

Я.К. Левая^{1,2}, Г.А. Атажанова^{1,2*}, Г.К. Курмантаева^{1,2}

¹Карагандинский университет имени академика Е.А. Букетова», Караганда, Казахстан;

²Медицинский университет Караганды, Караганда, Казахстан

*Автор для корреспонденции: g-atazhanova@mail.ru

Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты в растениях флоры Центрального Казахстана

В последние годы количественный анализ аскорбиновой кислоты (витамина С) вызывает все больший научный интерес в области биохимии, медицины, фармацевтического производства и производства пищевых продуктов в связи с тем, что витамин С играет важную роль в поддержании здоровья человека. Существует множество методов определения витамина С: спектрофотометрические, неспектрофотометрические, ВЭЖХ, титрование, ферментативный метод и флуориметрия. Нами проведено количественное определение аскорбиновой кислоты в высушенном растительном сырье *Fragaria vesca* L., листья; *Rubus saxatilis* L., листья и плоды; *Juniperus sabina* L, листья; *Ribes* L., листья, и *Pinus sylvestris* L методом кислотно-основного титрования 0,1М раствором NaOH. Было установлено, что исследуемые растения являются богатыми источниками аскорбиновой кислоты (витамина С). Исходя из результатов титриметрического анализа по определению содержания аскорбиновой кислоты, можно выявить ряд растений, которые могут быть потенциальными кандидатами для прохождения скрининга на антиоксидантную активность.

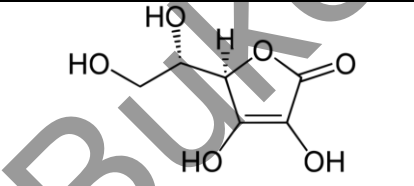
Ключевые слова: аскорбиновая кислота, титриметрия, количественное определение, витамин С, смородина, костяника, земляника, можжевельник, сосна.

Введение

Аскорбиновая кислота (далее — АК) является водорастворимым витамином, противцинготным и антиоксидантным продуктом, а также одним из основных веществ в рационе человека, необходимым для функционирования костной и соединительной ткани. Встречается в виде белых или слегка желтоватых кристаллов или порошка со слабым кисловатым привкусом, легко растворим в воде и подвержен потемнению под воздействием света. В сухом состоянии он достаточно стабилен на воздухе, но в растворе быстро окисляется. Химическое название аскорбиновой кислоты (витамина С) — L-аскорбиновая кислота, основные физико-химические характеристики представлены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Физико-химические свойства аскорбиновой кислоты

 <p>Аскорбиновая кислота (витамин С)</p>	Химическая формула	C ₆ H ₈ O ₆
	Молярная масса	176,12 г/моль
	Температура плавления	190–192 °С
	Растворимость:	
	- в воде	33 г/100 мл
	- в этаноле	2 г/100 мл
Константа диссоциации кислоты pK _a	4,10	

Витамин С, вероятно, является одним из наиболее известных витаминов. На сегодняшний день люди стали осознавать важность приема витамина С в профилактических дозах, что привело к увеличению количества продуктов, обогащенных витамином С на мировом рынке.

Витамин С обладает антиоксидантными и антирадикальными свойствами [1], что обуславливает способность нейтрализовать вредные свободные радикалы, такие как супероксиды, нитроксиды, гидроксиды, перекись водорода, и снижать содержание витамина Е. Витамин С очень чувствителен к окислению, в особенности когда он катализируется ионами металлов, такими как медь (II) и железо (III) [2]. Витамин С также играет решающую роль в транспорте электронов, реакциях гидроксирования и окислительном катаболизме ароматических соединений. В медицине витамин С применяется для лечения и профилактики простуды, психических заболеваний, бесплодия, цинги, рака и син-

дрома приобретенного иммунодефицита. Авторами [3] сообщается, что витамин С снижает риск развития рака, а также взаимодействует с другими витаминами. Суточная доза витамина С, согласно ВОЗ человека, колеблется от 45 до 100 мг, в зависимости от пола, возраста и индивидуальных особенностей человека [4].

В природе витамин С содержится во многих овощах и фруктах, входит в состав многих лекарственных растений. В связи с важностью присутствия в организме человека витамина С учеными проводятся поисковые исследования потенциальных источников витамина С. Растения семейства *Lamiaceae* являются источниками флавоноидов, фенольных кислот и витамина С, которые в совокупности обуславливают антиоксидантную активность растений и их экстрактов [5]. На сегодняшний день существует большое разнообразие титриметрических, спектрофотометрических, хроматографических и флуориметрических методов определения витамина С. Титриметрические методы определения являются простыми, быстрыми и технологически не сложными методами для определения количественного содержания аскорбиновой кислоты. Титриметрические методы используют при определении АК в растительном сырье и фармацевтических препаратах, их разделяют на окислительно-восстановительные (йодометрия, ферриметрия) и кислотно-основные. Авторами установлено, что результаты определения АК с помощью рефрактометра и титриметрического анализа являются идентичными, что свидетельствует об успешном применении титриметрического метода анализа в коммерческих фармацевтических продуктах [6]. Таким образом, нами были выбраны некоторые представители данного семейства флоры Центрального Казахстана с целью определения количественного содержания АК методом кислотно-основного титрования с использованием гидроксида натрия.

Материалы и методы

Растения *Fragaria vesca* L. (земляника), листья, *Rubus saxatilis* L. (костяника), листья и плоды, *Juniperus sabina* L. (можжевельник казацкий), листья, *Ribes* L. (смородина), листья, и *Pinus sylvestris* L. (сосна обыкновенная) были собраны в экспедиционных выездах по Карагандинской области в июне–августе 2023 года. Видовая принадлежность сырья была идентифицирована сотрудниками кафедры ботаники Карагандинского университета имени академика Е.А. Букетова.

Определение АК проводили в сырье (листьях, плодах) методом кислотно-основного титрования с использованием 0,1М раствора NaOH [7].

Приготовление рабочего раствора гидроксида натрия и индикатора фенолфталеина. 0,1М раствор гидроксида натрия был приготовлен добавлением 2 г гидроксида натрия (NaOH) в мерную колбу на 500 мл. Добавляют дистиллированную воду, перемешивают до полного растворения и доводят до метки дистиллированной водой. Спиртовой раствор индикатора фенолфталеина готовят добавлением 0,1 г фенолфталеина в 60 мл спирта этилового 96 % в мерную колбу на 100 мл, затем доводят до метки дистиллированной водой.

Стандартизация раствора гидроксида натрия по щавелевой кислоте. Проводят стандартизацию раствора NaOH с использованием в качестве первичного стандарта фиксанала щавелевой кислоты ($H_2C_2O_4$). Аликвоту стандартного раствора $H_2C_2O_4$ объемом 10,00 мл помещают в коническую колбу для титрования, добавляют 20,00 мл дистиллированной воды и 1 каплю спиртового раствора фенолфталеина. Титрование проводят рабочим раствором NaOH до появления устойчивой бледно-розовой окраски, не исчезающей в течение 30 с. Эксперимент проводят не менее 3 раз, регистрируют конечный объем NaOH, ушедший на титрование $H_2C_2O_4$. Концентрацию раствора NaOH рассчитывают по следующей формуле:

$$C(\text{NaOH}) = \frac{c\left(\frac{1}{2}H_2C_2O_4\right) \cdot V(H_2C_2O_4)}{V(\text{NaOH})},$$

где $c\left(\frac{1}{2}H_2C_2O_4\right)$ — молярная концентрация эквивалента щавелевой кислоты, моль-экв/л;

$V(H_2C_2O_4)$ — объем щавелевой кислоты, мл; $V(\text{NaOH})$ — объем гидроксида натрия, потраченного на титрование щавелевой кислоты, мл.

Определение аскорбиновой кислоты (витамина С). Свежесобранное и высушенное сырье массой 3,00 г (точная навеска) тщательно перетирают в ступке с дистиллированной водой (100 мл), настаивают в течение 10 мин. Смесь перемешивают и пропускают через бумажный фильтр. Аликвоту полу-

ченного фильтрата 10,00 мл приготовленного раствора сырья (фильтрата) переносят в коническую колбу для титрования, добавляют 1–2 капли спиртового раствора фенолфталеина и титруют стандартизированным раствором NaOH до появления устойчивой бледно-розовой окраски раствора, не исчезающей в течение 30 с. Эксперимент проводят не менее 3 раз, регистрируют средний объем NaOH, ушедший на титрование раствора сырья. Процентное содержание аскорбиновой кислоты рассчитывают по следующей формуле:

$$\omega(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6), \% = \frac{C(\text{NaOH}) \cdot V(\text{NaOH}) \cdot M_{\text{экв.}}(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) \cdot V_{\text{в.}} \cdot 100 \%}{1000 \cdot V_{\text{ал.}} \cdot m_{\text{сырья}}},$$

где $M_{\text{экв.}}(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)$ — молярная масса эквивалента аскорбиновой кислоты, г/моль; $V(\text{NaOH})$ — объем стандартизированного раствора гидроксида натрия, потраченного на титрование, мл; $C(\text{NaOH})$ — концентрация стандартизированного раствора гидроксида натрия, моль/л; $V_{\text{в.}}$ — объем воды для приготовления раствора, мл; $V_{\text{ал.}}$ — объем аликвоты фильтрата, мл; $m_{\text{сырья}}$ — масса исследуемого сырья, г.

Масса аскорбиновой кислоты (в мг):

$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6), \text{ мг} = \frac{\omega(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6), \%}{100 \%} \cdot m_{\text{сырья}} \cdot 1000.$$

Результаты и их обсуждение

Аскорбиновая кислота (витамин С, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) — двухосновная кислота, имеющая константы кислотности $K_{a,1} = 6,8 \cdot 10^{-5}$ и $K_{a,2} = 2,1 \cdot 10^{-12}$. В связи с малой величиной $K_{a,2}$ можно оттитровать только один из двух ионов водорода енольных гидроксильных групп, используя индикатор, изменяющий свою окраску в диапазоне рН около 8,5. Фенолфталеин меняет окраску с бесцветного на розовый в диапазоне рН 8,0–9,8 и его применяют в качестве индикатора для определения момента достижения конечной точки реакции. Зная концентрацию и объем NaOH, затраченных на титрование, рассчитывают фактическое содержание АК. Результаты кислотно-основного титрования исследуемого сырья представлены в таблице 2.

Т а б л и ц а 2

Результаты определения содержания аскорбиновой кислоты в растительном сырье

Исследуемое сырье	$V(\text{NaOH})$, мл	$\omega(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)$, %	$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)$, мг
<i>Fragaria vesca</i> L. (земляника), листья	0,19	0,91	27,5
<i>Rubus saxatilis</i> L. (костяника), листья	0,4	1,87	56,1
<i>Rubus saxatilis</i> L. (костяника), плоды	1,5	7,04	210
<i>Juniperus sabina</i> L. (можжевельник казацкий)	0,2	0,92	27,6
<i>Ribes</i> L. (смородина), листья	0,39	1,83	54,9
<i>Pinus sylvestris</i> L. (сосна обыкновенная)	0,3	1,4	42

Содержание АК в анализируемых образцах находилось на аналогичном уровне, за исключением плодов *Rubus saxatilis* L. Содержание АК в плодах *Rubus saxatilis* L. на 3,7 % выше, чем в листьях. В плодах *Rubus saxatilis* L., произрастающей в Красноярском регионе, АК содержится в количестве 119,69 мг/100 г [8]. По результатам проведенного исследования плоды *Rubus saxatilis* L., произрастающей на территории Центрального Казахстана, содержат практически в 2 раза больше АК, что соответствует значению 210 мг/100 г. Диапазон содержания АК в *Ribes* L. лесостепной зоны Алтайского края находится в диапазоне 50,6–217 мг/100 г [9], что подтверждают данные, полученные в ходе текущего эксперимента. Аналогичное содержание АК в плодах *Fragaria vesca* L. описано в литературных источниках, по данным авторов [10–11], значения находятся в пределах 28,4–72 мг/100 г. Такой разброс значений содержания АК в плодах *Fragaria vesca* L. объясняется регионом произрастания и различными климатическими условиями.

Заключение

Аскорбиновая кислота представляет собой важное для функционирования организма человека соединение, обладающее высоким антиоксидантным и антирадикальным потенциалом. В данной статье предложен технологически простой и доступный метод количественного определения содержания аскорбиновой кислоты в некоторых растениях флоры Центрального Казахстана. Полученные в ходе эксперимента данные коррелируют с литературными данными по исследуемым видам сырья в разных регионах произрастания. Установлено, что плоды костяники содержат максимальное количество аскорбиновой кислоты из всех исследуемых видов растений. Результаты эксперимента могут использоваться для дальнейших исследований растений *Fragaria vesca* L. (земляника), листья, *Rubus saxatilis* L. (костяника), листья и плоды, *Juniperus sabina* L. (можжевельник казацкий), листья, *Ribes* L. (смородина), листья, и *Pinus sylvestris* L. (сосна обыкновенная) по установлению антиоксидантной и антирадикальной активности.

Данная работа была выполнена в рамках грантового проекта Комитета науки МНВО РК № AP19677164 — «Разработка новых космецевтических средств антиоксидантного действия на основе отечественного растительного сырья» (2023–2025 гг.).

Список литературы

- 1 Izuagie A.A. Iodimetric Determination of Ascorbic Acid (Vitamin C) in Citrus Fruits / A.A. Izuagie, F.O. Izuagie // Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. — 2007. — Vol. 3(5). — P. 367–369.
- 2 Hickey S. Misleading information on the properties of vitamin C. / S. Hickey, H. Roberts // PLoS Med. — 2005. — Vol. 2(9). — P. e307. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020307>
- 3 Dilgin Y. Fluorimetric determination of ascorbic acid in vitamin C tablets using methylene blue / Y. Dilgin, G. Nişli // Chem Pharm Bull (Tokyo). — 2005. — Vol. 53(10). — P. 1251–1254. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.1251>
- 4 Jens L. On the effect of vitamin C intake on human health: How to (mis)interpret the clinical evidence / L. Jens // Redox Biology. — 2020. — Vol. 34. — P. 101532. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101532>
- 5 Mehrnia A. Chemical Composition and Antioxidant Properties of some Species of *Lamiaceae* Family from Iran Mohammad / A. Mehrnia, A. Bashti, H.M. Nasab // Journal of Medicinal Plants and By-products. — 2017. — Vol. 2. — P. 125–130.
- 6 Pathy K. Process for Preparation of Vitamin C and Method for Determination of Vitamin C in Tablets / K. Pathy // Sur Cas Stud OpAcc J. — 2018. — Vol. 1(3). — P. 1–9.
- 7 Величко Н.А. Оценка качества напитка на основе плодов *Rubus saxatilis* L. / Н.А. Величко, Я.В. Смольникова, Е.А. Рыгалова // Вестн. Краснояр. гос. аграр. ун-та. — 2015. — Т. 11. — С. 163–169.
- 8 Ершова И.В. Сорты смородины черной как источники высокого содержания биологически активных соединений / И.В. Ершова // Достижения науки и техники АПК. — 2019. — Т. 33 (11). — С. 60–62. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2019-11113>
- 9 Skender A. The comparison of phenotypic characteristics of current varieties and wild species of *Fragaria* // A. Skender, T. Ajdinović, D. Bećirspahić // Genetika. — 2015. — Vol. 47. — P. 45–52. <https://doi.org/10.2298/GENSR1501045S>
- 10 Yildiz H. Bioactive content and antioxidant characteristics of wild *Fragaria vesca* L. and cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits from Turkey / H. Yildiz, S. Ercisli, A. Hegedus, M. Akbulut, E.F. Topdas, J.J. Aliman // Appl. Bot. Food Qual. — 2014. — Vol. 87. — P. 274–278. <https://doi.org/10.5073/JABFO.2014.087.038>
- 11 Doumett S. Comparison of nutritional and nutraceutical properties in cultivated fruits of *Fragaria vesca* L. produced in Italy / S. Doumett, D. Fibbi, A. Cincinelli, E. Giordani, S. Nin, M. Del Bubba // Food Research International. — 2011. — Vol. 44(5). — P. 1209–1216. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.044>

Я.К. Левая, Г.А. Атажанова, Г.К. Курмантаева

Орталық Қазақстан флорасының өсімдіктеріндегі аскорбин қышқылының сандық құрамын анықтау

Соңғы жылдары аскорбин қышқылын (С дәрумені) сандық талдау биохимия, медицина, фармацевтикалық өндіріс және азық-түлік өндірісі саласында ғылыми қызығушылықты арттырды, өйткені С дәрумені адам денсаулығын сақтауда маңызды рөл атқарады. С витаминін анықтаудың көптеген әдістері бар, атап айтсақ: спектрофотометриялық, спектрофотометриялық емес, HPLC, титрлеу, ферментативті әдіс және флюорометрия. *Fragaria vesca* L. жапырақтары, *Rubus saxatilis* L.

жапырақтары мен жидектері, *Juniperus sabina* L. жапырақтары, *Ribes* L. жапырақтары және *Pinus sylvestris* L. кептірілген өсімдік материалдарына NaOH ерітіндісін 0,1 м қышқыл-негіздік титрлеу арқылы аскорбин қышқылына сандық анықтау жүргізілді. Зерттелген өсімдіктер аскорбин қышқылының (С витамині) бай көздері екені анықталды. Аскорбин қышқылының құрамын анықтауға арналған титриметриялық талдау нәтижелеріне сүйене отырып, антиоксиданттық белсенділікке скринингтен өту үшін әлеуетті үміткерлер болуы мүмкін бірқатар өсімдіктерді анықтауға болады.

Кілт сөздер: аскорбин қышқылы, титриметрия, сандық анықтау, С витамині, қарақат, кой бұлдірген, құлпынай, арша, қарағай.

Ya.K. Levaya, G.A. Atazhanova, G.K. Kurmantayeva

Determination of the quantitative content of ascorbic acid in plants of the flora of Central Kazakhstan

In recent years, the quantitative analysis of ascorbic acid (vitamin C) has attracted increasing scientific interest in the fields of biochemistry, medicine, pharmaceutical production and food production due to the fact that vitamin C plays an important role in maintaining human health. There are many methods for determining vitamin C: spectrophotometric, non-spectrophotometric, HPLC, titration, enzymatic method and fluorometry. We carried out a quantitative determination of ascorbic acid in dried plant materials of *Fragaria vesca* L. leaves, *Rubus saxatilis* L. leaves and berries, *Juniperus sabina* L. leaves, *Ribes* L. leaves, and *Pinus sylvestris* L. by acid-base titration with 0.1 M NaOH solution. The plants studied were found to be rich sources of ascorbic acid (vitamin C). Based on the results of titrimetric analysis to determine the content of ascorbic acid, a number of plants can be identified that may be potential candidates for screening for antioxidant activity.

Keywords: ascorbic acid, titrimetry, quantitative determination, vitamin C, currant, drupeberry, strawberry, juniper, pine.

References

- 1 Izuagie, A.A. & Izuagie, F.O. (2007). Iodimetric Determination of Ascorbic Acid (Vitamin C) in Citrus Fruits. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(5); 367–369.
- 2 Hickey, S. & Roberts, H. (2005). Misleading information on the properties of vitamin C. *PLoS Med.*, 2(9), e307. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0020307>
- 3 Dilgin, Y. & Nisli, G. (2005). Fluorimetric determination of ascorbic acid in vitamin C tablets using methylene blue. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 53(10); 1251–1254. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.1251>
- 4 Jens, L. (2020). On the effect of vitamin C intake on human health: How to (mis)interpret the clinical evidence. *Redox Biology*, 34; 101532. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101532>
- 5 Mehrnia, A., Bashti, A., & Nasab, H.M. (2017). Chemical Composition and Antioxidant Properties of some Species of *Lamiaceae* Family from Iran Mohammad. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2; 125–130.
- 6 Pathy, K. (2018). Process for Preparation of Vitamin C and Method for Determination of Vitamin C in Tablets. *Sur Cas Stud OpAcc J.*, 1(3); 1–10.
- 7 Velichko, N.A., Smolnikova, Ya.V., & Rygalova, E.A. (2015). Otsenka kachestva napitka na osnove plodov *Rubus saxatilis* L. [Assessment of the quality of a drink based on the fruits of *Rubus saxatilis* L.]. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta — Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University*, 11, 163–169 [in Russian].
- 8 Ershova, I.V. (2019). Sorta smorodiny chernoi kak istochniki vysokogo sodержaniia biologicheski aktivnykh soedinenii [Varieties of black currant as sources of high content of biologically active compounds]. *Dostizheniia nauki i tekhniki agropromyshlennogo kompleksa — Achievements of science and technology of agro-industrial complex*, 33 (11); 60–62. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2019-11113> [in Russian].
- 9 Skender, A., Ajdinović, T., & Bećirspahić, D. (2015). The comparison of phenotypic characteristics of current varieties and wild species of *Fragaria*. *Genetika*, 47; 45–52. <https://doi.org/10.2298/GENSR1501045S>.
- 10 Yildiz, H., Ercisli, S., Hegedus, A. et al. (2014). Bioactive content and antioxidant characteristics of wild *Fragaria vesca* L. and cultivated strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) fruits from Turkey. *Appl. Bot. Food Qual.*, 87; 274–278. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2014.087.038>.
- 11 Doumett, S., Fibbi, D., Cincinelli, A. et al. (2011). Comparison of nutritional and nutraceutical properties in cultivated fruits of *Fragaria vesca* L. produced in Italy. *Food Research International*, 44(5); 1209–1216. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.044>.

Information about the authors

Levaya Yana Konstantinovna — PhD, researcher, Karaganda Buketov University, researcher of Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan; e-mail: yaninka_25@mail.ru

Atazhanova Gayane Abdulkakhimovna — Doctor of chemical sciences, leading researcher, Karaganda Buketov University, Professor of Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan; e-mail: g-atazhanova@mail.ru

Kurmantaeva Gulnisa Kolbashevna — Master in pharmacy, junior researcher of Karaganda Buketov University, teacher at school of pharmacy of Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan; e-mail: gulnisa_s90@mail.ru

Букетов University