

М. ГУДЛЕТ и Е. КАРДО-СЫСоеВА

**ОКИСЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ВИТАМИНА С)
В РАСТЕНИЯХ**

(Представлено академиком А. Н. Бахом 19 XII 1936)

Витамин С (аскорбиновая кислота) встречается в растениях в двух биологически активных формах: восстановленной и окисленной. Общее количество и количественное соотношение этих форм у разных растений различно. При длительном хранении растительных продуктов находящаяся в них аскорбиновая кислота бывает в различной степени устойчива. Исчезновение аскорбиновой кислоты как биологически действующего, антицинготного начала обуславливается окислением ее кислородом воздуха в присутствии окислительной ферментной системы. Представляется очень важным изучение тех условий, в которых аскорбиновая кислота находится в живом растении, и факторов, влияющих на скорость ее окисления.

Для осуществления поставленной задачи необходима методика, позволяющая изучать как аскорбиновую кислоту, так и весь ферментный комплекс, по возможности в нативном состоянии. Для определения содержания аскорбиновой кислоты в растениях существует предложенный Тильмансом метод кислых вытяжек, в которых окисление аскорбиновой кислоты действительно замедляется. Но этот метод дает возможность определять только восстановленную форму аскорбиновой кислоты в растении, и кроме того присутствующая кислота разрушает окислительную систему, которую нужно сохранить в неприкосновенности для ее дальнейшего изучения. В виду этого авторы разработали методику исследования обеих форм аскорбиновой кислоты в водных вытяжках в условиях отсутствия доступа воздуха, для чего сконструировали специальную камеру, в которой все манипуляции производились в атмосфере CO_2 , начиная с измельчения растительного материала и кончая приготовлением водных вытяжек и титрованием последних (по методу Тильманса).

Далее в вытяжках исследовали активность и характер находящейся в них окислительной ферментной системы. Для этого авторы приспособили аппаратуру, в которой через вытяжки, налитые в вертикально поставленные бюретки, пропускали ток кислорода и из этих бюреток брали по срокам пробы для учета изменений, происходящих с аскорбиновой кислотой. При этом в пробах определяли количества аскорбиновой кислоты в восстановленной и окисленной формах. Количественные определения аскорбиновой кислоты вели по методу Тильманса путем прямого титрования вытяжек

из растений, а также титрования с предварительным пропуском сероводорода. Приняв условные обозначения: C_r —восстановленная форма аскорбиновой кислоты, C_o —обратимо-окисленная форма (дигидроаскорбиновая кислота), (C) —необратимо окисленная форма, авторы следующим образом определяли аскорбиновую кислоту в разных формах:

C_r —титрование по Тильмансу без пропускания H_2S ,

$C_r + C_o$ —титрование после пропускания H_2S ,

C_o —определяли по разности этих двух титрований,

(C) —вычисляли по разности между $(C_r + C_o)$ до и после проведения окислительного процесса.

Окислительный метод позволяет изучать динамику процессов окисления, а также судить о силе и характере действия окислительных агентов, находящихся в изучаемом растительном материале. Так например, замечено, что в некоторых растительных продуктах в этих условиях окисление восстановленной аскорбиновой кислоты идет только до обратимо-окисленной фазы (C_o), а в других оно заходит дальше, до превращения C_r в (C) .

Вторым важным моментом работы явилось изучение значения «форменных элементов» растений в балансе состояний аскорбиновой кислоты. Под обозначением «форменные элементы» авторы понимали те обрывки тканей растительного материала, которые остаются на фильтре после тщательного промывания до отсутствия аскорбиновой кислоты. Оказывается, что прибавление их к водной вытяжке резко меняет силу и направление окислительного процесса. Исследование показало, что в «форменных элементах» многих растений содержится сильный окислительный агент, не извлекаемый из них водой. Эти исследования подводят к изучению факторов, определяющих динамику изменений аскорбиновой кислоты в каждом данном растительном материале.

Вся совокупность описанных исследований позволила авторам характеризовать различные продукты не только по нативному наличию в них аскорбиновой кислоты в восстановленной и окисленной форме, но также и по активности и характеру содержащейся в них окислительной системы, и даже в некоторых случаях судить о свойствах отдельных компонентов этой системы, переходящих в водную вытяжку и остающихся в «форменных элементах» ткани.

В табл. 1 сведена характеристика некоторых растений, данная по описанному выше методу.

В общем случае богатство витамином С, особенно в восстановленной форме, связано со слабой окислительной системой (табл. 1, шиповник) и обеспечивает хорошую устойчивость витамина С при пропускании кислорода. Напротив, сильная окислительная система (яблоки) влечет быстрое разрушение витамина С. Что касается хрена, то он представляет более сложный случай, подробно разобранный ниже.

Далее авторы подвергли детальному изучению вытяжку и «форменные элементы» у хрена. Для чистоты опыта «форменные элементы» тщательно измельчали и промывали водой, а вытяжку фильтровали через свечу Шамберлена. Выяснилось принципиально различное действие «форменных элементов» и фильтрата после ультрафильтрации на превращение аскорбиновой кислоты (как содержащейся в ультрафильтрате, так и прибавленной извне). В хрене существуют два различных окислительных агента: один из них переходит в водную вытяжку и действует только на обратимо-окисленную аскорбиновую кислоту, ведя ее дальнейшее окисление до стадии необратимого окисления [$(C_o \rightarrow (C))$]. Второй, неводнорастворимый, остается в «форменных элементах» ткани и действует только на восстанов-

Таблица 1

Характеристика различных растений:

1) по нативному содержанию C_r и C_0 , 2) по окисляемости в них C_r и C_0 , 3) по влиянию «форменных элементов» на процесс окисления в вытяжке

Объект	Прибавлено 0.5 г «форм. эл.» к 50 мг вытяжки	Форма аскорбиновой кислоты	Количество аскорбиновой кислоты в разных формах по титрованию		Сроки пропуска O_2	Предполагаемый характер окислительного процесса		Содержание аскорбиновой кислоты в мг на 10 г объекта	
			начальное	после пропуска O_2		$C_r \rightarrow C_0$	$C_0 \rightarrow (C)$	C_r	C_0
Хрен	—	C_r C_0 (C)	9.1 8.4 —	7.3 7.2 3.0	1 ч.	1.8	1.2	19.0	17.8
	+	C_r C_0 (C)	8.6 8.9 —	0.0 17.5 0.0	1 ч.	8.6	0.0		
Шиповник	—	C_r C_0 (C)	2.8 0.3 —	2.4 0.7 0.0	1 ч.	0.4	0.0	70.5	7.5
	+	C_r C_0 (C)	2.8 0.3 —	2.7 0.4 —	1 ч.	0.1	0.0		
Яблоко * (Антоновка)	—	C_r	2.7	0.9	15 м.	1.8	—	0.0	0.0
	+	C_r	2.7	0.0	15 м.	2.7	—		
	+	C_r C_0 (C)	3.6 0.0 —	0.0 2.4 1.2	15 м.	3.6	1.2		

ленную аскорбиновую кислоту, окисляя ее до стадии обратимого окисления ($C_r \rightarrow C_0$) (табл. 2). Действительно, проверка действия обоих агентов на искусственно приготовленные растворы C_r и C_0 химически чистого препарата подтверждает указанную специфичность действия каждого из них.

* К яблоку прибавлена химически чистая аскорбиновая кислота, так как взятый нами для опыта объект своей не содержит. В данном опыте вытяжки не ультрафильтрованы.

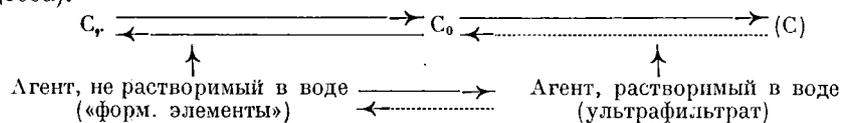
Таблица 2

Окислительное действие «форменных элементов» и ультрафильтрата хрена на аскорбиновую кислоту (C_r)

Прибавлено к раствору аскорбиновой кислоты	Форма аскорбиновой кислоты	Количество аскорбиновой кислоты в разных формах по титрованию (в см ³ краски)		Предполагаемый характер окислительного процесса (в см ³ краски)	
		начальное	после пропуска O ₂ (1 час)	$C_r \rightarrow C_0$	$C_0 \rightarrow (C)$
—	C_r C_0 (C)	10.0 0.0 —	9.5 0.5 0.0	0.5	0.0
«Форменные элементы» хрена	C_r C_0 (C)	10.0 0.0 —	5.9 4.1 0.0	4.1	0.0
Ультрафильтрат хрена	C_r C_0 (C)	14.0 7.8 —	14.0 4.6 3.2	0.0	3.2

Кроме того доказано взаимодействие этих двух окислительных агентов хрена в присутствии кислорода: агент «форменных элементов» при этом совершенно не изменяется, но инактивирует «разрушительную» способность воднорастворимого агента (ультрафильтрата) и сообщает ему свойственную ему самому способность к обратимому окислению восстановленной аскорбиновой кислоты.

Процессы, связанные с превращениями витамина С в хрене, можно выразить в виде схемы (пунктирная стрелка изображает возможные ходы процесса):



Эту схему в хрене авторы рассматривают как основную, полагая, что принцип существования отдельных окислительных агентов для различных фаз окисления должен быть универсален. Что же касается наличия соотношения активностей и возможности разделения этих, по крайней мере, двух агентов у других растений, то здесь возможны самые разнообразные варианты. Так например, изучение окислительной системы в «форменных элементах» и ультрафильтрате у яблока оказало полное окислительное действие [$C_r \rightarrow (C)$] в обоих случаях, но особенно высокой активностью обладают «форменные элементы». Приблизительно та же картина наблюдается у капусты, но общая активность у яблока выше.

Если найденное соотношение окислительных факторов в различных растениях поставить в связь с найденным в них количественным соотношением отдельных форм аскорбиновой кислоты (восстановленной и окислен-

ной), то можно до известной степени судить об устойчивости аскорбиновой кислоты в растении.

Как сказано выше, шиповник и яблоко представляют в этом отношении простой пример (табл. 1). Теперь на основе изучения отдельных окислительных агентов у хрена мы можем подойти к объяснению явлений, происходящих также и в нем.

Выработанный метод, подводящий количественно основание под понятие «стабильность» аскорбиновой кислоты в растении, устанавливает в хрене богатую окислительную систему, казалось бы, обеспечивающую быстрое разрушение в нем витамина С. Между тем известно, что витамин С прекрасно сохраняется в хрене в течение года и более при хранении его на складе. Разъяснение этого кажущегося противоречия лежит по мнению авторов в следующем: для осуществления процесса окисления в растении необходимо одновременное и территориально совместное действие трех факторов: аскорбиновой кислоты, кислорода и активного окислительного агента. В хрене происходит одно из двух: или аскорбиновая кислота и ее окислитель находятся вместе, а кислород воздуха, в виду малой проницаемости оболочек, не может проникнуть в клетку, или аскорбиновая кислота и ее окислитель территориально разделены в ткани, и даже при проникновении кислорода не получается совмещения всех трех факторов. При измельчении хрена на воздухе конечно смешиваются все части, и окисление беспрепятственно идет.

Таким образом для понимания механизма окислительных процессов чрезвычайно важно знать расположение отдельных окислительных агентов и аскорбиновой кислоты в ткани. Вместе с этим, изучив динамику окисления по принятому в этой работе методу и установив количественное соотношение восстановленной и окисленной формы аскорбиновой кислоты в данном растении, можно до известной степени предугадать скорость «исчезновения» в нем витамина С или способность его к длительному хранению.

Биохимическая лаборатория
Всесоюзного научно-исследовательского
витаминого института.
Ленинград.

Поступило
19 XII 1936.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Tillmans, P. Hirsch u. W. Hirsch, ZS. f. Unters. d. Lebensm., 63, № 1 (1932). ² Tillmans, Hirsch u. Sackisch, Ibidem, № 3. ³ Zilva, Biochem. Journ., 28, 663 (1934). ⁴ Tauber u. Kleiner, Journ. biol. Chem., 110, 559 (1935). ⁵ Tauber, Kleiner u. Miskind, Ibidem, 110, 211 (1935). ⁶ Букин, Труды по прикл. ботан., ген. и селекц. Всес. Ак. им. Ленина, с. III, № 8 (1935). ⁷ Damodaran u. Srinivasan, Curr. Sci., III, 553 (1935). ⁸ Srinivasan, Ibidem, IV, 407 (1935). ⁹ Безсонов, Сборн. по физиол. птиц Всес. Ак. им. Ленина, 123 (1936). ¹⁰ Hopkins u. Morgan, Biochem. Journ., 30, 1446 (1936).