

УДК 542.2 + 612.4

Е.Г. БИРЮКОВА, К.К. ШАПОВАЛОВА, Г.А. САВИН
(Волгоград)

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛАКТАТА В ПРИРОДНЫХ ОБЪЕКТАХ*

Обобщены сведения по методам определения молочной кислоты в природных объектах. Рассмотрены особенности каждого из методов и возможности их применения.

Ключевые слова: природные объекты, среда, экология, анализ, метод определения, молочная кислота, лактат, гликолиз, углеводный обмен.

HELEN BIRYUKOVA, KATERINA SHAPOVALOVA, GENNADIY SAVIN
(Volgograd)

METHODS FOR DETERMINING LACTATE IN NATURAL OBJECTS

The article deals with the generalization of the information on the methods of determining lactic acid in natural objects. There are considered the features of each of the methods and the possibilities of their application.

Key words: natural objects, environment, ecology, analysis, determination method, lactic acid, lactate, glycolysis, carbohydrate metabolism.

Молочная кислота (лактат), как известно, является конечным продуктом анаэробного гликолиза, а, следовательно, продуктом жизнедеятельности живых организмов. Таким образом, ее можно обнаружить там, где эти организмы существуют.

Известны различные методы количественного определения лактата как в биологических материалах, так и в окружающей среде.

1. Определение лактата *n*-оксидафенилом

Один из предложенных ранее методов количественного определения молочной кислоты предполагает превращение ее в уксусный альдегид, который при реакции с *n*-оксидафенилом дает окрашенный аддукт, определяемый далее колориметрически [5]. Однако в этом методе используется концентрированная серная кислота, что требует соблюдения определенных предосторожностей (опасность обращения с ней). Кроме того, в этом случае возможно протекание различных побочных процессов, что значительно снижает точность определения лактата. Этот метод можно использовать в тех случаях, когда искомым компонент содержится в значительных количествах.

2. Энзиматический метод

Метод основан на ферментативном (энзиматическом) определении молочной кислоты [3]. Он позволяет работать с микроколичествами лактата, тем не менее, некоторые из применяемых в этом методе реагентов труднодоступны и требуют особых условий для их хранения, например, фермент лактатдегидрогеназа (ЛДГ, *L*-лактат-НАД-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.27). Этим методом целесообразно пользоваться при определении количественного содержания молочной кислоты в таких важных биологических средах, как плазма крови, спинномозговая жидкость и др.

3. Определение лактата реагентами железа (III)

Этот метод основан на способности лактата образовывать с указанным реагентами окрашенные в желтый цвет соединения, которые легко определяются колориметрически [1, 4].

Определение лактата хлоридом железа (III)

* Работа выполнена в рамках гранта ВГСПУ: НИОКТР «Интеграция традиционных и онлайн-форм обучения в системе общего образования» (регистрационный номер 121060200105-4).

Количественное определение молочной кислоты с помощью хлорида железа (III) является очень доступным и недорогим методом. Однако из-за достаточно малой чувствительности этот метод не всегда дает хорошие результаты. Кроме того, основным реагент – хлорид железа (III) – характеризуется очень высокой гигроскопичностью, что осложняет работу с ним. Этот метод можно рекомендовать для определения макроколичеств лактата.

Определение лактата сульфатом и нитратом железа (III)

Он отличается от описанного выше тем, что в нем применялись достаточно стабильные и удобные в обращении сульфат и нитрат железа (III). Разработка этого метода осуществлялась при количественном определении молочной кислоты в смывах с кожи человека и проходила в несколько этапов.

На первом этапе изучалось основное свойство солей железа (III) – светопоглощение их растворами различных органических кислот (см. табл. 1). Для приготовления этих растворов использовали сульфат железа (III) ($C=0,05$ моль/л), который добавляли к субстрату – органическим кислотам и их солям ($C=0,003$ моль/л).

Таблица 1

Поглощение растворами солей железа (III) некоторых органических кислот (λ 400 нм)

Субстрат	Величина поглощения	Характер окрашивания
Молочная кислота	–	Желтое
Лактат лития	0,55	Желтое
Цитрат натрия	0,36	Желтое
Винная кислота	0,50	Желтое
Сегнетова соль	0,55	Желтое
Щавелевая кислота	0,25	Желтое
Оксалат аммония	0,19	Желтое
Янтарная кислота	–	Окрашивания не дает
Уксусная кислота	–	Кирпично-красное
Ацетат натрия	–	Кирпично-красное
ПВК	–	Фиолетовое
Салициловая кислота	–	Фиолетовое
Аскорбиновая кислота	–	Фиолетовое

Следующий этап – изучение чувствительности реакций лактата лития с хлоридом, нитратом и сульфатом железа (III). Поглощение указанными солями зависит концентрации их растворов (табл. 2).

Таблица 2

Величины поглощений растворами лактата лития с использованием различных реагентов

Реагент	Концентрация лактата лития, моль/л	Поглощение при 400 нм	Коэффициент экстинкции
Хлорид железа (III)	0,25	0,03	$1,2 \cdot 10^2$
	0,50	0,06	
	1,0	0,13	
Сульфат железа (III)	0,25	0,045	$1,8 \cdot 10^2$
	0,50	0,09	
	1,0	0,18	

Реагент	Концентрация лактата лития, моль/л	Поглощение при 400 нм	Коэффициент экстинкции
Нитрат железа (III)	0,25	0,045	$1,8 \cdot 10^2$
	0,50	0,09	
	1,0	0,18	

Как видно из табл. 2, при одних и тех же концентрациях интенсивности поглощения растворами, полученными смешением растворов лактата лития с сульфатом или нитратом железа (III), выше, чем с хлоридом. Это указывает на то, что реакции с использованием сульфата или нитрата железа (III) являются более чувствительными, что и позволило их выбрать в качестве реагентов для количественного определения лактата.

Метод достаточно чувствителен и может быть рекомендован для количественного определения молочной кислоты с целью контроля уровня физических нагрузок в спортивной физиологии, а также в других областях спортивной медицины и медицинской химии.

4. Титриметрический метод определения лактата

Титриметрический метод является одним из достаточно точных методов количественного определения веществ в растворах. Он очень удобен и сравнительно прост в техническом исполнении. В этом заключаются его преимущества перед другими методами количественного определения веществ.

Метод основан на титровании растворов, содержащих молочную кислоту, растворами солей железа (III), в частности железоммонийных квасцов $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, в присутствии индикаторов [2].

В качестве индикаторов при титровании использовали 15%-й водный раствор роданида калия и 5%-й спиртовой раствор салициловой кислоты.

Титрование стандартных растворов железоммонийных квасцов растворами лактата лития в присутствии одного из индикаторов проводилось в химических стаканах емкостью 100 мл не менее трех раз, используя при этом растворы сравнения (табл. 3).

Таблица 3

Титрование растворов железоммонийных квасцов растворами лактата лития в присутствии роданида калия

$C_{\text{H}} (\text{Fe}^{3+})$, моль/л	$V_{\text{раствора}} (\text{Fe}^{3+})$, мл	$V_{\text{раствора}} (\text{Iac})$, мл	$C_{\text{H}} (\text{Iac})$, моль/л	
			опытная	контрольная
0,025	10	5	0,05	0,05
0,025	10	10	0,025	0,025
0,025	10	12,5	0,02	0,02
0,05	10	10	0,05	0,05
0,05	10	12,5	0,04	0,04
0,05	10	20	0,025	0,025

Этот метод можно рекомендовать для количественного определения молочной кислоты в таких биологических жидкостях, как, например, кровь, слюна, моча, кожный экскрет при оценке физиологического состояния организма; в продуктах сельскохозяйственного производства для оценки их качества; в различных природных средах при экологических исследованиях и др.

Таким образом, рассмотрены основные методы определения лактата в объектах окружающей среды. Все они с успехом могут быть применены в школьном курсе химии в исследовательской работе школьников. Их использование открывает широкие возможности интегрированного обучения, в том числе, основанного на внедрении традиционных и онлайн-форм обучения.

Литература

1. Савин Г.А., Перфильева О.Н. Кожный тест на стресс. // Клиническая лабораторная диагностика. 1998. № 11. С. 7–8.
2. Савин Г.А., Смирнов В.Б., Храмов В.А. Титриметрический метод определения лактата // Гигиена и санитария. 1997. № 1. С. 53–54.
3. Северин Е.С. Биохимия. М.: Геотар-медиа, 2005.
4. Храмов В.А., Савин Г.А. Простой метод определения лактата в биологических жидкостях // Гигиена и санитария. 1995. № 4. С. 52–54.
5. Храмов В.А. Определение в одной пробе лактата и ряда азотистых шлаков, экскретируемых кожей человека // Теория и практика физической культуры. 1996. № 9. С. 14–15.