

Y  
X

422  
ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС РАБОТНИКОВ  
НИИ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

th EUROPEAN CONGRESS  
OF MEAT RESEARCH INSTITUTES

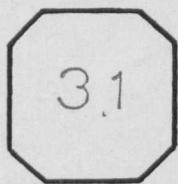
ter EUROPÄISCHER KONGREß  
DER FLEISCHFORSCHUNGSIINSTITUTE

e me CONGRES EUROPEEN  
DES INSTITUTS DE RECHERCHES  
SUR LES VIANDES

A.K. Искандарян

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗАКИСНОГО И ОКИСНОГО  
ЖЕЛЕЗА В ЗЕЛЕНЫХ И ТЕМНО-ЗЕЛЕНЫХ  
ПИГМЕНТАХ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

N



МОСКВА 1963г.

THE ALL-UNION RESEARCH INSTITUTE OF MEAT INDUSTRY  
U S S R

423

PHOTOCOLORIMETRIC DETERMINATION OF FERROUS AND FERRIC IRON IN GREEN AND DARK GREEN PIGMENTS OF MUSCLE TISSUE

Iskandaryan A.K., Cand. of Chem. Sci.

S U M M A R Y

To determine  $\text{Fe}^{++}$  and  $\text{Fe}^{+++}$  in hemoglobin solutions and in water, we have previously worked out a photocolorimetric method based on photocolorimetry of ferric thiocyanate. Despite its accuracy and other advantages, this method is "capricious" as to obtain reproducible results it is necessary to strictly provide constant temperature of the enivironic conditions and constant time periods from the moment of preparing solutions to the beginning of colorimetry. The use of the method is limited as high concentrations of reducing agents for  $\text{Fe}^{+++}$  in the colorimetrated solution and diffuse daylight discolour ferric thiocyanate. The method requires a great quantity of acetone. The above facts restrict a wide application of this method.

The present investigation has resulted in the working out of a quantitative method of determination of ferrous and ferric iron traces when they are both present in green and dark green pigments; this method is based on ferrodipyridile photocolorimetry, it lacks the defects of the rhodanide method. To determine the  $\text{Fe}^{+++}$  concentration, it is necessary to preliminary determine the  $\text{Fe}^{++}$  content. The  $\text{Fe}^{+++}$  concentration is calculated by subtracting the  $\text{Fe}^{++}$  concentration from

the total  $\text{Fe}^{++}$  and  $\text{Fe}^{+++}$  content. As a reducing agent for  $\text{Fe}^{+++}$  we used hydroxylamine. It has been established that the worked out  $L,L'$ -dipyridile method does not yield in its accuracy to the rhodanide method (worked out by us earlier) of  $\text{Fe}^{+++}$  and  $\text{Fe}^{++}$  determination in hemoglobin solutions. There have been worked out optimal conditions for  $\text{Fe}^{++}$  and  $L,L'$ -dipyridile reaction. By means of the  $L,L'$ -dipyridile method we have shown that the concentration of oxidized ferrous ions in green pigments, obtained from the muscle tissue, is similar to the concentration of the same ions of blood green pigments and equals to 6.3%, whereas in dark green pigments it equals to 10.5%.

A particular series of experiments has been devoted to identification of green and dark green pigments, obtained from metmyoglobin, by spectral analysis. These experiments resulted in establishing the fact that a green pigment solution with 6.3%  $\text{Fe}^{+++}$  content gives the maximum absorption at  $625\text{m}\mu$ , and with 10.5%  $\text{Fe}^{+++}$  content - at  $640\text{m}\mu$ . These data indicate that the green pigments of blood and muscle tissue, which have different absorption maxima, differ, in their turn, from each other in the degree of oxidation of ferrous iron.

EINE PHOTOKOLORIMETRISCHE METHODE ZUR BESTIMMUNG VON  
FERROOXYD UND FERRIOOXYD IN GRÜNEN UND DUNKELGRÜNEN  
MUSKELGEWEBEPIGMENTEN

Kand. Chem. A.K. Iskandarjan

Z U S A M M E N F A S S U N G

Zur Bestimmung von Fe<sup>++</sup> und Fe<sup>+++</sup> in den Hämoglobinlösungen und im Wasser wurde eine photokolorimetrische Methode entwickelt, die auf dem Kolorimetrieren von Eisenrhodanid gründet. Trotz ihrer Präzisität und anderer Vorteile ist diese Methode, wenn man so sagen darf, recht launisch, da zur Erhaltung von reproduzierbaren Resultaten eine Konstante Umgebungstemperatur sowie eine konstante Zeitdauer gerechnet von der Herstellung der Lösung bis zum Beginn der Kolorimetrierung nötig sind.

Die Anwendung der Methode ist beschränkt, da die hohen Konzentrationen des Fe<sup>+++</sup> - Reduktionsmittels in der zu kolorimetrierenden Lösung und das zerstreute Tageslicht das Eisenrhodanid entfärben. Der Verbrauch von Aceton ist auch sehr hoch. Das Aufgezählte beschränkt eine weite Anwendung dieser Methode.

Die vorliegende Untersuchung führte zur Entwicklung einer quantitativen Methode zur Bestimmung von winzigen Ferro- sowie Ferrioxyd-Mengen bei deren gemeinsamen Gegenwart in grünen und dunkelgrünen Pigmenten. Die Methode gründet auf der Ko-

lorimetrierung der Ferrodipyridil und weist keine Nachteile der Rhodanidmethode auf. Zur Bestimmung der Fe<sup>+++</sup> - Konzentration soll zunächst der Fe<sup>++</sup> - Anteil bestimmt werden. Die Fe<sup>+++</sup> - Konzentration wird berechnet durch Subtrahieren der Fe<sup>++</sup> - Konzentration aus der Gesamtgehalt an Fe<sup>++</sup> und Fe<sup>+++</sup>. Als Fe<sup>+++</sup> - Reduktionsmittel diente Hydroxylamin. Es wurde festgestellt, daß die neu entwickelte L,L'-Dipyridilmethode steht an der Präzisität der früher entwickelten Rhodanidmethode der Fe<sup>+++</sup> und Fe<sup>++</sup> - Bestimmung in den Hämoglobinlösungen nicht nach. Dabei wurden die optimalen Bedingungen des Reaktionsverlaufs zwischen Fe<sup>++</sup> und L,L'-Dipyridil festgestellt. Mit Hilfe der entwickelten L,L'-Dipyridilmethode wurde gezeigt, daß die Konzentration der oxydierten Fe<sup>++</sup> - Ionen in den aus dem Muskelgewebe isolierten grünen Pigmenten der Konzentration derselben grünen Blutpigmenten ähnlich ist und 6,3% beträgt, während sie in den dunkelgrünen Pigmenten 10,5% ausmacht.

In einer Versuchsreihe wurden die Untersuchungen zur Identifizierung durch Spektralanalyse der aus Metmyoglobin isolierten grünen und dunkelgrünen Pigmente vorgenommen. Die Untersuchungen ergaben, daß die Grünpigmentlösung mit 6,3% Fe<sup>+++</sup> das Absorptionsmaximum bei 625 m $\mu$  hat, während dieselbe mit 10,5% - bei 640 m $\mu$ . Diese Befunde zeigen, daß die Grünpigmente von Blut und Muskelgewebe, die verschiedene Absorptionsgipfel aufweisen, sich ihrerseits voneinander durch den Oxydationsgrad des Ferrooxydes unterscheiden.

Всесоюзный научно-исследовательский институт  
мясной промышленности СССР

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕ-  
НИЯ ЗАКИСНОГО И ОКИСНОГО ЖЕЛЕЗА В ЗЕЛЕНЫХ  
И ТЕМНО-ЗЕЛЕНЫХ ПИГМЕНТАХ МЫШЕЧНОЙ  
ТКАНИ

Канд. хим. наук А.К. Исакандарян

А Н Н О Т А Ц И Я

Для определения  $\text{Fe}^{''}$  и  $\text{Fe}^{'''}$  в растворах гемоглобина и в воде ранее нами был разработан фотоколориметрический метод, основанный на колориметрировании роданинового железа. Несмотря на свою точность и целый ряд других преимуществ, этот метод капризен, так как для получения воспроизводимых результатов необходимо строго соблюдать постоянство температуры окружающей среды и времени с момента приготовления растворов до начала колориметрирования. Применение метода ограничено, так как высокие концентрации восстановителя  $\text{Fe}^{''}$  в колориметрируемом растворе и дневной рассеянный свет обесцвечивают родановое железо. Метод требует также расхода большого количества ацетона. Все сказанное ограничивает широкое применение метода.

В результате настоящих исследований разработан качественный метод определения очень малых количеств закисного и окисного железа при их совместном присутствии в зеленых и темно-зеленых пигментах, основанный на фотоколориметрировании окраски ферро-

дипиридила и свободный от недостатков роданидного метода. Для определения концентрации  $\text{Fe}^{++}$  необходимо предварительно определить содержание  $\text{Fe}^{++}$ . Концентрацию  $\text{Fe}^{++}$  рассчитывают путем вычитания из общего содержания  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  концентрации  $\text{Fe}^{++}$ . В качестве восстановителя  $\text{Fe}^{++}$  применен гидроксиламин. Установлено, что разработанный  $\alpha,\alpha'$ -дипиридилиловый метод по точности не уступает разработанному нами ранее роданидному методу определения  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{++}$  в растворах гемоглобина. При этом выработаны оптимальные условия проведения реакции  $\text{Fe}^{++}$  с  $\alpha,\alpha'$ -дипиридилилом. При помощи разработанного  $\alpha,\alpha'$ -дипиридилилового метода показано, что концентрация окисленных ионов двухвалентного железа в зеленых пигментах, полученных из мышечной ткани, аналогична концентрации тех же ионов зеленых пигментов крови и составляет 6,3%, тогда как в темно-зеленых - 10,5%.

В отдельной серии опытов были проведены исследования по идентификации зеленых и темно-зеленых пигментов, полученных из метмиоглобина, при помощи спектрального анализа. В результате этих исследований было установлено, что раствор зеленого пигмента с содержанием 6,3%  $\text{Fe}^{++}$  дает максимум поглощения при 625 мкм, а с 10,5% при 640 мкм. Эти данные показывают, что зеленые пигменты крови и мышечной ткани, имеющие различные максимумы поглощения, в свою очередь отличаются друг от друга степенью окисления заскисного железа.

426

Всесоюзный научно-исследовательский институт  
мясной промышленности. СССР

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗАКИСНОГО И ОКИСНОГО ЖЕЛЕЗА В ЗЕЛЕНЫХ И ТЕМНО-ЗЕЛЕНЫХ ПИГМЕНТАХ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Канд. хим. наук А.К. Искандарян

Необходимость определения очень малых количеств закисного и окисного железа при их совместном присутствии в растворе возникла в связи с исследованиями механизма образования и химической природы зеленых пигментов мышечной ткани /1, 2/. Кроме того, достаточно чувствительный, точный и быстрый метод определения  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  необходим для решения ряда вопросов технологии /2-8/.

Ранее для определения  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  в растворах гемоглобина и воде нами /1, 2, 6/ был разработан фотоколориметрический метод, основанный на колориметрировании роданового железа. Несмотря на свою точность и целый ряд других преимуществ, этот метод капризен, так как для получения воспроизводимых результатов необходимо строго соблюдать постоянство температуры окружающей среды и времени с момента приготовления растворов до начала колориметрирования.

Применение метода ограничено, так как высокие концентрации восстановителя  $\text{Fe}^{+++}$  в колориметрируемом растворе и дневной рассеянный свет обесцвечивают родановое железо /9/. Метод требует также расхода большого количества ацетона. Все сказанное ограничивает

широкое применение разработанного нами роданидного метода. Однако указанный метод все еще остается единственным методом определения  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  при их совместном присутствии в биологических средах.

Цель настоящей работы - создать фотоколориметрический метод определения очень малых количеств  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  в зеленых пигментах мышечной ткани, свободный от вышеуказанных недостатков роданидного метода /1, 2/.

Из существующих реакций для колориметрического определения  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  реакции на  $\text{Fe}^{++}$  дают соединения, отличающиеся постоянством и большой устойчивостью по отношению к теплу, свету, восстановителям  $\text{Fe}^{+++}$ , хлоридам, кислотам, щелочам и кислороду воздуха. Для получения этих соединений наиболее распространенными реактивами являются:  $\alpha, \alpha'$ -дипиридили и о-фенантролин /9/. Однако в присутствии  $\text{Fe}^{+++}$  более пригоден  $\alpha, \alpha'$ -дипиридили /10/. Сущность реакции состоит в способности  $\text{Fe}^{++}$  (при pH 3-9) давать с органическим основанием  $\alpha, \alpha'$ -дипиридилиом растворимые комплексные катионы типа гексаминоных солей, окрашенных в красный цвет. Реакция специфична для  $\text{Fe}^{++}$  /9/. Для того чтобы определение  $\text{Fe}^{++}$  было достаточно точным, необходимо соблюдение ряда условий. На точность влияет вид присутствующего буферного раствора и pH среды. Как показали наши опыты, реакция в ацетатном буфере идет намного интенсивнее, чем в цитратно-фосфатной смеси. При этом интенсивность окраски не зависит от количества ацетатного буфера. Результаты наших опытов показали также, что в противоположность литературным данным /11/ максимальная экстинкция достигается не при pH 4,6, а при более кислой среде, т.е. при pH 2,3-3,6. При этих pH для быстрого достижения максимальной экстинкции раствор необходимо предварительно выдержать при комнатной температуре в течение 35-40 мин., а затем нагревать на кипящей водяной бане 10-12 мин. При этом максимальная экстинкция сохраняется в течение 15-16 час. (на более длительное время

сохранения максимальной экстинкции опыты не проводились). При комнатной температуре (без нагревания) при вышеуказанных pH и буферной смеси максимальная экстинкция достигается уже через 12 час. /12/.

Для отщепления  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  от зеленых пигментов мы аналогично отщеплению железа от гемоглобина /13/ применяли концентрированную  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (уд. вес 1,835), которая затем разбавляется прямо в центрифужной пробирке. Так как при разбавлении концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  раствор нагревается, ускоряя окисление  $\text{Fe}^{++}$  атмосферным кислородом /14, 15/, то разбавления следует производить на холоде или же удалять растворенный кислород. Как показали наши опыты, нагревание также способствует ускорению отщепления  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  от зеленых пигментов. Предварительно кислород удаляют из растворов зеленых пигментов, раствора трихлоруксусной кислоты и бидистиллированной воды. Удаление  $\text{O}_2$  из указанных растворов осуществляют углекислым газом. Для этого  $\text{CO}_2$  интенсивным потоком пропускают через небольшие объемы (5-10 мл) этих растворов; через 10-12 мин. поток газа прекращают, а поверхность растворов заливают вазелиновым маслом; толщина слоя не менее 3-4 см. Перенос полученных растворов осуществляют пипетками, куда предварительно набирают вазелиновое масло /16/.

Для образования ферродипиридила использовали 0,5%-ный  $\alpha, \alpha'$ -дипиридил /10/. 1 мл такого раствора вполне достаточно для наших опытов. Опыты показали также, что избыток гидроксиламина и дневной рассеянный свет не влияют на ферродипиридил.

После выработки оптимальных условий проведения реакции нами выяснено влияние на нее  $\text{NaCl}$ , обычно присутствующего (около 5%) в зеленых пигментах. Было установлено, что присутствие 10 мг  $\text{NaCl}$  в 10 мл колориметрируемого раствора не оказывает влияния на точность.

Приготовление реагентов:  
1) 0,5%-ный раствор  $\alpha, \alpha'$ -дипиридила (0,5 г реакти-

ва переносят в мерную колбу емкостью 100 мл, добавляют 1 мл 0,1 н.  $HCl$ , а затем 60–70 мл бидистиллированной воды, нагревают до растворения  $\alpha,\alpha'$ -дипиридила, охлаждают и доводят той же водой до метки);

- 2) ацетатный буферный раствор –рН 3,29 /17/;
- 3) концентрированная  $H_2SO_4$  (х.ч., уд.вес 1,835);
- 4) растворы:  $H_2SO_4$  (1 н.; 0,02 н.);  $KOH$  (1 н.); 3 н.  $KOH$  в 3,3%-ном  $CCl_3COOH$ ;  $HCl$  (1 н.; 0,1 н.) и  $CH_3COONa \cdot 3H_2O$  (1 н.);
- 5) насыщенный раствор  $CH_3COONa$ ;
- 6) 20%-ная трихлоруксусная кислота;
- 7) 1%-ный и 0,1%-ный гидроксиамин солянокислый; растворы хранят при 4°;
- 8) вода для разбавления должна быть бидистиллированной и прокипяченной.

Приготовление стандартных растворов. 0,2158 г железоаммонийных квасцов ( $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ ) помещают в мерную колбу на 250 мл, растворяют нагреванием в 200 мл 0,02 н.  $H_2SO_4$ , охлаждают и доводят той же кислотой до метки, 1 мл такого раствора содержит 100 мкг  $Fe^{+++}$ . Из этого раствора готовят второй раствор с содержанием 10 мкг  $Fe^{+++}$  в 1 мл. Для этого 10 мл исходного раствора разводят бидистиллированной водой до 100 мл.

Построение калибровочной кривой. В мерные колбы на 25 мл переносят соответствующее количество миллилитров второго стандартного раствора из такого расчета, чтобы содержание  $Fe^{+++}$  было от 1 до 16 мкг с разницей концентрации в 1 мкг. Далее последовательно прибавляют 3 мл 1 н.  $H_2SO_4$ , 1 мл 3 н.  $KOH$  в 3,3%-ном  $CCl_3COOH$ , 0,15 мл насыщенного раствора  $CH_3COONa$ , 5 мл ацетатного буфера и 5 мл бидистиллированной воды. Перемешивают и охлаждают до комнатной температуры. Добавляют 1 мл 1%-ной  $NH_2OH \cdot HCl$ , перемешивают и вносят 1 мл 0,5%-ного  $\alpha,\alpha'$ -дипиридила. После этого колбы оставляют стоять при комнатной температуре 35–40 мин.; погружают на 10–12 мин. в кипящую водяную

баню, а затем, вынув, охлаждают водопроводной водой, доводят до метки бидистилированной водой, перемешивают, после чего раствор фотоколориметрируют. Светофильтр зеленый. Длина кюветы 50 мм.

По полученным результатам строят калибровочный график. При этом линейная зависимость между интенсивностью окраски и содержанием  $\text{Fe}^{+++}$  (или  $\text{Fe}^{++}$ ) соблюдается при концентрации последнего в пределах 1-15 мкг в 25 мл колориметрируемого раствора. При более высоких концентрациях наблюдается отступление от прямолинейной зависимости, и развивающаяся окраска не подчиняется закону Ламберта-Бера.

Опыты со стандартным раствором перекристаллизованной соли Мора ( $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{S}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), содержащим 10 мкг  $\text{Fe}^{++}$  в 1 мл, показали полную воспроизведимость калибровочной кривой  $\text{Fe}^{+++}$  и для определения  $\text{Fe}^{++}$ . Эти опыты отличались от предыдущих лишь тем, что 1 мл 1%-ного раствора  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  не добавляют. Содержание  $\text{Fe}^{++}$  в соли Мора контролируют перманганатометрически /18/.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАКИСНОГО И ОКИСНОГО ЖЕЛЕЗА В ЗЕЛЕНЫХ И ТЕМНО-ЗЕЛЕНЫХ ПИГМЕНТАХ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Сначала из метмиоглобина были получены зеленые и темно-зеленые пигменты.\* Для этого 25 мг метмиоглобина растворяют в 3 мл бидистилированной воды в пробирке с меткой на объем 5 мл.Добавляют 0,5 мл ацетатного буферного раствора, имеющего pH 5,2 (при этом pH происходит наиболее интенсивное образование зеле-

\* Препарат метмиоглобина был любезно предоставлен нам О.В.Троицкой (лаборатория химии белка Института биологической и медицинской химии АМН СССР), которой выносим глубокую благодарность. Препарат был получен по методу Рош и Виелл /19/.

ных пигментов /1, 2/. Далее в раствор вносят 0,5 мл 0,1%-ного  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  и доводят до метки бидистиллированной водой; перемешивают и оставляют стоять при комнатной температуре 5-6 суток. К этому времени раствор принимает зеленую (вернее, оливково-зеленую) окраску. Темно-зеленые пигменты получают из зеленых пигментов путем их выдержки в тех же условиях дополнительно в течение 6-7 суток. Этот процесс можно ускорить добавлением хлористого натрия /1, 2/. По истечении необходимого срока выдержки раствор в пробирке доводят до метки (5 мл) бидистиллированной водой, перемешивают, удаляют из него воздух и поверхность заливают вазелиновым маслом. После этого 1 мл полученного раствора с вышеуказанными предосторожностями переносят под слой вазелинового масла (толщиной не менее 2 см), содержащегося в центрифужной пробирке. Пробирка градуируется на объем 6 мл. Туда же вносят 0,5 мл концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (уд. вес 1,835), осторожно перемешивают стеклянной палочкой в течение 5-6 мин. (стеклянную палочку не вынимают из пробирки до момента доведения до метки). Затем с указанными предосторожностями добавляют 3 мл не содержащей кислорода бидистиллированной воды, нагревают на водяной бане при 70-80° в течение 10 мин., а затем охлаждают водопроводной водой. Вносят с теми же предосторожностями 1 мл 20%-ной трихлоруксусной кислоты, перемешивают 2-3 мин., охлаждают и, медленно вынув стеклянную палочку из пробирки, доводят раствор той же водой до метки (6 мл). Перемешивают стеклянной палочкой и, вынув ее, центрифицируют раствор при 5000 об/мин. в течение 10 мин. После этого раствор готов для анализа.

Определение закисного железа. 1 мл центрифугата переносят в охлаждаемую льдом 25 мл мерную колбу, куда через 10 мин. вносят 3 мл 1 н.  $\text{KOH}$  и 0,15 мл насыщенного раствора  $\text{CH}_3\text{COONa}$ . Перемешивают и через 10-12 мин., прибавляют 5 мл ацетатного буфера и 5 мл бидистиллированной воды. Затем добав-

ляют 1 мл 0,5%-ного  $\alpha, \alpha'$ -дипиридила. Далее повторяют все операции, описанные при построении калибровочной кривой для  $\text{Fe}^{+++}$ . После учета соответствующих разбавлений устанавливают концентрацию  $\text{Fe}^{++}$  в 5 мл исходного раствора зеленых или темно-зеленых пигментов.

Определение окисного железа. Повторяют те же операции, что и для определения закисного железа, но лишь с той разницей, что раствор не охлаждают, и перед внесением  $\alpha, \alpha'$ -дипиридила в раствор добавляют 1 мл 1%-ного  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ . Далее повторяют вышеописанные операции. Таким образом устанавливают общее содержание  $\text{Fe}^{+++}$  и  $\text{Fe}^{++}$  в 5 мл исходного раствора зеленых или темно-зеленых пигментов. Концентрацию окисного железа в этом растворе рассчитывают путем вычитания из общего содержания  $\text{Fe}^{+++}$  и  $\text{Fe}^{++}$  концентрации  $\text{Fe}^{++}$ .

Результаты определений приведены в таблице.

Содержание закисного и окисного железа в зеленых и темно-зеленых пигментах мышечной ткани

Окраска	Показатели, мкг в 5 мл раствора		
	$\text{Fe}^{++}$	$\text{Fe}^{++} + \text{Fe}^{+++}$	$\text{Fe}^{+++}$
Зеленая	7,7310	8,2508	0,5198
Темно-зеленая	7,3840	8,2504	0,8664

Подсчет суммарного содержания  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  в 5 мл раствора зеленых или темно-зеленых пигментов на навеску взятого метмиоглобина (25 мг) показывает, что содержание железа в метмиоглобине (или в миоглобине), полученном по методу Рош и Виэлл /19/, составляет 0,83%. Этот результат подтверждает данные этих авторов, определивших содержание железа в миоглобине по его молекулярному весу.

Для сравнения результатов определения  $\text{Fe}^{..}$  и  $\text{Fe}^{...}$  в зеленых и темно-зеленых пигментах мышечной ткани по разработанному  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -дипиридиловому методу с данными определения этих же ионов в зеленых пигментах крови по роданидному методу /1, 2/, произведен подсчет процентного содержания  $\text{Fe}^{..}$  и  $\text{Fe}^{...}$  в зеленых пигментах, полученных из метмиоглобина. Подсчет показал, что процентное содержание  $\text{Fe}^{..}$  и  $\text{Fe}^{...}$  в зеленых и темно-зеленых пигментах, полученных из метмиоглобина, одинаково с процентным содержанием  $\text{Fe}^{..}$  и  $\text{Fe}^{...}$  в зеленых и темно-зеленых пигментах, приготовленных из метгемоглобина. Для зеленых пигментов:  $\text{Fe}^{...}$  - 6,3%,  $\text{Fe}^{..}$  - 93,7%; для темно-зеленых пигментов:  $\text{Fe}^{...}$  - 10,5%,  $\text{Fe}^{..}$  - 89,5%. Эти данные показывают, что по точности разработанный  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -дипиридиловый метод не уступает роданидному и имеет перед ним то преимущество, что он свободен от недостатков роданидного метода.

Во всех случаях для установки фотоколориметра параллельно с основным определением производят те же операции, только вместо  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -дипиридила добавляют бидистиллированную воду.

В заключение в отдельной серии опытов нами были проведены исследования по идентификации зеленых и темно-зеленых пигментов, полученных из метмиоглобина, при помощи спектрального анализа. В результате этих исследований было установлено, что раствор зеленого пигмента с содержанием 6,3%  $\text{Fe}^{...}$  дает максимум поглощения при 625 мкм, а с 10,5% - при 640 мкм. Эти данные показывают, что зеленые пигменты крови и мышечной ткани, имеющие различные максимумы поглощения /20, 21/, в свою очередь отличаются друг от друга степенью окисления закисного железа.

## ВЫВОДЫ

1. Разработан количественный метод определения очень малых количеств закисного и окисного железа при их совместном присутствии в зеленых и темно-зеленых пигментах, основанный на фотоколориметрировании окраски ферродипиридила. Для определения концентрации  $\text{Fe}^{+++}$  необходимо предварительно определить содержание  $\text{Fe}^{++}$ . Концентрацию  $\text{Fe}^{+++}$  рассчитывают путем вычитания из общего содержания  $\text{Fe}^{++}$  и  $\text{Fe}^{+++}$  концентрации  $\text{Fe}^{++}$ . В качестве восстановителя  $\text{Fe}^{++}$  применен гидроксиаламин.

2. Установлено, что разработанный  $d,d'$ -дипиридиловый метод по точности не уступает разработанному нами ранее роданидному методу определения  $\text{Fe}^{+++}$  и  $\text{Fe}^{++}$  в растворах гемоглобина и имеет то преимущество, что свободен от недостатков роданидного метода. При этом выработаны оптимальные условия проведения реакции  $\text{Fe}^{++}$  с  $d,d'$ -дипиридилом.

3. Показано, что концентрация окисленных ионов двухвалентного железа в зеленых пигментах, полученных из мышечной ткани, аналогична концентрации тех же ионов зеленых пигментов крови и составляет 6,3%, тогда как в темно-зеленых - 10,5%. При этом раствор зеленого пигмента, содержащего 6,3%  $\text{Fe}^{+++}$ , дает максимум поглощения при 625 мкм, а с 10,5% - при 640 мкм. Эти данные показывают, что зеленые пигменты крови и мышечной ткани, имеющие различные максимумы поглощения, отличаются друг от друга также по степени окисления  $\text{Fe}^{++}$ .

## ЛИТЕРАТУРА

1. Искандарян А.К. Исследования в области механизма образования зеленых пигментов соленых мясопродуктов. Доклад на УШ Европейском конгрессе работников НИИ мясной промышленности. М., 1962.
2. Искандарян А.К. Пигментация соленых мясопродуктов и ее предупреждение. Цинтипищепром, М., 1962.
3. Искандарян А.К. Тр. ВНИИМПа, вып. X1, 1962, 139-143.
4. Искандарян А.К. Интенсификация процесса образования красного цвета при посоле мяса. Доклад на УШ Европейском конгрессе работников НИИ мясной промышленности, М., 1962.
5. Искандарян А.К. "Пищ. пром." (мясная и птицеперерабатывающая), 2, 1963, 17-19.
6. Искандарян А.К. "Пищ. пром." (мясная и птицеперерабатывающая), 1963.
7. Iskandaryan A.K., Effect of myoglobin iron content of muscular tissue on the concentration of nitrosomyoglobin on the process of tissue curing. VI Meating of Meat Research Institutes. Utrecht, 1960.
8. Дроздов Н., Искандарян А., "Изв. вузов СССР", Пищ.технол., 6, 1959, 38.
9. Sandell E. Colorimetric Determination of Traces of Metals. London, 1959.
10. Блок Н.И. Количественный химический анализ, Госхимиздат, М.Л., 1952.
11. Казаринова-Окина В. А. "Заводск. лаб.", 10, 7, 1938, 1106.
12. Мацувара, "РЖ Биохимия", 1956, 6325.

13. Залесский И. "Химия красящего вещества крови", XLVIII, вып. 6-7, 1916, 1447.
14. Friend J., Fritchett E. "J. chem. soc.", 3, 12, 1928, 3227.
15. Алексеев В.Н. Количественный анализ. Госхимиздат М., 1954.
16. Балаховский С.Д., Балаховский И.С., Методы химического анализа в крови. Медгиз, 1953.
17. Калякин Ю. В. Кислотно-основные индикаторы. Госхимиздат. М.-Л., 1951.
18. Кольтгоф И. М. и Сендэл Е.Б., Количественный анализ. Госхимиздат. М.-Л., 1948.
19. Roche J. a. Viell H. "C.r.Acad.sci.", Paris, 210, 1940, 314.
20. Kiese M. u. Kaeske H. "Biochem. Zs", 312, 3-4, 1942, 9.
21. Lemberg R. a. Legge J. Hematin Compounds and Bile Pigments. New York, 1949.