu askorbovú voči oxydácii alebo ju spomaľujú. Uvedené oxydázy nie sú rovnako rozšírené v rastlinnom materiáli. Najviac sú rozšírené v zrelom ovocí [8, 9].

Z grafu 1 a 2 sme zistili, že výška vlny kyseliny askorbovej po pridaní toho istého množstva jej štandardného roztoku závisí v rastlinných extraktoch od druhu zeleniny alebo ovocia, ako aj od zriedenia extraktu acetátovým tlmivým roztokom. Podobný zjav sme pozorovali aj pri polarografických analýzach SH-látok v rastlinnom materiáli [10]. Vtedy sme tento úkaz vysvetľovali vplyvom povrchove aktívnych látok, ktoré sa v rozličných druhoch rastlinného materiálu vyskytujú kvalitatívne i kvantitatívne v rozdielnych množstvách. O povrchove aktívnych látkach je známe, že v niektorých prípadoch vplývajú na celkový difúzny prúd tým, že spomaľujú elektródový dej [11]. Ich vplyv nevyklúčujeme ani v tomto prípade, hoci pri skúšaní rôzne koncentrovaných roztokov želatíny v acetátovom tlmivom roztoku sme zistili len nepatrný vplyv týchto roztokov na difúzny prúd kyseliny askorbovej i SH-glutatiónu. Z pokusov so šťavou kalerábu (polarogram 4 a graf 3) a s niektorými ďalšími natívnymi šťavami usudzujeme, že uvedené javy môžu byť okrem povrchove aktívnych látok spôsobené aj viazaním kyseliny askorbovej na doteraz neznáme látky v rastlinnom materiáli. Táto väzba má pravdepodobne charakter medzimolekulových síl a nastáva pomocou vodíkových mostíkov, alebo tu ide o ľahko hydrolyzovateľnú väzbu (už pri zriedení acetátovým tlmivým roztokom) kyseliny askorbovej na doteraz neznámu rozpustnú rastlinnú bielkovinu alebo nebielkovinovú zlúčeninu. Z polarogramu 4 je zrejmé, že väčšia časť kyseliny askorbovej v samej šťave kalerábu nepodlieha elektródovému deju a je pravdepodobne chránená aj voči oxydácii vzdušným kyslíkom. Kyselina askorbová zvláštnym spôsobom viazaná v šťave

kalerábu mohla by mať účel ako chránená zásoba. Túto skutočnosť podporujú rozborý P. B. Marthura a spolupracovníkov [12], ktorí nezistili straty na kyseline askorbovej a vode pri kalerábe, skladovanom 98 dní pri teplote $+1^{\circ}\text{C}$. Podľa Procházku a spolupracovníkov [13] kaleráb obsahuje malé množstvo askorbigenú, takže si nemôžeme uvedené zachovanie obsahu kyseliny askorbovej v kalerábe vysvetliť vysokým obsahom jej formy viazanej na askorbigen, ktorý skôr má úlohu pri metabolických procesoch [14] a jeho väzba s kyselinou askorbovou je taká silná, že sa štiepi len silnými minerálnymi kyselinami.

Z nášho experimentálneho materiálu ešte nemôžeme objasniť všetky uvedené pozorovania. V tejto práci zdôrazňujeme predovšetkým ich význam a vplyv na presné polarografické stanovenie kyseliny askorbovej a SH-látok v rastlinnom materiáli.

Súhrn

Pri polarografickom stanovení kyseliny askorbovej v rastlinnom materiáli sa kvantitatívne vyhodnotenie jej difúzneho prúdu dosiahne okrem metódy štandardného pridania aj pomocou kalibračných kriviek, zhotovených na základe záznamu koncentračnej závislosti kyseliny askorbovej priamo v rastlinných extraktach a nie v základnom elektrolyte. Smernica tejto kalibračnej krivky sa mení podľa druhu rastlinného materiálu; pri tom istom druhu sa mení podľa zriadenia rastlinnej šťavy acetátovým tlmivým roztokom o pH 4,7. Preto pri každom druhu rastlinného materiálu robíme sériové analýzy a kalibračný polarogram pri rovnakom pomere acetátového tlmivého roztoku k návažku vzorky.

Polarografické stanovenie kyseliny askorbovej je pri väčšine druhov presné len v rastlinných šťavách zriadených najmenej v pomere 1 : 1 (pri štave kalerábu 1 : 2) acetátovým tlmivým roztokom, pomocou ktorého je výhodná aj extrakcia rastlinného materiálu za anaeróbnych podmienok.

Uvedené zistenia sa vysvetľujú vplyvom povrchove aktívnych látok prítomných v rastlinnom extrakte, ako aj schopnosťou rastlinných štiav viazať kyselinu askorbovú tak, že nepodlieha elektródovému deju. Táto jej schopnosť sa zistila najmä v čistej šťave kalerábu.

ЗАМЕТКА К ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ Л-АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ

ИОСИФ СЕДЛАК

Эндокринологический институт Словацкой Академии Наук в Братиславе

Выводы

При полярографическом определении аскорбиновой кислоты в растительном материале, достигается количественное оценивание ее диффузивного тока кроме метода стандартной прибавки также при помощи калибрационных кривых, составленных на

основании записей концентрационной зависимости аскорбиновой кислоты, прямо в растительных экстрактах, но не в самом электролите. Направление этой калибрационной кривой изменяется в зависимости от сорта растительного материала; при том же самом сорте изменяется в зависимости от разрежения растительного сока ацетатовым буферным раствором о значении pH 4,7. Поэтому у каждого сорта растительного материала проводим сервевые анализы и калибрационную полярограмму при одинаковом отношении ацетатогов буферного раствора к весу пробы.

Полярографическое определение аскорбиновой кислоты является точным у большинства сортов только у разреженных соков наименьше в отношении 1 1, у сока кольраби 1 : 2, ацетатовым буферным раствором, который является выгодным применить для экстракции растительного материала при анаэробных условиях.

Приведенные наблюдения автор объясняет влиянием поверхностно-активных веществ, присутствующих в растительном экстракте а также и способностью растительных соков вязать аскорбиновую кислоту так, что она не подвергается электродовому действию, что было обнаружено главным образом в чистом соке кольраби.

Поступило в редакцию 23. III. 1956 г

BEITRAG ZUR POLAROGRAPHISCHEN BESTIMMUNG DER L-ASCORBINSÄURE IM PFLANZENMATERIAL

JOZEF SEDLÁK

Endokrinologisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften
in Bratislava

Zusammenfassung

Bei der polarographischen Bestimmung der Ascorbinsäure im Pflanzenmaterial erzielt man eine quantitative Auswertung ihres Diffusionsstroms ausser nach der Methode des standardisierten Zufügens auch mit Hilfe der Kalibrationskurven, die auf der Grundlage der Aufzeichnung der Konzentrationsabhängigkeit der Ascorbinsäure direkt in den Pflanzenextrakten angefertigt werden, also nicht im Grundelektrolyt. Die Richtungskonstante dieser Kalibrationskurven ändert sich nach der Art des Pflanzenmaterials; bei der gleichen Art ändert sie sich gemäss der Verdünnung des Pflanzensafts mit der Acetat-Pufferlösung von pH 4,7. Deshalb führt der Autor bei jeder Art des Pflanzenmaterials Serienanalysen und das Kalibrationspolarogramm bei dem gleichen Verhältnisse der Acetat-Pufferlösung zur Einwaage des Musters aus.

Die polarographische Bestimmung der Ascorbinsäure ist bei der Mehrzahl der Arten nur in verdünnten Pflanzensäften genau, wenigstens im Verhältnis 1 1, bei Kohlrabisäften 1 : 2, in Verdünnung mit der Acetat-Pufferlösung, mit welcher man vorteilhaft auch die Extraktion des Pflanzenmaterials unter anaeroben Bedingungen ausführt.

Der Autor erklärt die angeführte Feststellung durch den Einfluss oberflächenaktiver Stoffe, die im Pflanzenextrakte anwesend sind, und auch durch die Fähigkeit der Pflanzensäfte, die Ascorbinsäure so zu binden, dass sie nicht dem Elektrolytgeschehen unterliegt, wobei diese Fähigkeit besonders bei reinem Kohlrabi-Saft festgestellt wurde.

In die Redaktion eingelangt den 23. III. 1956

LITERATÚRA

1. Roe J. H., Mills M. B., Oesterling M. J., Damron C. M., J. biol. Chem. 174, 201 (1948).
2. Zuman P., Chem. Listy 46, 73 (1952).
3. Blattná J., Fragner J., Šanda V., Zuman P., Žuffová D., Průmysl potravin 4, 402 (1953).
4. Březina M., Zuman P., *Polarografie v lékařství, biochemii a farmácii*, Praha 1952, 226.
5. Günther E., Pharmazie 6, 577 (1951).
6. Sedlák J., Kaločai Š., Chem. Zvesti (v tlači).
7. Wealsch H., Advances in Enzymology 13, 237 (1952).
8. Catel W., Schuphan W., Barth L., Kathen H., Weinmann J., Biochem. Z. 325, 109 (1954).
9. Rahman B., Joslyn M. A., Mitt. Klosternenberg Ser. B. Obst. u. Garten 4, 49 (1954); Chem. Abstr. 48, 7707 h (1954).
10. Sedlák J., Chem. Zvesti 9, 397 (1955).
11. Zuman P., Chem. Zvesti 8, 789 (1954).
12. Marthur P. B., Singh K. K., Kapur N. S., Indian J. Hort. 9, 8 (1952); Chem. Abstr. 48, 1601 e (1954).
13. Procházka Ž., Šanda V., Chem. Listy 48, 898 (1954).
14. Terentieva E. L., Biochimija 18, 297 (1953).

Došlo do redakcie 23. III. 1956