

ІНГІБУЮЧА ФУНКЦІЯ L - АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ В ЛАНЦЮГОВИХ ПРОЦЕСАХ: ГЕТЕРОФАЗНІ УМОВИ. РОЗПОДІЛ АНТИОКСИДАНТА МІЖ ФАЗАМИ.

Єфімова І.В.¹, Смирнова О.В.¹, Опейда Й.О.², Толкунов В.С.¹

¹Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України, відділ хімії вугілля, відділ хімії гетероциклічних сполук, м. Київ, Україна, e-mail:I.V.Efimova@nas.gov.ua

²Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка, відділ хімії окислювальних процесів, м. Львів, Україна, e-mail:I.V.Efimova@nas.gov.ua

У роботі вивчено антиоксидантну дію аскорбінової кислоти в процесах радикально-ланцюгового окиснення в гетерофазних умовах. За модельну систему було обрано ініційоване азодіізобутіронітрилом рідиннофазне окиснення кумолу. Інгібуючу активність аскорбінової кислоти визначено у широкому діапазоні концентрацій. За кінетику процесу окиснення стежили газоволюмометрично, вимірюючи кількість поглиненого кисню. Виконано спектральні дослідження фаз суміші АІБН - ІПБ - Н₂О – АК. Показано, що крім водної фази, форми АК в значній кількості містяться і в органічній фазі. Спостережувані кінетичні закономірності найімовірніше обумовлені наявністю розділу фаз в досліджуваній системі. В органічній фазі, де відбувається безпосередньо окиснення кумолу, аскорбінова кислота знаходиться в значно менших концентраціях, ніж у водній фазі. Встановлено, що поряд з пригніченням окиснення кумолу, АК витрачається в паралельному процесі автоокиснення, про що свідчить характер зміни швидкості поглинання кисню системою з ростом концентрації АК в ній. На підставі отриманих результатів газоволюмометричного дослідження процесу радикально-ланцюгового окиснення кумолу в присутності аскорбінової кислоти та спектрального дослідження фаз окиснюваної суміші, зроблено висновок: АК виконує антиоксидантні функції не тільки в водній фазі, як прийнято вважати, а й в органічній.

Ключові слова: аскорбінова кислота, антиоксидантна активність, радикально-ланцюгове окиснення.

INSIBURING FUNCTION OF ASCORBIC ACID IN CHAIN PROCESSES: HETEROPHASE CONDITIONS. ANTIOXIDANT DISTRIBUTION BETWEEN PHASES.

Efimova I.V.¹, Smirnova O.V.¹, Opeida I.O.², Tolkunov V.S.¹

¹L.M. Litvinenko Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, Department of Coal Chemistry, Department of Chemistry of Heterocyclic Compounds, Kyiv, Ukraine, e-mail: I.V.Efimova@nas.gov.ua

²Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels of the Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry named after L. M. Lytvynenko of National Academy of Sciences of Ukraine, division of chemistry of oxidizing processes, Lviv, Ukraine, e-mail: I.V.Efimova@nas.gov.ua

The antioxidant effect of ascorbic acid in the processes of radical - chain oxidation in heterofactorial conditions is studied in the work. Azodiisobutyronitrile-initiated liquid-phase oxidation of cumene was chosen as the model system. The inhibitory effect of ascorbic acid is determined in a wide range of concentrations. The kinetics of the oxidation process was monitored gas-volumetrically, measuring the amount of oxygen absorbed. Spectral studies of the phases of the mixture AIBN - IPB - H₂O - AK were performed. It is shown that in addition to the aqueous phase, AK is contained in significant quantities in the organic phase. The observed kinetic regularities are most likely due to the presence of phase separation in the studied system. In the organic phase, where cumene is directly oxidized, ascorbic acid is obviously in much lower concentrations than in the aqueous phase. It is established that along with the inhibition of cumene oxidation, AK is consumed in the parallel process of auto-oxidation, as evidenced by the nature of the change in the rate of oxygen uptake by the system with increasing concentration of AK in it. Based on the obtained results of gas-volumetric study of the process of radical-chain oxidation of cumene in the presence of ascorbic acid and spectral study of the phases of the oxidized mixture, we assume that AK performs antioxidant functions not only in the aqueous phase, but also in the organic phase.

Keywords: ascorbic acid, antioxidant activity, radical-chain oxidation.

Одним з найважливіших напрямків фізичної хімії органічних речовин є вивчення кінетики і механізмів ланцюгових процесів. Ланцюгові процеси окиснення, що супроводжуються утворенням вільних радикалів, є одним з

універсальних механізмів життєдіяльності біосистем. Перебіг багатьох процесів в біологічних об'єктах визначається вільнорадикальним окисненням. Ланцюгова теорія виявилась досить ефективною для опису радикальних процесів, що протікають безпосередньо *in vivo*. Це було доведено при вивченні канцерогенезу, що має вільно-радикальну складову [1,2].

Серед інгібіторів радикально-ланцюгового окиснення особливий інтерес викликають біоантиоксиданти, важливим представником яких є аскорбінова кислота (АК). Біологічна активність АК обумовлена існуванням відновленої, окисленої і іонних форм аскорбінової кислоти, які разом представляють ефективну систему, що має високу вітамінну активність [3]. Нестабільність АК викликає інтерес до її стабільних аналогів за умови збереження ними антиоксидантної дії, але введення будь-яких замісників в структуру АК позбавляє її унікальній здатності зворотно окиснюватися до дегідроаскорбіновою кислоти [4, 5].

Антиокиснювальну функцію АК виконує в водній фазі, що підтверджено численними роботами з дослідження її властивостей у водних розчинах [3, 4], а також в присутності перехідних металів Fe^{2+} і Cu^{+} [6]. В органічних середовищах найбільш вивчено дію АК спільно з ліпофільними інгібіторами, де вона незмінно виступає в ролі синергиста [7]. Для визначення того, як гідрофільна за своєю природою аскорбінова кислота поводить себе в водному та органічному середовищах в процесах радикально-ланцюгового окиснення, необхідно дослідити процес окиснення органічного субстрату в присутності АК в гетерофазних умовах.

Мета дослідження: визначення антиоксидантної активності АК в процесах радикально-ланцюгового окиснення органічного субстрату в гетерофазних умовах.

Матеріали і методи дослідження.

В рамках поставленої задачі газоволюмометричним методом було досліджено ініційоване азодіізобутіронітрилом (АІБН) окиснення кумолу (ШБ) в присутності аскорбінової кислоти (АК) у водному середовищі. Досліджувана

система АІБН - ПІБ - Н₂О - АК представляла собою органічну фазу - кумол, в якій розчиняли АІБН, і потім додавали водну фазу, в якій містилася АК в необхідній концентрації (співвідношення органічна - водна фаза складало 1:1). За кінетикою процесу окиснення стежили газоволюмометрично, вимірюючи кількість поглиненого кисню при постійній температурі 348 К і постійному парціальному тиску кисню 760 мм. рт. ст. на установці, описаній в [8]. Вивчення процесу проводилося в кінетичній області, де швидкість реакції не залежить від швидкості перемішування. Швидкість поглинання кисню окиснювальною сумішшю розраховували як тангенс кута нахилу кінетичної кривої, отриманої побудовою залежності кількості поглиненого кисню (V, мл) від часу (t, с). В роботі використовувалися АІБН, ДМСО, ПІБ, очищені за методиками, описаними в [9]. Концентрація ПІБ в досліджуваній системі становила 3,59 моль/л, АІБН – $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

УФ-спектроскопічним методом вивчали розчини АК у воді та кумолі. Дослідження проведені на спектрофотометрі Specord UV VIS в кюветах $l = 1,0$ см і $l = 0,1$ см при $T = 298$ К. Концентрація АК в диметилсульфоксиді становила $1,40 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Розчини АК у воді і кумолі отримані таким чином. До суміші кумол - вода (1:1) додавали необхідну кількість аскорбінової кислоти і ініціатора окиснення азодіізобутіронітрила ($[АІБН] = 2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, $[АК] = 5,00 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $[ПІБ] = 3,59$ моль/л). Отриманий розчин інтенсивно перемішували протягом 5 хв і після встановлення рівноваги між фазами відбирали проби водної та органічної фаз для спектрального аналізу. Потім на газоволюмометричному приладі проводили окиснення такого ж розчину при температурі 348 К, постійному парціальному тиску кисню 760 мм рт. ст., і відбирали проби водної та органічної фаз.

Результати дослідження.

На рисунку 1, представлені кінетичні криві, що описують окиснення модельної системи АІБН - ПІБ - Н₂О - АК киснем, де АК була присутня в широкому концентраційному діапазоні. При дослідженні окиснення цієї системи виявлене наступне:

По-перше, додавання АК до досліджуваної суміші призводить до гальмування процесу окиснення. Спостерігається період індукції, величина якого коливається в межах 5-12 хв при збільшенні концентрації АК на порядки (табл. 1). При введенні АК в кількості $5,00 \cdot 10^{-3}$ моль/л спостерігався індукційний ефект протягом 12 хв. Це максимальне значення величини періоду індукції при окисненні досліджуваної системи АІБН - ІПБ - H_2O - АК, що зафіксовано у розглянутому дослідженні.

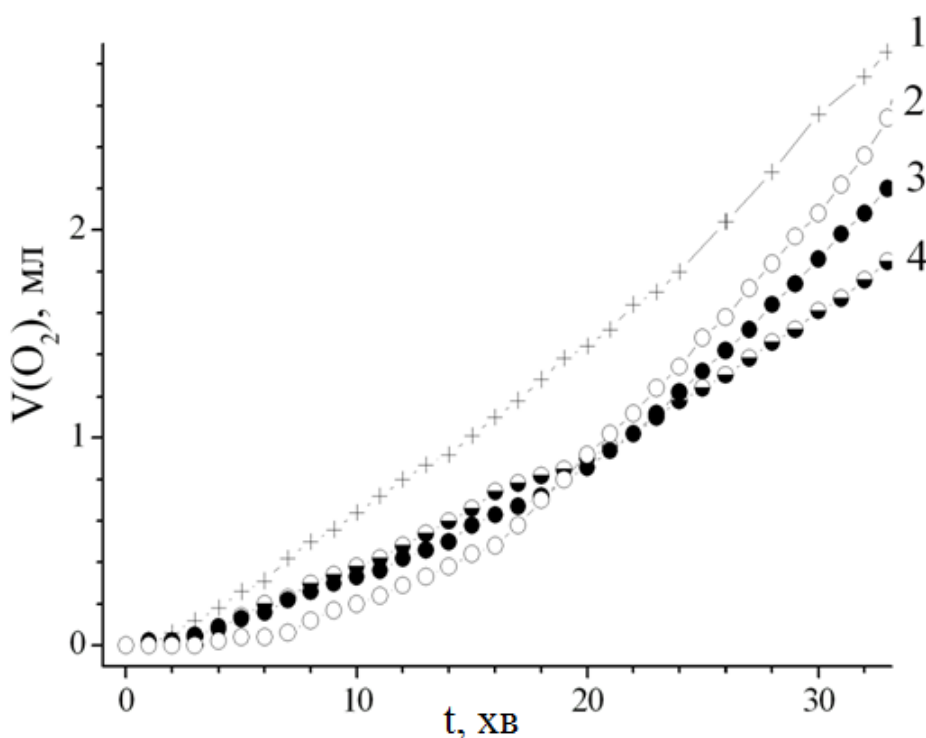


Рисунок. 1 Кінетичні криві поглинання кисню системою АІБН - ІПБ - H_2O - АК для різних концентрацій аскорбінової кислоти: 1 - без інгібітору; 2 - $0,50 \cdot 10^{-3}$ моль/л; 3 - $5,00 \cdot 10^{-3}$ моль/л; 4 - $50,00 \cdot 10^{-3}$ моль/л. $[\text{АІБН}] = 2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, $[\text{ІПБ}] = 3,59$ моль/л, 348 К.

По-друге, наявністю АК в кількостях $(0,20-8,00) \cdot 10^{-3}$ моль/л обумовлено збільшення швидкості поглинання кисню. А саме, при додаванні АК в систему АІБН - ІПБ - H_2O значення швидкості поглинання кисню складають $(2,01-1,63) \cdot 10^{-6}$ моль/(л·с), в той час, як без АК швидкість

поглинання кисню набуває значення $1,52 \cdot 10^{-6}$ моль/(л·с). При введенні в реакційну суміш АК в кількості $(10,00-50,00) \cdot 10^{-3}$ моль/л значення швидкості поглинання кисню складають $(1,20-1,12) \cdot 10^{-6}$ моль/(л·с), що нижче аналогічного значення для системи без АК. Але в цілому, збільшення концентрації АК зменшує швидкість окиснення системи після виходу з періоду індукції. У таблиці 1 приведені кінетичні параметри процесу окиснення системи АІБН - ІПБ - Н₂О - АК киснем.

Таблиця 1. Значення величини періоду індукції (τ) і швидкості поглинання кисню ($W_{[O]}$) після виходу з нього в залежності від концентрації аскорбінової кислоти ($[АК]$) в системі АІБН - ІПБ - Н₂О - АК.

$[АК] \cdot 10^3$, моль/л	τ , хв	$W_{[O]} \cdot 10^6$, моль/(л·с)
0	0	$1,52 \pm 0,06$
0,27	8	$2,01 \pm 0,09$
0,50	10	$2,37 \pm 0,08$
0,68	9	$1,77 \pm 0,08$
0,80	10	$1,69 \pm 0,07$
1,00	8	$1,78 \pm 0,08$
5,00	12	$1,72 \pm 0,08$
7,95	9	$1,63 \pm 0,07$
10,00	10	$1,20 \pm 0,06$
50,00	6	$1,12 \pm 0,05$

Примітка: $[АІБН] = 2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, $[ІПБ] = 3,59$ моль/л, 348 К.

УФ-спектрофотометричним методом досліджено водну і органічну фази системи АІБН - ІПБ - Н₂О - АК, в якій спостерігали гетерофазний процес окиснення ІПБ в присутності АК. У досліджуваних розчинах виявлено кілька форм АК, кожен з яких фіксували на певній довжині хвилі поглинання, відповідно літературним значенням [10].

Як показано в таблиці 2, розподіл АК між органічною і водною фазами досліджуваної системи до початку процесу окиснення, коли кількість АК в реакційній суміші була достатня (згідно із взятим навішуванням), становило 15,2% і 84,8% відповідно.

Дослідження органічної і водної фаз окисненої системи, коли баланс АК в ній зміщений в сторону окисленої форми – дегідроаскорбінової кислоти, показало приблизно рівний розподіл залишкової кількості АК між фазами. Аскорбат-іон здебільшого утримувався в органічній фазі до початку окиснення досліджуваної системи і після.

Таблиця 2. Розподіл аскорбінової кислоти між органічною і водною фазами системи АІБН - ІПБ - Н₂О - АК до початку і наприкінці процесу окиснення.

Форма АК	Розподіл, %	
	Органічна фаза	Водна фаза
АК	15,2	84,8
	43,4*	56,6*
аскорбат-іон	78,3	21,7
	64,4*	35,6*

Примітка: * - для окиснених розчинів. [АІБН] = $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, [АК] = $5,00 \cdot 10^{-3}$ моль/л, [ІПБ] = 3,59 моль/л, 348 К.

Важливо відзначити той факт, що подібне співвідношення форм АК між фазами зберігається у всьому робочому діапазоні концентрацій АК (0,0001-0,01 моль/л) у суміші, що досліджується.

Висновки.

1. Газоволюмометричним методом досліджено процес радикально-ланцюгового окиснення кумолу у присутності аскорбінової кислоти в гетерофазних умовах. Отримано кінетичні параметри процесу.

2. Виконано спектральні дослідження фаз суміші АІБН - ІПБ - Н₂О – АК. Показано, що крім водної фази, АК і аскорбат-іон в значній кількості містяться і в органічній фазі.

3. Спостережувані кінетичні закономірності найімовірніше обумовлені наявністю розділу фаз в досліджуваній системі. В органічній фазі, де відбувається безпосередньо окиснення кумолу, аскорбінова кислота знаходиться в значно менших концентраціях, ніж у водній фазі.

4. Встановлено, що поряд з пригніченням окиснення кумолу, АК витрачається в паралельному процесі автоокиснення, про що свідчить характер зміни швидкості поглинання кисню системою при умовах збільшення концентрації АК.

5. На підставі отриманих результатів газоволюмометричного дослідження процесу радикально-ланцюгового окиснення кумолу в присутності аскорбінової кислоти та спектрального дослідження фаз окиснюваної суміші здається можливим зробити висновок: АК виконує антиоксидантні функції не тільки у водній фазі, як прийнято вважати, а й в органічній.

Список літератури.

1. Fotia M.C., Amorati R. Non-phenolic radical-trapping antioxidants // J. Pharm. Pharmacol. – 2009. - Vol. 61. – P. 1435–1448.
2. Skrovankova S., Mlcek J., Sochor J., Baron M., Kynicky J., Jurikova T. Determination of Ascorbic Acid by Electrochemical Techniques and other Methods // Int. J. Electrochem. Sci. – 2015. – Vol. 10. – P. 2421-2431.
3. Wang Y.-N., Lau K.-Ch., Lam W. W. Y., Man W.-L., Leung Ch.-F., Lau T.-Ch. Kinetics and Mechanism of the Oxidation of Ascorbic Acid in Aqueous Solutions by a trans-Dioxoruthenium(VI) Complex // Inorg. Chem. – 2009. – Vol. 48. – P. 400-406.

4. Uluata S., McClements D.J., Decker E.A. How the multiple antioxidant properties of ascorbic acid affect lipid oxidation in oil-in-water emulsions // J. Agric. Food Chem. – 2015. – Vol. 63. – P. 1819-1824.
5. Bradshaw M. P., Prenzler P. D., Scollary G. R. Ascorbic Acid-Induced Browning of (+)-Catechin In a Model Wine System // J. Agric. Food Chem. – 2001. – Vol. 49. – P. 934-939.
6. Miller D.M., Aust S.D. Studies of ascorbate-dependent, iron-catalyzed lipid peroxidation / D.M. Miller, S.D. Aust // Arch. Biochem. Biophys. - 1989. - Vol.271. - P.113-119.
7. Jayasinghe C., Gotoh N., Wada S. Pro-oxidant/antioxidant behaviours of ascorbic acid, tocopherol, and plant extracts in n-3 highly unsaturated fatty acid rich oil-in-water emulsions // Food Chem. – 2013. – Vol. 141. – P. 3077-3084.
8. Эмануэль Н.М., Заиков Г.Е., Майзус З.К. Роль среды в радикально-цепных
9. реакциях окисления органических соединений. – М.: Наука, 1973. – 297 с.
10. Armarego W.L.F., Chai Ch.L.L. Purification Of Laboratory Chemicals. – Elsevier Science, 2003. – 608 p.
11. Рудакова Л.В. Савушкин Р.В., Хрипушин В.В., Селеменев В.Ф. Многопараметрическая оптимизация состава смешанных растворителей для экстракции и спектрофотометрического определения аскорбиновой и никотиновой кислот // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2008. - № 1. – С. 32-36.