

Studien über die polarographische Bestimmung des Vitamins C in frischem Gemüse und Obst

Autor(en): **Krauze, S. / Bozyk, Z.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **50 (1959)**

Heft 4

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983424>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Studien über die polarographische Bestimmung des Vitamins C in frischem Gemüse und Obst^{*)}

Von S. Krauze und Z. Bozyk

(Lehrstuhl für Lebensmittelkunde der Pharmazeutischen Fakultät an der
Medizinischen Akademie in Warschau, Przemyslowastr. 25)

Unter den im Schrifttum der letzten Jahre angegebenen Methoden zur Vitaminbestimmung stehen diejenigen zur Bestimmung des Vitamins C in vorderster Linie. Der Grund zur Schaffung immer neuer, voneinander prinzipiell unabhängiger Methoden und anderer Modifikationen liegt in dem Bedürfnis, immer spezifischere Verfahren zur Vitamin C-Bestimmung zu finden¹⁾.

Die bisherigen titrimetrischen oder kolorimetrischen Methoden zur Bestimmung des Vitamins C in Gemüse und Obst z.B. mittels 2,6-Dichlorphenolindophenol oder 2,4-Dinitrophenylhydrazin haben viele Mängel und können nur mit Vorbehalten verwendet werden. Zweifelhafte und nicht übereinstimmende Ergebnisse bei der Anwendung der erwähnten Methoden führten zu Meinungsverschiedenheiten z.B. hinsichtlich des täglichen Bedarfs des menschlichen Organismus an Vitamin C, der Theorien über die Wirkung des Vitamins C in lebenden Organismen²⁾ und der Vitaminaktivität verschiedener Formen von Vitamin C in der Pflanzenwelt³⁾.

Wir haben uns für die polarographische Bestimmung der Ascorbinsäure (AS) in Gemüse und Obst aus dem Grunde interessiert, weil wir Fehler und Schwierigkeiten der titrimetrischen und kolorimetrischen Methoden dadurch vermeiden wollten.

Als Hauptprobleme bei Studien über die Bestimmung von Vitamin C und besonders über das Verhältnis des Gehaltes der AS zur Dehydroascorbinsäure (DAS) in Gemüse und Obst können folgende bezeichnet werden: Extraktion, Stabilisierung und Wahl der Methoden zur Bestimmung von AS und DAS. Von diesen Merkmalen hängt die Spezifität einer Bestimmung des Vitamins C^{**)} ab.

Darum besitzt bei der polarographischen Bestimmung des Vitamins C die Wahl des Extraktions- und Stabilisierungsmittels und auch diejenige des Puffers (alle drei bilden zusammen den Grundelektrolyt) für die Erzielung richtiger Resultate entscheidende Bedeutung.

Bei unseren Studien stützten wir uns auf die Forschungsergebnisse von Autoren, die sich mit dem Problem der polarographischen Bestimmung des Vitamins C beschäftigt haben. Wir konnten etwa 70 Arbeiten dieser Art feststellen⁴⁾.

^{*)} Kurzer Auszug der Dissertationsarbeit von Dr. Z. Bozyk

^{**)} Unter dem Begriff «Vitamin C» verstehen wir hier die Summe von Ascorbin- und Dehydroascorbinsäure

Bei vielen der vorgeschlagenen Methoden gelang es bisher nicht, gut ausgebildete AS-Stufen, bei allen Arten und Varietäten von Gemüse und Obst zu erhalten. Es musste daher die Untersuchung der möglichen Faktoren, welche den Charakter der AS-Stufe beeinflussen können, und ihre Diskussion als eines der Hauptziele unserer Arbeit betrachtet werden. Die Absicht bestand darin, eine Universalmethode auszuarbeiten, d.h. eine Methode, welche ohne irgendwelche Modifikationen für die Untersuchung aller in der menschlichen Ernährung verwendeten Arten von Gemüse und Obst, geeignet war und uns gestattete, Tabellen aufzustellen über den Vitamin C-Gehalt von frischem Gemüse und Obst in den in unserem Lande existierenden Sorten.

Den Lebensmittelanalytiker und den Ernährungsfachmann interessiert nur eine solche Methode, die gestattet, in Übereinstimmung mit den heutigen Ansichten über die Wirkung des Vitamins C im menschlichen Organismus, gleichzeitig die AS und DAS zu bestimmen. Daher setzt sich unsere Arbeit eigentlich aus zwei gesonderten Teilen zusammen. Im ersten führen wir die polarographische Bestimmung der AS an der Quecksilbertropfanode durch, der zweite enthält die Ergebnisse der ähnlichen Untersuchungen über die Bestimmung der DAS (in frischem Gemüse und Obst), nach Reduktion mit chemischen Mitteln.

Am Anfang musste der am besten geeignete Puffer gewählt werden. Bisher wurden in der Polarographie der AS Phosphat-, Azetat- und Phtalatpuffer verwendet⁵⁾. Da aus grundsätzlichen Erwägungen in unserer Arbeit das Registrieren von Stufen bei einem pH-Bereich höher als 6 vorgesehen war, musste ein Phosphatpuffer angewandt werden. Gegen die Anwendung dieser Puffersubstanz hatten sich in der letzten Zeit einige Forscher ausgesprochen wie z.B. *Zuman*⁶⁾, *Vintera*⁷⁾, *Schauer*⁸⁾ und *Sedlák*⁹⁾, welche hervorhoben, dass sich die Phosphatpuffer nicht als Bestandteile der Grundelektrolyte zur Untersuchung der anodischen Stufen verschiedener Depolarisatoren, eignen. Nach *Zuman* (l.c.) ist Phosphatpuffer auch nicht zur Prüfung der anodischen Stufen von DAS geeignet. Nach diesen Autoren sollen die Phosphate im genügend positiven Potential eine undurchlässige Schicht bilden, welche an der Quecksilbertropfelektrode adsorbiert wird, wodurch Störungen in den Elektrodenprozessen entstehen. Diese Störungen kommen durch die Entstehung charakteristischer Minima nicht wirbelnder Herkunft an den Grenzströmen zum Ausdruck.

Da wir bei den anfänglichen Untersuchungen, ähnlich wie andere Autoren, z.B. *Gillam*¹⁰⁾, im Phosphatpuffer reproduzierbare Ergebnisse erhielten, beschlossen wir das Problem zu überprüfen.

Abb. 1 zeigt den Einfluss der Konzentration der AS auf den Charakter der mit Phosphatpuffer erhaltenen Stufen.

An den polarographischen Kurven sind charakteristische Maxima zu sehen, dagegen sind Minima an den Grenzströmen nicht ersichtlich. Unter Zugabe von Metaphosphorsäure zu der untersuchten Lösung, stellten wir fest, dass auch in dieser Anordnung keine Minima entstehen. Im Phosphatpuffer unter Zugabe

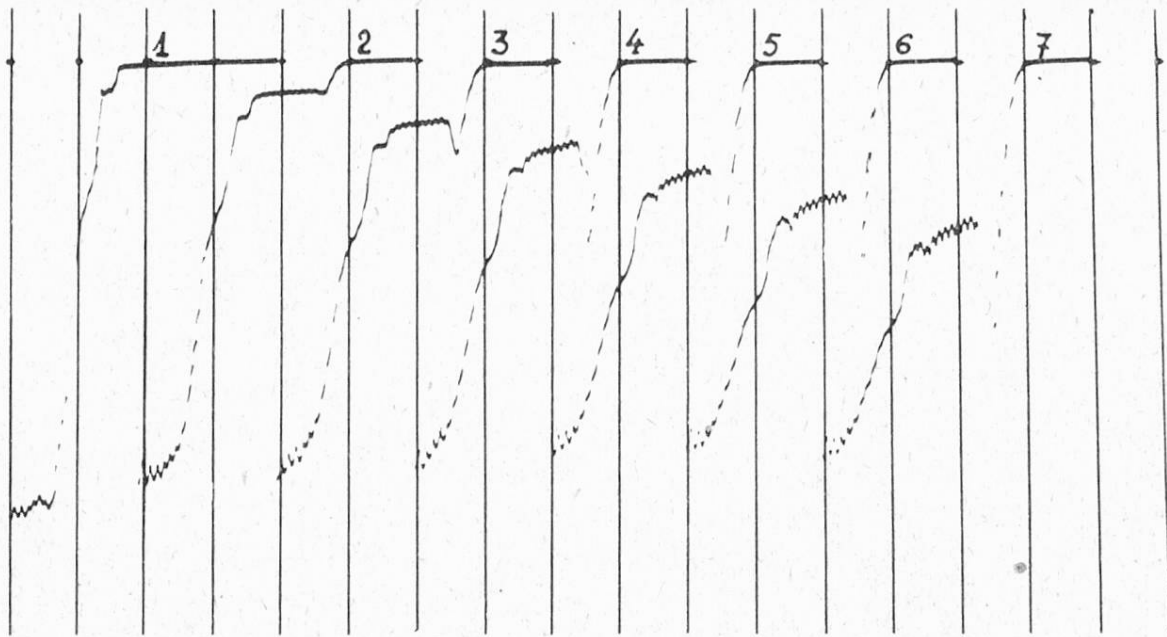


Abb. 1

Gestalten der Ascorbinsäurestufen im Phosphatpuffer im Zusammenhang mit der Konzentration der AS. Polarographische Kurven: 1) 10 ml Phosphatpuffer vom pH 7,8; 2) + 0,1 ml 400 ‰iger AS-Lösung (Lösung A) in H₂O; 3) + 0,2 ml A; 4) + 0,3 ml A; 5) + 0,4 ml A; 6) + 0,5 ml A; 7) + 0,6 ml A. Kurven von der 7. Drahtwindung zurück aufgenommen, anodisch-kathodisch, Mercuro-sulfatelektrode, h = 60 cm, 200 mV/Absc.; Empf. 1 : 100.

von HPO₃ werden keine Maxima der AS beobachtet. Aus den von uns durchgeführten Versuchen geht hervor, dass in den praktisch studierten Konzentrationen von AS, die Phosphate keine adsorbierende, für die AS undurchlässige Schicht bilden und damit zur Prüfung der anodischen Stufen von AS, geeignet waren. Somit konnten die Schlussfolgerungen der erwähnten Autoren nicht bestätigt werden.

Gleichzeitig stellten wir fest, dass HPO₃ in den angewandten Konzentrationen eine ausgezeichnete oberflächenaktive Wirkung aufweist. Diese ist ersichtlich, da HPO₃ die Maxima der AS unterdrückt, aber keine Nebeneigenschaften zeigt, welche für die allgemein angewandten Mittel dieser Art, z.B. Gelatine, charakteristisch sind¹¹⁾.

Nachdem nun festgestellt wurde, dass Phosphatpuffer zur Prüfung der anodischen Stufen der AS geeignet ist, musste die Zersetzungsgeschwindigkeit der AS im Phosphat und auch Azetatpuffer festgestellt werden. Die Notwendigkeit der Durchführung von Untersuchungen dieser Art ging daraus hervor, dass tschechische Autoren die Methode einer direkten Bestimmung der AS im Azetatpuffer ohne Zugabe eines Stabilisators, befürworten¹²⁾. Eine solche Methode ist im tschechoslowakischen Arzneibuch¹³⁾ und in den vom tschechoslowakischen Ministerium für Lebensmittelindustrie herausgegebenen einheitlichen Methoden zur Vitamin C-Bestimmung in Lebensmitteln, enthalten¹⁴⁾.

Als Ergebnis der durchgeführten Untersuchungen stellten wir fest, dass die Geschwindigkeit der Vitamin C-Zersetzung in Lösungen mit Azetat- und Phos-

phatpuffern bedeutend ist und daher beim Ausarbeiten einer analytischen Methode, mit Hilfe der polarographischen Bestimmung, nicht vernachlässigt werden kann. Der Verlust von AS beträgt im 0,5-m Azetatpuffer bei pH 4,2 innert 10 Minuten 2,6 %, dagegen im 0,066-m Phosphatpuffer bei pH 6,2, in derselben Zeit 11 %.

Die Zugabe von HPO_3 zu den Azetat- und Phosphatpuffern, vermindert die Zersetzungsgeschwindigkeit von AS, wobei der Stabilisationseffekt im Falle des Phosphatpuffers grösser ist. Im 0,066-m Phosphatpuffer mit Zugabe von HPO_3 bei pH 6,2, zersetzte sich die AS bei Zimmertemperatur, nach 10 Minuten durchschnittlich zu 0,6 % und im 0,5-m Azetatpuffer mit Zugabe von HPO_3 , bei pH 4,2 durchschnittlich zu 1,2 %. Es zeigte sich also, entgegen den existierenden Anschauungen, dass man im Medium von HPO_3 Kurven mit AS-Stufen aus Phosphatpufferlösungen von pH 6,2 registrieren kann. In Untersuchungen, welche mit Auszügen durch HPO_3 aus Gemüse und Obst durchgeführt wurden, stellten wir fest, dass nach der Zugabe von Azetat- und Phosphatpuffer zu den Auszügen im Vol.-Verhältnis 1 : 1, die AS sich in solchen Lösungen binnen 10 Minuten zu höchstens 1 % zersetzt. Wenn man annimmt, dass beim Registrieren der polarographischen Kurven aus 2 ml Lösung das Vertreiben des Sauerstoffüberschusses nur 2 bis 3 Minuten dauert und daher vom Moment des Mischens von Puffer und Auszug bis zum Registrieren der Kurve, höchstens 5 Minuten vergehen, kann man annähernd sagen, dass der angegebene, die Zersetzung der AS illustrierende Index, sich um die Hälfte verringern wird. Der Fehler ist so klein, dass er, praktisch genommen, keinen Einfluss auf das Ergebnis der Bestimmung haben wird.

Viele Autoren stützten sich auf die Voraussetzung, dass das Fehlen von Sauerstoff im Reaktionsmedium die Gefahr einer Oxydation von AS, in mittels Azetatpuffer aus frischem Gemüse und Obst hergestellten Auszügen, beseitigt. In dieser Meinung bekräftigte man sich unter anderen auf Grund der Ergebnisse von *Diemair* und *Zerban*¹⁵⁾, welche feststellten, dass das Fehlen von Sauerstoff Inaktivierung der Ascorbinase verursachte. Um dieses Problem zu überprüfen, stellten wir Extrakte aus Kohl mittels Azetatpuffer und Metaphosphorsäure, her. Die aus dem Kohlextrakt erhaltene Stufe war nach 15 Minuten, also nach der zum Durchführen einer Einzel-Analyse notwendigen Zeit, um 64,5 % niedriger als die aus dem Metaphosphorsäureauszug erhaltene Stufe. Dieses stellt Abb. 2 dar.

Im Wasserextrakt erhielten wir einen Index der gleichen Grössenordnung. Praktisch dieselben Resultate, erhielten wir bei Durchführung der Extraktion ohne Sauerstoffzutritt. In beiden Fällen war die Geschwindigkeit der AS-Zersetzung ähnlich.

Unsere Ergebnisse bestätigen somit die Resultate der Untersuchungen von *James*¹⁶⁾ und der in letzter Zeit durchgeführten Forschungen von *Jindra* und *Procházka*¹⁷⁾, welche bei der Untersuchung des Einflusses verschiedener Faktoren auf die Aktivität, der aus Gerstenkeimlingen und Gurken erhaltenen As-

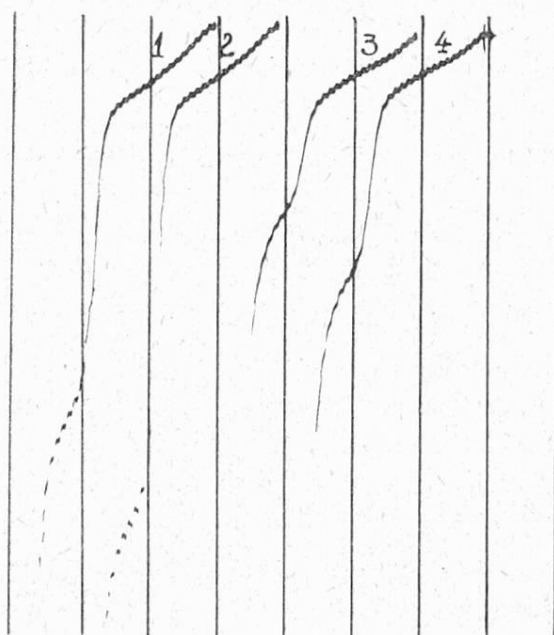


Abb. 2

Zerfall der AS während der Extraktion von Kohl mit Azetatpuffer. Polarographische Kurven: 1) 5 g Kohl + 15 ml 8 %ige HPO_3 , Zerreiben im Mörser genau 3 Minuten + Azetatpuffer vom pH 4,7 (A) bis zum Volumen 100 ml (B). Polarographische Kurven wurden genau nach 15 Minuten vom Beginn der Extraktion aus der Lösung: 10 ml B + 1 ml H_2O , registriert; 2) 10 ml B + 1 ml 9,2 mg 0,0 iger AS-Lösung (C); 3) 5 g Kohl + 15 ml A (Extraktion wie bei 1) + Lösung A zum Volumen 100 ml (D). Polarographische Kurve wurde genau nach 15 Minuten vom Beginn der Extraktion aus der Lösung: 10 ml D + 1 ml H_2O registriert; 4) 10 ml D + 1 ml C. Kurven von der 7. Drahtwindung zurück aufgenommen, anodisch-kathodisch, Mercurosfatelektrode, $h = 60$ cm, 200 mV/Absz., Empf. 1 : 5.

corbinase, feststellen konnten, dass die Ascorbinase bei Abwesenheit von Sauerstoff immer noch aktiv bleibt.

Die obenerwähnten Ergebnisse zwangen uns nicht nur die amtliche einheitliche, tschechoslowakische Methode¹⁴⁾ und die Methode zur AS-Bestimmung neben-SH-Verbindungen¹⁸⁾ ferner die Methode zur Bestimmung von AS neben *Juglon*¹⁹⁾ sowie auch die umfangreichen von *Sedlák* und *Kaločai*²⁰⁾ durchgeführten Untersuchungen in Frage zu stellen. Die letztgenannten Verfasser haben mittels der modifizierten Zuman'schen Methode, Tabellen des Vitamin C-Gehaltes von frischem Obst und Gemüse der Varietäten des Kreises Bratislava, aufgestellt.

Da die Auszüge aus frischem Gemüse und Obst hochmolekulare Substanzen verschiedener Art enthalten, konnte man annehmen, dass bei der Prüfung der anodischen Stufen der AS, Erscheinungen auftreten werden, die für oberflächenaktive Stoffe typisch sind und die auf die AS-Stufe einen Einfluss ausüben könnten. Als Ergebnis der durchgeführten Untersuchungen stellten wir fest, dass oberflächenaktive Stoffe von Gemüse- und Obstauszügen, das Halbstufenpotential der AS mehr nach positiven Potentialwerten hin verschieben. Dagegen verschieben sie das Potential des Anfanges der Phosphatstufe nach der negativen Seite hin. Damit haben wir auch den Beweis erbracht, dass nicht nur der pH-

Wert einen Einfluss auf das Halbstufenpotential der AS ausübt, wie dies in den bisher publizierten Arbeiten behauptet wurde, sondern dass auch ein Einfluss dieser Art von den oberflächenaktiven Stoffen herrührt. Dabei stimmt die Richtung der Aenderung des Halbstufenpotentials bei der Konzentrationszunahme der oberflächenaktiven Stoffe, mit der Aenderung, die bei der Zunahme der Wasserstoffionen-Konzentration in Erscheinung tritt, überein.

Auf Grund dieser Ergebnisse sollte man annehmen, dass der Charakter der AS-Stufe, auch von der Menge des zum Herstellen des Auszuges genommenen Materials abhängt. Wir haben experimentell den Beweis erbracht, dass nicht nur die Quantität und Art, sondern in manchen Fällen auch die Varietät des untersuchten Gemüses und Obstes, den Charakter der AS-Stufe beeinflussen. Dies wurde durch die wechselnde Menge der auftretenden oberflächenaktiven Stoffe, durch deren Struktur und durch die damit hervorgerufene wachsende Aktivität im polarographischen Sinne erklärt. Bei höheren Konzentrationen der oberflächenaktiven Stoffe, kommt es zu einer starken Deformierung der AS-Stufe und sogar zu ihrer Teilung in zwei oder mehr Stufen, was in Abb. 3 gezeigt ist.

Die hochmolekularen Stoffe wurden der Wirkung der in den Rohstoffen selbst enthaltenen Enzyme ausgesetzt. Zu diesem Zweck bereiteten wir einen

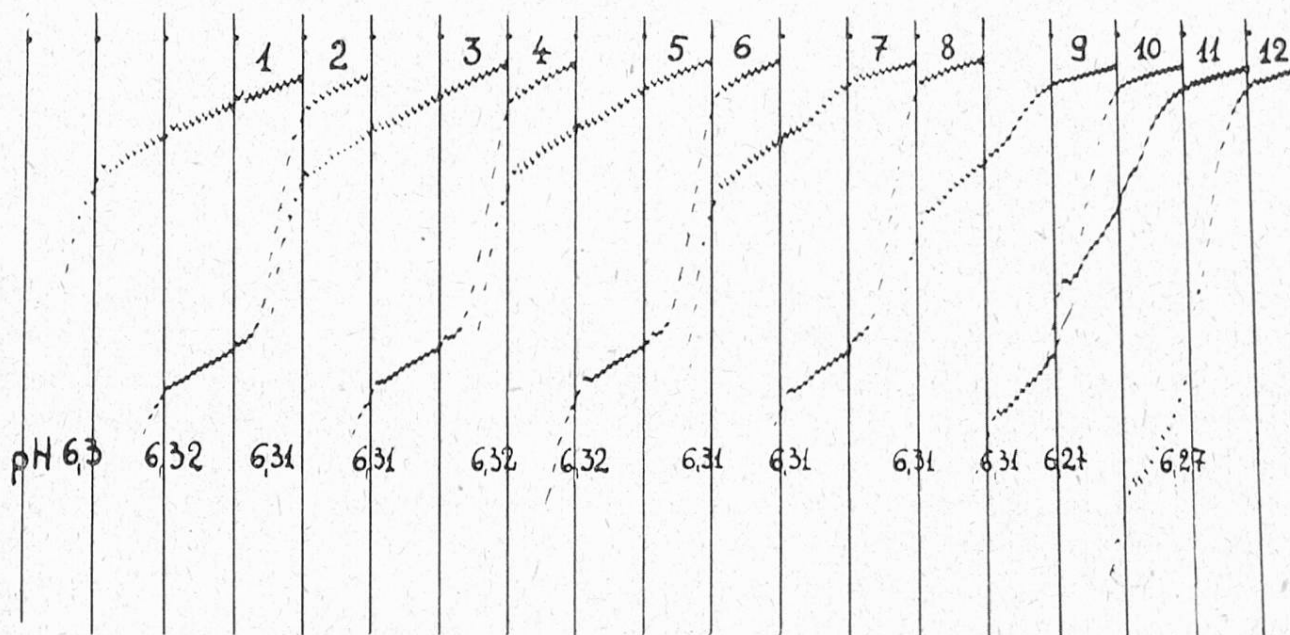


Abb. 3

Einfluss der Auszugsmenge von Zwiebel auf die Gestalt der AS-Stufe. Vorbereitung des Auszuges: 30 g Zwiebel + 22,5 ml 8 %iger HPO_3 + 97,5 ml H_2O + Zerkleinerung in Turmix während 3 Minuten (A). Polarographische Kurven: 1) 10 ml 1,2 %iger HPO_3 (B) + 10 ml Phosphatpuffer vom pH 8,0 (C) + 0,2 ml H_2O ; 2) 10 ml B + 10 ml C + 0,2 ml AS (AS = 136 mg Ascorbinsäure in 100 ml 1,2 %iger HPO_3); 3) 9,5 ml B + 0,5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H_2O ; 4) 9,5 ml B + 0,5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS; 5) 9 ml B + 1,0 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H_2O ; 6) 9,0 ml B + 1,0 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS; 7) 7,5 ml B + 2,5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H_2O ; 8) 7,5 ml B + 2,5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS; 9) 5,0 ml B + 5,0 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H_2O ; 10) 5,0 ml B + 5,0 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS; 11) 10 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H_2O ; 12) 10 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS. Kurven von der 7. Drahtwindung zurück aufgenommen, anodisch-kathodisch, Mercuro-sulfatelektrode, $h = 60$ cm, 105 mV/Absz., Empf. 1 : 5.

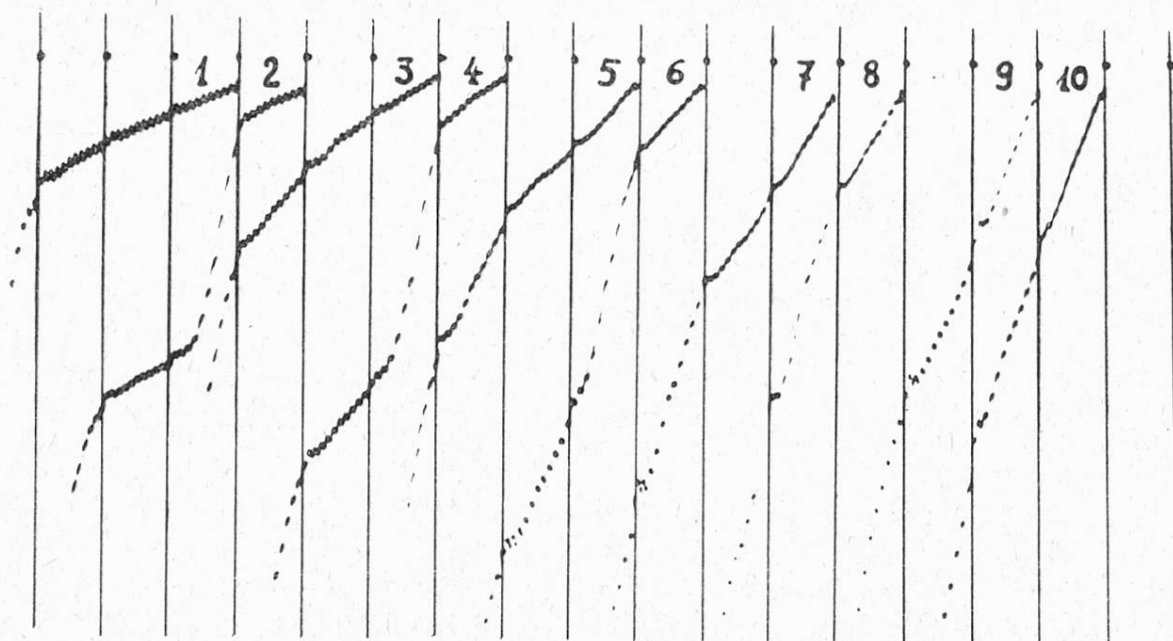


Abb. 4

Einfluss des enzymatischen Abbaus von hochmolekularen Substanzen im Auszuge von Zwiebel auf die Gestalt der AS-Stufe. Vorbereitung des Auszuges: 30 g Zwiebel + 97,5 ml H₂O + Zerkleinerung in Turmix während 3 Minuten. – nach 30 Minuten setzte man 22,5 ml von 8%iger HPO₃ zu = A. Polarographische Kurven: 1) 10 ml 1,2%iger HPO₃ (B) + 10 ml Phosphatpuffer vom pH 8,0 (C) + 0,2 ml H₂O; 2) 10 ml B + 10 ml C + 0,2 ml AS (AS = 136 mg Ascorbinsäure in 100 ml 1,2%iger Metaphosphorsäure); 3) 9 ml B + 1 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H₂O; 4) 9 ml B + 1 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS; 5) 7,5 ml B + 2,5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H₂O; 6) 7,5 ml B + 2,5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS; 7) 5 ml B + 5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H₂O; 8) 5 ml B + 5 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS; 9) 10 ml A + 10 ml C + 0,2 ml H₂O; 10) 10 ml A + 10 ml C + 0,2 ml AS. Kurven von der 7. Drahtwindung zurück aufgenommen, anodisch-kathodisch, Mercurousulfatelektrode, h = 60 cm, 100 mV/Absz., Empf. 1 : 5.

wässrigen Auszug aus Zwiebel vor und liessen ihn 30 Minuten stehen. Nach dieser Zeit gaben wir wachsende Mengen des hergestellten Auszuges zu einer Standardlösung von AS im Phosphatpuffer mit Metaphosphorsäure zu. Auf diese Weise konnten wir den Beweis erbringen, dass die höhere Aktivität der oberflächenaktiven Stoffe in diesem Auszuge durch ihr niedrigeres Molekulargewicht bedingt ist. Wahrscheinlich handelt es sich um Produkte des enzymatischen Abbaues von in frischem Gemüse und Obst auftretenden hochmolekularen Verbindungen. Dieses ist in Abb. 4 dargestellt.

Aus den durchgeführten Untersuchungen zogen wir die Schlussfolgerung, dass zum Herstellen der Auszüge nicht beliebige Quantitäten, wie es bei der Mehrzahl der vorgeschlagenen polarographischen Methoden praktiziert wurde, sondern minimale und im gewissen Sinne günstigste Rohstoffmengen, genommen werden müssen. Ausserdem, im Hinblick auf andere genau definierte Umstände, soll die Methode der Standardzugabe oder die Eichkurve angewandt werden.

Da bewiesen wurde, dass sogar unter den bequemen, schnellen Bedingungen der polarographischen Vitamin C-Bestimmung und besonders in Auszügen aus Gemüse und Obst zweifellos ein Stabilisierungsmittel verwendet werden muss,

sollte festgestellt werden, welches von den am häufigsten zur Vitamin-C-Extraktion benutzten Mitteln, für diesen Zweck geeignet sei. Unter Annahme der neu von uns ausgearbeiteten, ausgedehnten Kriterien zur Beurteilung der Extraktions- und Stabilisationsmittel, stellten wir, entgegen den Behauptungen vieler Autoren ¹⁰⁾²¹⁾²²⁾, fest, dass nicht Oxalsäure, sondern Metaphosphorsäure besser zur Herstellung von Auszügen für polarographische Zwecke geeignet ist. Bei der Verwendung von HPO_3 für die Extraktion von Gemüse und Obst sind folgende Vorzüge zu verzeichnen: die Auszüge enthalten am wenigsten Eiweißstoffe, was im höchsten Grade den negativen Einfluss der oberflächenaktiven Stoffe auf die Ausbildung der AS-Stufe ausschaltet; die Auszüge klären sich schnell, was die zum Ausführen der Analyse benötigte Zeit abkürzt; bei Serienuntersuchungen brauchen die Auszüge nicht zentrifugiert und filtriert zu werden; durch die zur polarographischen Bestimmung vorbereitete Lösung kann ein inaktives Gas geleitet werden, was das Entstehen einer übergrossen Menge, aus dem Gefässe nach *Kalousek* herauskommenden Schaumes, wie dies bei Verwendung von Oxalsäure der Fall ist, verhindert; die Metaphosphorsäure unterdrückt die Maxima der AS; die AS-Stufen, welche aus mittels Metaphosphorsäure hergestellten Auszügen erhalten werden, sind besser ausgebildet.

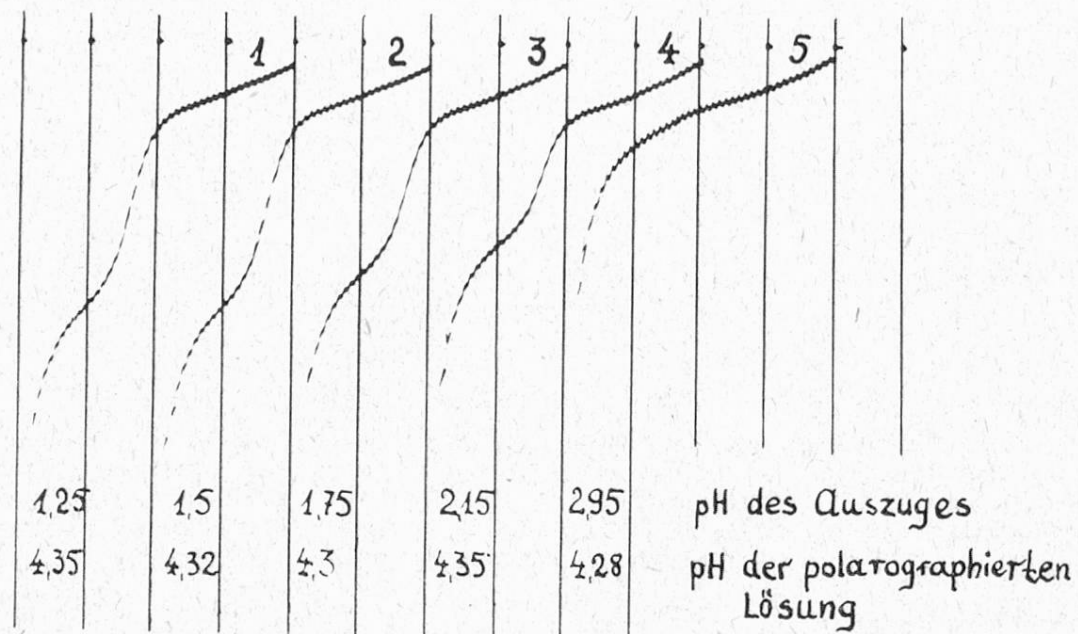


Abb. 5

Einfluss der Konzentration von Metaphosphorsäure während der Kartoffel-Zerkleinerung auf den AS-Gehalt im Auszuge. Polarographische Kurven: 1) 40 g Kartoffel + 100 ml 20%iger HPO_3 + Zerkleinerung im Turmix während 2 Minuten (A); 5 ml A + 5 ml H_2O + 10 ml Azetatpuffer vom pH 4,7 (B); 2) 40 g Kartoffel + 100 ml 10%iger HPO_3 + Zerkleinerung im Turmix während 2 Minuten (C); 5 ml C + 5 ml 10%iger HPO_3 + 10 ml B; 3) 40 g Kartoffel + 100 ml 5%iger HPO_3 + Zerkleinerung im Turmix während 2 Minuten (D); 5 ml D + 5 ml 15%iger HPO_3 + 10 ml B; 4) 40 g Kartoffel + 100 ml 2,5%iger HPO_3 + Zerkleinerung im Turmix während 2 Minuten (E); 5 ml E + 5 ml 17,5%iger HPO_3 + 10 ml B; 5) 40 g Kartoffel + 100 ml 1%iger HPO_3 + Zerkleinerung im Turmix während 2 Minuten (F); 5 ml F + 5 ml 19%iger HPO_3 + 10 ml B. Kurven von der 7. Drahtwindung zurück aufgenommen, anodisch-kathodisch, Mercuro-sulfatelektrode, $h = 60$ cm, 100 mV/Absz., Empf. 1 : 5.

Es sollte zusätzlich festgestellt werden, ob die Konzentration von HPO_3 einen Einfluss auf den Charakter der AS-Stufe und den Gehalt der AS im Auszuge, ausübt. Dieses ist in Abb. 6 gezeigt, aus welcher hervorgeht, dass bei polarographischen Bestimmungen, mit 10 %iger HPO_3 , die besten Ergebnisse erzielt werden. Die Stufen sind dann gut ausgebildet. Die angegebene Konzentration von HPO_3 schützt die AS, unter den Extraktionsbedingungen, vor Oxydation. Die Untersuchungen von *v. Fellenberg*²³⁾, welcher beim Uebergang von 5- zur 20 %igen HPO_3 eine etwa 900 %ige Zunahme des AS-Gehaltes im Auszuge festgestellt hat, konnten wir nicht bestätigen. Unter unseren Bedingungen erhielten wir eine Zunahme der Stufe um kaum 24 %. Dieses ergibt eine weitere Bestätigung der These, wonach die polarographische Methode zur Bestimmung der AS in Gemüse und Obst viel spezifischer ist als die titrimetrischen, auf der Reduktion von 2,6-Dichlorphenolindophenol'sich stützenden Methoden.

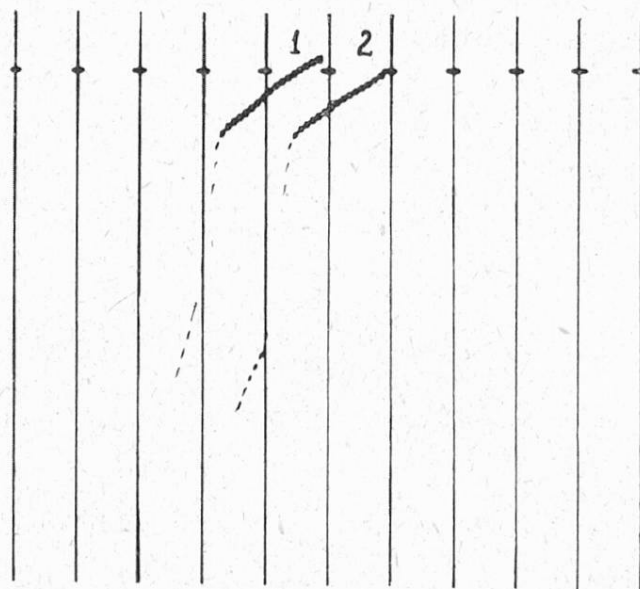


Abb. 6

Einfluss der heissen Extraktion auf die Gestalt der AS-Stufe. Polarographische Kurven: 1) 10 g Kohl wurden mit einer kochenden Mischung von Essigsäure und Metaphosphorsäure nach Dewjatnin und Doroschenko extrahiert (A), 10 ml A + 10 ml Azetatpuffer vom pH 4,7 (B); 2) 10 g Kohl wurden mit derselben Mischung von Säuren kalt extrahiert (C), 10 ml C + 10 ml B. Kurven von 7. Drahtwindung zurück aufgenommen, anodisch-kathodisch, Mercurosulfatelektrode, $h = 60$ cm, 200 mV/Absz., Empf. 1 : 5.

Auf Grund der aufgeführten Ergebnisse, welche viele bisher bei der polarographischen Vitamin-C-Bestimmung vernachlässigte und nicht interpretierte Probleme aufklären, musste man annehmen, dass auch die Extraktionsmethode einen Einfluss auf den Charakter der AS-Stufe und dadurch auch auf die Genauigkeit der Resultate ausübe. Von den bekannten Extraktionsmethoden interessierte uns die heisse und die kalte Extraktion. Auf Grund der durchgeführten Untersuchungen konnten wir die von *Dewjatnin* und *Doroschenko*²⁴⁾ vorgeschlagene und kürzlich durch tschechische Autoren²⁵⁾ übernommene Extraktionsmethode für Gemüse und Obst, welche bei Siedetemperatur des Metaphos-

phor- und Essigsäuregemisches, und sauerstofflosem Medium arbeitet, überzeugend ablehnen. Die erwähnten Arbeiten ¹⁴⁾ befürworten, neben der kalten, die heisse Extraktion. Zur Beanstandung dieser Methode kamen wir auf Grund folgender Tatsachen: die heisse Extraktionsmethode gibt niedrigere Resultate als die kalte; durch den unter den gegebenen Versuchsbedingungen teilweisen Zerfall der hochmolekularen Stoffe erhält man schlechter ausgebildete Stufen und besonders bei schwer verarbeitbaren Rohstoffen, z.B. bei Zwiebeln, gelingt es überhaupt nicht, eine messbare Stufe zu erhalten; der auf heissem Wege erhaltene Extrakt verlangt unbedingt eine Regulierung auf eine vereinbarte Bezugstemperatur vor dem Registrieren der Kurve, was sonst bei Verwendung der Methode mit Standardzugabe nicht notwendig ist; die Extraktion in der Hitze verlängert mindestens dreimal die Durchführungszeit der Analyse; die Methode ist umständlich und daher für Reihenuntersuchungen ungeeignet; es ist anzunehmen, dass unter den Bedingungen bei der Extraktion in der Hitze, Reduktone entstehen können. In diesem Falle würde die Höhe der Stufe nicht mit der Vitamin-C-Konzentration in der Lösung übereinstimmen.

Um eine gute Ausbildung der polarographischen Stufen bei der AS-Bestimmung zu ermöglichen, soll der Sauerstoff beseitigt werden, obwohl auch in seiner Anwesenheit gute polarographische Kurven entstehen. Man untersuchte die Bedingungen für Registrierung von polarographischen Stufen von AS-Lösungen in Anwesenheit vom Sauerstoff und stellte fest, dass für einzelne Arten von Gemüse und Obst optimale pH-Werte der Lösungen gewählt werden müssen, um gut ausgebildete Stufen zu erhalten, z.B. für Aepfel pH etwa 4,6; Zwiebel pH 6,0; Rettich pH 5,4; Meerrettich pH 3,1. Wir konnten auf diese Weise bestätigen, dass bei Anwesenheit von Sauerstoff die Aufstellung einer allgemein gültigen Vorschrift für die polarographische AS-Bestimmung nicht möglich ist, weil jeder Rohstoff individuell behandelt werden muss.

Die Untersuchungen über die Bedingungen zur Bestimmung der Dehydroascorbinsäure (DAS) führten wir an kristallisierter, nach der Methode von *Kenyon* und *Munro* ²⁶⁾ erhaltener DAS durch. In Vorversuchen stellten wir fest, dass DAS an der Platinkathode nicht reduziert wird und dass daher die elektrolytische Reduktionsmethode von *Günther* ²⁷⁾ nicht zur Reduktion der DAS angewandt werden kann. Wir bewiesen, dass Natriumhydroborid (eines der modernsten Reduktionsmittel) nicht zur DAS-Reduktion verwendet werden kann, da im reduzierenden Medium doch eine bedeutende Oxydation der DAS stattfindet, und dass selbst die Anwesenheit von Reduktionsmitteln diesen ungünstigen Prozess nicht verhindert. Auf Grund durchgeführter Untersuchungen entschlossen wir uns, die DAS durch Schwefelwasserstoff zu reduzieren. Es handelte sich nämlich um den Vergleich unserer polarographischen Methode mit den Ergebnissen der bisher im Schrifttum angegebenen klassischen Titrationsmethoden. Die DAS wurde bei Zimmertemperatur durch Schwefelwasserstoff reduziert und dieser durch CO₂ (aus einer Stahlgasflasche) gleichfalls bei Zimmertemperatur, entfernt.

Wir stellen dabei fest, dass bei der Reaktion Nebenprodukte entstehen. Dies bestätigt unsere frühere Annahme, dass das sich bildende S-Radical das Entstehen von Polysulfiden verursacht. Man erhält in diesem Falle kathodisch-anodische Stufen im mehr negativen Potential im Vergleich mit dem Halbstufenpotential der AS. Wir versuchten, die Polysulfide aus dem Reduktionsmedium durch CdSO_4 und TlSO_4 zu beseitigen, was uns jedoch misslang.

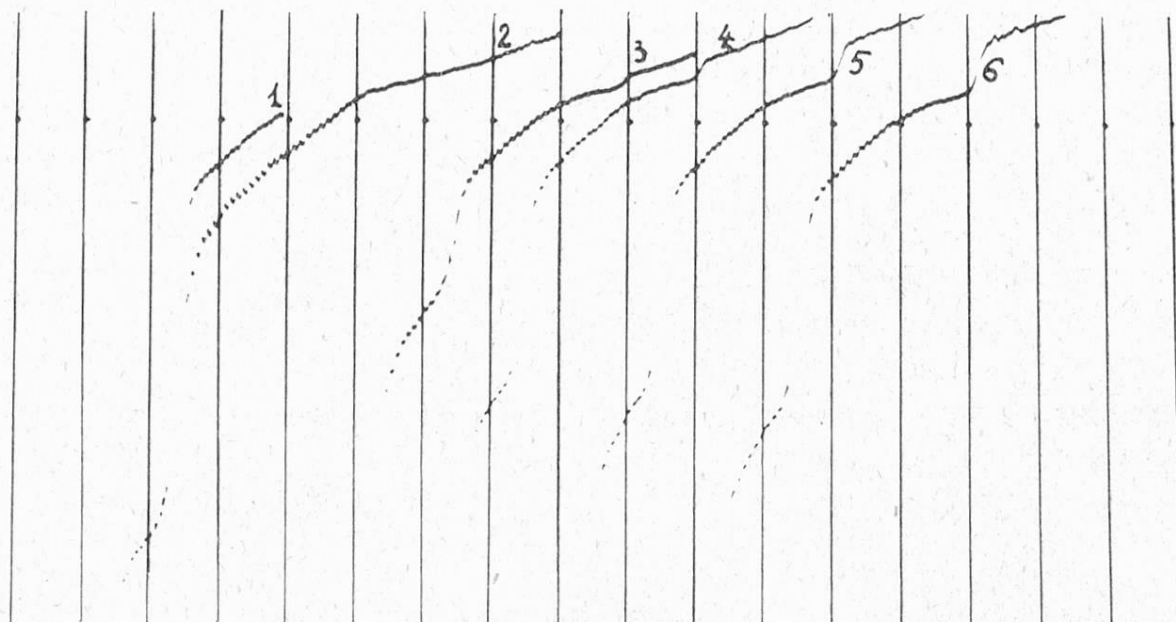
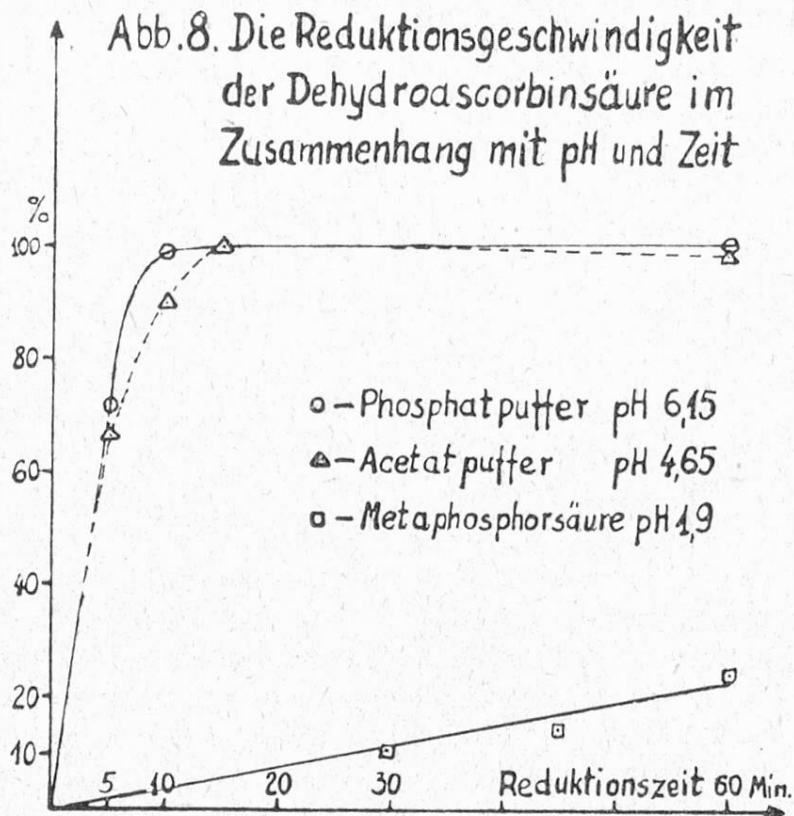


Abb. 7

Einfluss der Reduktionszeit der DAS mittels Schwefelwasserstoffs auf den Polysulfidgehalt. Polarographische Kurven: 1) 5 ml 3,7 mg⁰/oiger AS-Lösung in 1,2 %iger HPO_3 (A) + 5 ml Phosphatpuffer vom pH 8,0 (B); 2) 5 ml 2,7 mg⁰/oiger Dehydroascorbinsäure in 1,2 %iger HPO_3 (C) + 5 ml B; 3) 5 ml B + 5 ml C + H_2S bei Zimmertemperatur (2 $\frac{1}{2}$ Minuten) + CO_2 (60 Minuten); 4) 5 ml B + 5 ml C + H_2S (7 $\frac{1}{2}$ Minuten) + CO_2 (60 Minuten); 5) 5 ml B + 5 ml C + H_2S (10 Minuten) + CO_2 (60 Minuten); 6) 5 ml B + 5 ml C + H_2S (15 Minuten) + CO_2 (60 Minuten). Kurven von 9. Drahtwindung zurück aufgenommen, anodisch-kathodisch, Mercuro sulfatelektrode, $h = 60$ cm, 200 mV/Absz., Empf. 1 : 5.

Die Quantität von Polysulfiden in der Lösung hängt von der Menge der DAS, der Reduktionszeit, des pH-Wertes und der Temperatur ab. Wir stellten fest, dass neben den Polysulfiden auch der als Produkt der Hauptreaktion und der Nebenreaktionen entstehende kolloidale Schwefel, einen ungünstigen Einfluss auf den Charakter der nach der Reduktion erhaltenen AS-Stufen, ausübt.

Wir stellten auch fest, dass bei einer Reduktion im niedrigeren pH, der ungünstige Einfluss des kolloidalen Schwefels grösser wird. Wir nehmen an, dass in diesem Falle die Partikel des abgesonderten Schwefels feiner sind, was zu höherer Aktivität führt. Es zeigte sich, dass zur Reduktion der DAS-Lösung mittels Schwefelwasserstoffs sich der Phosphatpuffer besser als der Azetatpuffer eignet. Der Reduktionsprozess ist schon nach 15 Minuten beendet, gleich, ob Phosphat- oder Azetatpuffer verwendet wurde (siehe Tabelle 1). Dies steht im Gegensatz zum Standpunkt zahlreicher Autoren, z.B. *Scharrer* und *Werner*²²⁾, welche behaupten, dass die Reduktion über Nacht geführt werden müsse.



Die Reduktion bei einem Phosphatpuffer von pH 6,2 verläuft nicht wesentlich schneller als diejenige mit Azetatpuffer bei pH 4,7. Die Reduktionsgeschwindigkeit bei pH 1,9 ist klein, weshalb die Bestimmung der DAS bei derartig niedrigem pH analytisch nicht ausgenutzt werden kann. Diese Tatsache stellt auch die Interpretation der Ergebnisse mancher Autoren in Frage.

Aus den durchgeführten Untersuchungen kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die mittels Schwefelwasserstoffs durchgeführte Reduktion in Verbindung mit der polarographischen Methode, im Gegensatz zu den titrimetrischen und kolorimetrischen Methoden, äusserst spezifisch ist und, wie keine der bisher bekannten Methoden*), eine sehr genaue Bestimmung der AS neben DAS, ermöglicht. Auf die vorliegende Möglichkeit der polarographischen, indirekten AS-Bestimmung, machen wir, zum erstenmal im Schrifttum, aufmerksam.

Zur Ausübung einer bequemeren Methode zur Reduktion der DAS, wurden Versuche mit Natriumhydroborid und mit Hilfe der elektrolytischen Reduktion durchgeführt, jedoch mit negativem Ergebnis.

Auf Grund der durchgeführten polarographischen Untersuchungen stellten wir in dem untersuchten Gemüse und Obst keine Anwesenheit von DAS fest. Daher stellten wir die Hypothese auf, dass DAS überhaupt in Gemüse und Obst

*) Den Verfassern der vorliegenden Arbeit ist keine genaue Methode zur AS- und DAS-Bestimmung in einem Auszuge bekannt, welche dieselbe Sicherheit bietet.

nicht vorhanden ist. Unsere Hypothese bestätigt die Vermutung von *Paech*²⁷⁾, der schon im Jahre 1942 behauptete, dass die DAS in Pflanzen nicht auftritt. Seines Erachtens ist die DAS das Resultat von unvollkommenen Methoden, welche die Bildung von DAS im Laufe der Untersuchung verursachen und dann als solche nachweisen und bestimmen. Da unsere auf Grund des analytischen Materials aufgestellte Hypothese im Gegensatz steht zu den Ergebnissen aller andern Autoren, ohne Ausnahme, haben wir sie einleitend formuliert. Diesen Standpunkt haben wir mit der Notwendigkeit der Durchführung von Untersuchungen an einer grösseren Anzahl von Arten und einzelnen Varietäten von Gemüse und Obst begründet. Wir sind der Ansicht, dass unsere Untersuchungen nicht nur von uns, sondern auch von andern Autoren, in Polen und im Auslande, bestätigt werden sollten.

Die mittels der polarographischen Methode erhaltenen Ergebnisse unterscheiden sich von den experimentellen Resultaten vieler Autoren, welche titrimetrische und kolorimetrische Methoden verwendeten. Solche Fälle wurden diskutiert und die Unterschiede der beiden beobachteten Erscheinungen interpretiert. Auf Grund eigener Untersuchungen wurde mehrmals die Anschauung formuliert, dass die Schlussfolgerungen aus titrimetrischen und kolorimetrischen Bestimmungen nicht ohne weiteres auf diejenigen der polarographischen AS-Bestimmung übertragen werden können. Viele Ergebnisse aus titrimetrischen Methoden werden in Frage gestellt.

Als Ergebnis der durchgeführten einleitenden Untersuchungen konnte man mittels der polarographischen Methode feststellen, dass in dem untersuchten Gemüse und Obst keine DAS auftritt. Aus diesem Grunde äusserten wir die Ansicht, dass für eine Erweiterung der polarographischen Methode zur DAS-Bestimmung in Gemüse und Obst keine Notwendigkeit besteht.

Den Ernährungsstandpunkt im Auge behaltend, haben wir vorgeschlagen, nur die Bezeichnung AS als das Synonym von Vitamin C anzunehmen, was, wie bekannt, von den bisher allgemein angenommenen Anschauungen abweicht.

Es soll hier nochmals betont werden, dass die polarographische Methode zur Bestimmung von AS spezifisch genau, leicht und schnell ausführbar ist. Wegen dieser Vorzüge kann diese Methode bei der Kontrolle anderer Methoden zur Bestimmung von AS in Gemüse und Obst als Vergleichs-Standardmethode empfohlen werden. Wir glauben, dass die erwähnten Vorzüge uns dazu berechtigen, diese Methode als Grundlage für die Ausarbeitung der polnischen Staatsnorm (PN) zur AS-Bestimmung in Gemüse und Obst vorzuschlagen. Die erhaltenen Resultate dürften auch für die Vorbereitung des Europäischen Lebensmittelkodexes von Nutzen sein.

*

Es ist unsere angenehme Pflicht, hier dem grossen Gelehrten, dem Meister der Polarographie, Herrn Prof. Dr. h. c. J. Heyrovský, unseren besten Dank auszusprechen. In seinem Institut für Polarographie der Tschechoslowakischen

Akademie der Wissenschaften in Prag wurde Dr. Bozyk herzlich aufgenommen und konnte seine bisherigen Resultate praktisch und theoretisch überprüfen und bestätigen. Wir danken auch herzlich Herrn Dr. P. Zuman für seine Hilfe und Ratschläge.

Zusammenfassung

Die Verfasser untersuchen den Einfluss verschiedener Faktoren wie pH, Art der Pufferlösungen, Konzentration von Metaphosphorsäure, Art und Gehalt an oberflächenaktiven Stoffen, Anwesenheit von Sauerstoff, auf den Charakter der polarographischen Ascorbinsäure-Stufe, bei der Bestimmung von Vitamin C in frischem Gemüse und Obst.

Bei Ueberprüfung der Reduktionsbedingungen mittels Schwefelwasserstoffs wurde festgestellt, dass während des Reduktionsprozesses Nebenprodukte entstehen, welche einen ungünstigen Einfluss auf den Charakter der erhaltenen Stufen ausüben. Diese Nebenprodukte erwiesen sich als Polysulfide; sie stellen die Ursache der bei den Titrationsmethoden entstehenden Fehler dar.

Der Einfluss des pH auf die Reduktionsgeschwindigkeit der Dehydroascorbinsäure mittels Schwefelwasserstoff wurde ermittelt. Man stellte fest, dass bei pH 4,7 oder 6,2 nach 15 Minuten Dehydroascorbinsäure vollständig durch Schwefelwasserstoff reduziert wird.

Auf Grund der erhaltenen polarographischen Resultate gelangt man zur Hypothese, dass die Dehydroascorbinsäure in Gemüse und Obst nicht vorkommt.

Résumé

Examen de l'influence de divers facteurs, tels que le pH, la nature des solutions tampons, la concentration en acide métaphosphorique, la nature et les teneurs en substances tensio-actives, ainsi que la présence d'oxygène, sur le dosage polarographique de l'acide ascorbique dans les légumes et les fruits frais.

On a trouvé que des polysulfures se forment au cours de la réduction par l'hydrogène sulfuré et que ces corps sont une source d'interférences pour les méthodes de dosage volumétrique.

Aux pH 4,7 ou 6,2 l'acide déhydroascorbique est complètement réduit par l'hydrogène sulfuré en un quart d'heure. Sur la base des résultats obtenus l'hypothèse est émise que l'acide déhydroascorbique n'est pas rencontré dans les fruits et les légumes.

Summary

Study of various variables, such as pH, nature of the buffer solutions, metaphosphoric acid concentration, etc. on the polarographic determination of ascorbic acid in fresh fruits and vegetables. The reduction of dehydroascorbic acid by hydrogen sulphide has also been studied and is complete in 15 minutes at pH 4,7 or 6,2.

The results obtained by polarography seem to indicate that dehydroascorbic acid does not occur in fruits and vegetables.

Schrifttum

- 1) *Gstirner F.*: Chemisch-physikalische Vitaminbestimmungsmethoden, 4. Auflage, Stuttgart (1951).
- 2) *Günther E.*: Pharmazie **3**, 158 (1948).
- 3) *Günther E., Heger E. F., Rosenthal Chr.*: Pharmazie **7**, 24 (1952).
- 4) *Sargent E. H. et Co.*: Bibliography of Polarographic Literature (1922-1955), Chicago 30, Illinois.
- 5) *Brezina M., P. Zuman.*: Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie, Leipzig (1956).
- 6) *Zuman P.*: Chem. listy **46**, 23 (1952).
- 7) *Üntera J.*: Polarografická anodická vlna fosforečnanu – Privatmitteilung.
- 8) *Schlauer Ů.*: Použití přepínače ke studiu vlivu pufru na polarografickou redukci p-benzochinonu – Privatmitteilung.
- 9) *Sedlák J.*: Chemické zvesti **9**, 397 (1955).
- 10) *Gillam W. S.*: Ind. Eng. Chem. A. E. **17**, 217 (1945).
- 11) *Kern D. M. H.*: J. Amer. Chem. Soc. **75**, 1011 (1954).
- 12) *Zuman P.*: Acta chimica (hungarica) **9**, 279 (1956).
- 13) Pharmacoepa Bohemoslovenica, S. 7. Praha (1954).
- 14) *JAM – c. 4.*: Stanovení vitamínu C (kyseliny l-ascorbové) v potravinovém materiálu, Praha (1953).
- 15) *Diemair W., Zerban K.*: Biochem. Z. **316**, 335 (1944).
- 16) *James W. O.*: Proc. Roy. Soc., London B. **14**, 289 (1953).
- 17) *Jindra A., Procházka Ů.*: Chem. listy **51**, 362 (1957).
- 18) *Zuman P.*: Chem. listy **46**, 73 (1952).
- 19) *Zuman P.*: Collection **19**, 1140 (1954); Chem. listy **48**, 524 (1954).
- 20) *Sedlák J., Kaločai S.*: Chemické zvesti **11**, 40 (1957).
- 21) *Scharrer K., Werner W.*: Z. Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde **77**, 11 (1957).
- 22) *Baczyk S., Lempka A., Slowiński W.*: Polski Tygodnik Lekarski **12**, 293 (1957).
- 23) *von Fellenberg Th.*: Mitt. **32**, 135 (1941).
- 24) *Dewjatnin W. A., Doroschenko W. M.*: Biochem. Z. **280**, 118 (1935).
- 25) *Blattnà J., Fragnér J., Šanda Ů., Žuman P., Zuffova D.*: Promysl potravin **4**, 402 (1953).
- 26) *Kenyon J., Munro N.*: J. Chem. Soc. S. 158 (1948).
- 27) *Günther E.*: Biochem. Zeitschr. **314**, 276 (1943).
- 28) *Paech K.*: Forschungsdienst, Sonderheft **16**, 233 (1944) – nach 4).