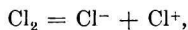


ZMENA OBSAHU VOĽNÉHO CHLÓRU ÚČINKOM AMINOKYSELÍN NA CHLÓROVÚ VODU

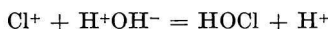
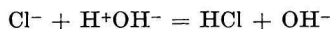
EUDOVÍT STANKOVIČ

Oddelenie glycidov a biochémie Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Pri zavádzaní chlóru do vody, ako je známe, molekula chlóru sa rozštiepi na chlórový anión a chlórový katión:



pričom chlórový anión i chlórový katión reagujú ďalej s vodou za vzniku kyseliny soľnej a kyseliny chlórnej:



Kyselina chlórna, jej anorganické soli, ako aj organické chlórámíny sa vyznačujú silným oxydačným a chloračným pôsobením, to znamená, že ľahko odštiepujú chlór, ktorý je viazaný labilne, v aktívnej forme. Aktívny chlór sa najbežnejšie stanovuje jodometricky alebo arzenometricky. Na stanovenie aktívneho chlóru sa ďalej používajú niektoré jeho reakcie s organickými farbivami, ako s benzidínom, *o*-tolidínom, *p*-aminodimetylanilínom atď. Iné organické farbivá sa zasa pôsobením voľného aktívneho chlóru v chlórovej vode odfarbia. Neodfarbia sa však pôsobením anorganických chlórnanov alebo organických chlórámínov. Z rozdielu porovnania jodometrickej titrácie celkového aktívneho chlóru a stanovenia voľného aktívneho chlóru je teda daný viazaný aktívny chlór. Najbežnejšie organické farbivo na titračné stanovenie voľného aktívneho chlóru je metyloranž.

Stanovenie voľného aktívneho chlóru v zriedených vodných roztokoch titráciou pomocou metyloranže opísal r. 1928 Besemann [1]. Ako prvý zistil, že po pridaní amónnych solí do roztoku chlórovej vody dochádza k zmene obsahu voľného aktívneho chlóru v dôsledku tvorby chlórámínov, ktoré nereagujú s metyloranžou. Podobné výsledky dosiahol r. 1946 M. Taras [2].

Spôsoby stanovenia aktívneho chlóru jodometricky, metyloranžou, arzenitanom, *o*-tolidínom a *p*-aminodimetylanilínom porovnali r. 1950 J. J. Lur'e a Z. V. Nikolajevová [3]. Autori odporúčajú metyloranžovú titráciu ako vhodnú na stanovenie voľného aktívneho chlóru z celkového aktívneho chlóru.

Stanovenie voľného aktívneho chlóru vedľa chlórámínov opisuje ďalej r. 1953 W. Szypovski [4].

P. M. Litvinenko a V. S. Rozovskij [5] r. 1954 potvrdili Tarasove výsledky a súčasne pozorovali, že k zmene obsahu voľného aktívneho chlóru dochádza i po pridaní močoviny a keratínu. Pri svojich pokusoch použili veľký nadbytok týchto dusíkatých látok.

Výsledky prác uvedených autorov, v ktorých sa opisuje zmena obsahu voľného aktívneho chlóru, resp. jeho úplná strata v zmesi spolu s niektorými organickými látkami s obsahom aminoskupín, doplnil som jednak skúmaním vplyvu ďalších aminoszlúčenín na obsah voľného aktívneho chlóru v chlórovej vode, jednak skúmaním vplyvu aminoszlúčenín na obsah voľného aktívneho chlóru za rôzneho pomeru chlórovej vody k aminoszlúčeninám. Pre tento účel som si zvolil aminokyseliny, ktoré počas chlorácie podliehajú hlbokosiahlej zmene, skúmanie ktorej je dielčou úlohou nášho výskumu v rámci chlorácie saturačného kalu a získania najkvalitnejšieho výrobku saturačnej V—K kriedy. Dosiagnuté výsledky ďalej slúžia ako vodidlo pre skúmanie rozpadu aminokyselín v priebehu chlorácie, keďže prvou fázou tohto rozpadu je práve vznik chlór-aminov.

I. Experimentálna časť

V práci sa sleduje zmena obsahu voľného aktívneho chlóru v chlórovej vode po pridaní rozličných aminokyselín. Pomer HOCl k aminokyselinám počítaný v ekvivalentoch bol:

- a) 1 : 25,
- b) 25 : 1.

V prípade a) som podľa očakávania nezistil v roztoku nijaký voľný chlór, čo je v súlade s experimentálnymi výsledkami spomínaných autorov, ktorí stanovovali voľný aktívny chlór za prítomnosti amoniaku a niektorých iných dusíkatých látok. V prípade b) stanovenie voľného aktívneho chlóru titráciou pomocou metyloranže nebolo presné. Príčina tejto nepresnosti je uvedená v diskusnej časti.

Ďalej sa vyskúšalo pôsobenie HOCl na aminokyseliny, kde ekvivalentový pomer HOCl počítaný na 1 mól aminokyseliny sa počítal s ohľadom na počet substituovateľných vodíkov na dusíku chlóróm. Tento pomer bol:

- a) 2 : 1,
- b) 3 : 1.

Výsledky týchto dvoch pokusov sú zhrnuté v tab. 1 a 2.

Súčasne v spomenutých dvoch prípadoch sa vykonala a vzájomne porovnávala titrácia nezreagovaného celkového aktívneho chlóru jodometricky a paralelne titrácia voľného aktívneho chlóru metyloranžou. Rozdiel týchto dvoch titrácií ukazoval množstvo aktívneho chlóru viazaného na dusíku vo forme chlór-aminov.

Vykonanie pokusu

K množstvám roztoku 0,01 N-NaOCl, uvedeným v tab. 1 a 2, pridali sa 2 kvapky 5 N-HCl, čím sa dosiahlo prevedenie NaOCl na HOCl. Po 10 minútach sa pridalo v tabuľke uvedené množstvo 0,01, resp. 0,001 M roztoku aminokyselín. Po 1 minúte, resp.

po 1 hodine sa vykonala titrácia nezreagovaného množstva HOCl jednak roztokom 0,01 N-Na₂S₂O₃, jednak paralelne 0,01 N roztokom metyloranže. Rozdiel hodnôt dvoch titrácií sa bral ako aktívny viazaný chlór.

Tabuľka 1

Úbytok voľného aktívneho chlóru v chlórovej vode po pridaní aminokyselín

Aminokyselina	0,01 M roztok aminokyseliny v ml	0,01 N roztok HOCl v ml	Ekvivalentový pomer HOCl k aminokyselíne v 50 ml	Úbytok celkového aktívneho chlóru v ekvivalentoch		Úbytok voľného aktívneho chlóru v ekvivalentoch		Rozdiel medzi úbytkom celkového aktívneho chlóru a úbytkom voľného aktívneho chlóru v ekvivalentoch	
				po 1 min.	po 1 hod.	po 1 min.	po 1 hod.	po 1 min.	po 1 hod.
				glycín	2	4	2 : 1	0,25	1,14
alanín	2	4	2 : 1	0,98	1,22	1,98	2,00	1,00	0,78
kyselina α -aminomaslová	2	4	2 : 1	1,05	1,42	1,99	2,00	0,94	0,58
norleucín	2	4	2 : 1	1,04	1,40	1,99	2,00	0,95	0,60
izoleucín	2	4	2 : 1	1,26	1,48	1,99	2,00	0,73	0,52
serín	2	4	2 : 1	1,14	1,32	2,00	2,00	0,86	0,68
treonín	2	4	2 : 1	1,05	1,28	1,90	1,90	0,85	0,62
metionín	2	4	2 : 1	1,60	1,95	2,00	2,00	0,40	0,05
cysteín	2	4	2 : 1	1,93	2,00	2,00	2,00	0,07	0,00
cystín	1	4	4 : 1	4,00	4,00	4,00	4,00	0,00	0,00
kyselina asparágová	2	4	2 : 1	0,97	1,58	2,00	2,00	1,03	1,42
kyselina glutamová	2	4	2 : 1	0,85	1,54	2,00	2,00	1,15	1,46
ornitín	1	4	4 : 1	1,56	2,21	3,96	4,00	2,40	1,79
lyzín	1	4	4 : 1	1,42	2,03	3,92	4,00	2,50	1,97
arginín	1	6	6 : 1	2,20	3,00	5,82	6,00	3,62	3,00
fenylalanín	2	4	2 : 1	1,10	1,45	2,00	2,00	0,90	0,55
tyrozín	2	4	2 : 1	1,40	1,79	2,00	2,00	0,60	0,21
histidín	1	3	3 : 1	0,47	1,07	2,92	3,00	2,45	1,93
tryptofán	1	3	3 : 1			nepresné			
prolín	2	2	1 : 1	0,08	0,25	0,43	0,95	0,35	0,70
hydroxyprolín	2	2	1 : 1	0,12	0,35	0,90	1,00	0,78	0,65

Reagencie

0,01 M a 0,001 M roztok aminokyselín v destilovanej vode.

Aminokyseliny nerozpustné vo vode sa rozpustili v roztoku 0,01 N-NaOH, resp. 0,001 N-NaOH. V tomto prípade som teda ako východiskovú látku bral soli aminokyselín, ktoré však priebehom ďalšieho spracovania, pri oksylení zmesi 2 kvapkami 5 N-HCl, prešli na voľnú aminokyselinu.

Tabuľka 2

Úbytok voľného aktívneho chlóru v chlórovej vode po pridaní aminokyselín

Aminokyselina	0,001 M roztok amino- kyseliny v ml	0,01 N roztok HOCl v ml	Ekvivalentový pomer HOCl k aminokyseline v 50 ml	Úbytok celkového ak- tívneho chlóru v ekvi- valentoch po 1 hod.	Úbytok voľného aktív- neho chlóru v ekvivalen- toch po 1 hod.	Rozdiel medzi úbytkom celkového aktívneho chlóru a úbytkom vol- ného aktívneho chlóru v ekvivalentoch
glycín	4	2,4	6 : 1	2,26	6,00	3,74
alanín	4	2,4	6 : 1	2,62	5,93	3,31
kyselina α -aminomaslová	4	2,4	6 : 1	2,74	5,95	3,21
norleucín	4	2,4	6 : 1	2,88	5,93	3,05
izoleucín	4	2,4	6 : 1	3,03	5,93	2,90
serín	4	2,4	6 : 1	2,67	6,00	3,33
treonín	4	2,4	6 : 1	2,80	6,00	3,20
metionín	4	2,4	6 : 1	4,71	6,00	1,29
cysteín	4	2,4	6 : 1	5,33	5,90	0,57
cystín	4	4,8	12 : 1	11,00	11,85	0,85
kyselina asparágová	4	2,4	6 : 1	3,75	6,00	2,25
kyselina glutamová	4	2,4	6 : 1	2,17	5,88	3,71
ornitín	4	4,8	12 : 1	2,87	9,63	6,76
lyzín	4	4,8	12 : 1	2,65	6,50	3,85
arginín	4	7,2	18 : 1	2,07	11,00	8,93
fenylalanín	4	2,4	6 : 1	3,05	6,00	2,95
tyrozín	4	2,4	6 : 1	4,47	6,00	2,95
histidín	4	3,6	9 : 1	2,60	7,32	4,72
tryptofán	4	3,6	9 : 1		nepresné	
prolín	4	1,2	3 : 1	0,63	2,87	2,24
hydroxyprolín	4	1,2	3 : 1	0,88	2,98	2,10

Roztok 0,01 N-NaOCl pripravený zavádzaním chlóru z bomby do roztoku 0,25 N-NaOH za chladenia ľadovým kúpeľom.

Faktor roztoku sa upravil jodometricky na 0,1 N a roztok sa zriedil destilovanou vodou na desaťnásobný objem.

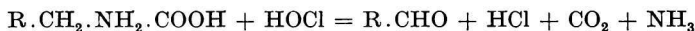
Roztok 0,1 N- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a 0,01 N- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

0,01 N roztok metyloranže (podľa Tarasa na odfarbenie jednej molekuly metyloranže sú potrebné 2 atómy chlóru).

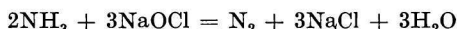
5 N-HCl.

II. Diskusia

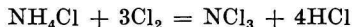
Z výsledkov dosiahnutých v experimentálnej časti vyplýva, že po pridaní aminokyseliny do zriedeného roztoku chlórovej vody dochádza k zníženiu, resp. k úplnej strate voľného aktívneho chlóru v dôsledku vzniku chlóraminov. Avšak priebehom pôsobenia chlórovej vody, ako je známe (K. Langheld [6]), dochádza k rozkladu aminokyselín na príslušné aldehydy za dekarboxylácie a dezaminácie:



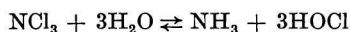
Odstiepený NH_3 v alkalickej prostredí za nadbytku $NaOCl$ sa ďalej oxiduje na dusík:



V kyslom prostredí, teda za podmienok uvedených v tejto práci, uvoľnenie dusíka je brzdené vznikom NH_4Cl a dochádza len k substitúcii vodíkov chlórrom:



Spomalenie rozkladu NH_4Cl pôsobením chlórovej vody pozorovali Crane, Forrest, Stephenson a Waters [7]. Vytvorený chlorodúsik však po stitrovaní voľného prebytočného chlóru postupne z roztoku ľahko uvoľňuje chlór:



V dôsledku hydrolyzačnej rovnováhy posledne uvedenej rovnice sa však titrácia voľného aktívneho chlóru v nadbytku chloračného činidla voči aminokyselinám stáva nepresnou, pretože sa nedosiahne ostrý bod premeny. Hrubé zisťovanie, vykonané pre kvalitatívne posúdenie viazaného aktívneho chlóru, ukázalo však, že aj v tomto prípade bol značný rozdiel medzi jodometrickým stanovením celkového aktívneho chlóru a titračným stanovením voľného aktívneho chlóru metyloranžou.

Za podmienok, keď sa $HOCl$ pridala k aminokyseline za ekvivalentového pomeru $HOCl$ k aminokyseline 2 : 1 a 3 : 1, voľný aktívny chlór v roztoku sa ešte v prípade väčšiny aminokyselín nenachádzal.

V prípade tryptofánu — za uvedených podmienok — jodometrické stanovenie celkového aktívneho chlóru i titračné stanovenie voľného aktívneho chlóru metyloranžou sa nedalo vykonať pre ružové zafarbenie roztoku po pridaní tejto aminokyseliny do $HOCl$. Ružové zafarbenie však pri pomere $HOCl$ k tryptofánu 25 : 1 sa vytvorí len prechodne a za zlomok sekundy zmizne.

Zvláštne chovanie prejavuje treonín pri ekvivalentovom pomere HOCl k aminokyseline 2 : 1, keďže v tomto prípade sa v roztoku vyskytol voľný aktívny chlór na rozdiel od ostatných aminokyselín.

Súhrn

Sledovala sa zmena obsahu voľného aktívneho chlóru v chlórovej vode po pridaní aminokyselín za rôzneho ekvivalentového pomeru HOCl k aminokyseline. Voľný aktívny chlór sa stanovil titráciou pomocou metyloranže. Súčasne sa paralelne stanovil celkový aktívny chlór v roztoku jodometricky.

Výsledky ukázali, že voľný aktívny chlór v roztoku pri ekvivalentovom pomere HOCl k aminokyselinám 1 : 25 sa nevyskytoval. V obrátenom pomere, pri ekvivalentovom pomere HOCl k aminokyselinám 25 : 1 stanovenie voľného aktívneho chlóru bolo nepresné. Voľný aktívny chlór pri ekvivalentovom pomere HOCl k počtu substituovateľných vodíkov na dusíku nachádzajúcich sa v príslušnej aminokyseline 2 : 1 a 3 : 1 sa pri väčšine vyskúšaných aminokyselín v roztoku ešte nenachádzal.

Z dosiahnutých výsledkov ďalej vyplýva, že rozklad aminokyselín pôsobením voľného aktívneho chlóru sa deje cez vznik chlóraminov príslušných aminokyselín ako medziproduktov.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СВОБОДНОГО ХЛОРА ДЕЙСТВИЕМ АМИНОКИСЛОТ НА ХЛОРНУЮ ВОДУ

ЛЮДОВИТ СТАНКОВИЧ

Отдел глицидов и биохимии Химического института Словацкой академии наук
в Bratislave

Выводы

В работе исследовалось изменение свободного активного хлора в хлорной воде после придачи аминокислот, при разном эквивалентном отношении HOCl к аминокислоте. Свободный активный хлор был определен титрацией на метилоранж. Одновременно параллельно определялся общий активный хлор в растворе иодометрическим способом.

Результаты указали, что свободный активный хлор в растворе при эквивалентном отношении HOCl к аминокислоте 1 : 25 не обнаруживался. В обратном отношении, при эквивалентном отношении HOCl к аминокислоте 25 : 1 определение свободного активного хлора не было точным. Свободный активный хлор при эквивалентном отношении HOCl к количеству возможных к субституции водородов на азоте, находящихся в соответствующей аминокислоте 2 : 1 и 3 : 1, у большинства исследованных аминокислот в растворе еще не находился.

Из полученных результатов далее следует, что разложение аминокислот действием свободного активного хлора происходит при посредстве возникновения хлораминов, как промежуточных продуктов соответствующих аминокислот.

Поступило в редакцию 30. 9. 1959 г.

VERÄNDERUNG DES GEHALTS AN FREIEM CHLOR DURCH DIE
WIRKUNG VON AMINOSÄUREN AUF CHLORWASSER

EUDOVÍT STANKOVIČ

Abteilung Glycide und Biochemie des Chemischen Instituts an der Slowakischen Akademie
der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

Es wurde die Veränderung des Gehalts an freiem aktiven Chlor in Chlorwasser nach Zugabe von Aminosäuren untersucht, u. zw. bei einem verschiedenen Äquivalentverhältnis von HOCl zur Aminosäure. Das freie aktive Chlor wurde durch Titration unter Zuhilfenahme von Methylorange bestimmt. Zugleich wurde parallel das gesamte aktive Chlor in der Lösung jodometrisch ermittelt.

Die Ergebnisse zeigten, das freies Chlor in der Lösung bei einem Äquivalentverhältnis von HOCl zu den Aminosäuren von 1 : 25 nicht vorhanden war. Im umgekehrten Falle, d. i. bei einem Äquivalentverhältnis von HOCl zu den Aminosäuren von 25 : 1 war die Bestimmung des freien aktiven Chlors ungenau. Bei einem Äquivalentverhältnis von HOCl zur Anzahl der sich in der entsprechenden Aminosäure am Stickstoff befindlichen substituierbaren Wasserstoffe von 2 : 1 und 3 : 1 fand sich bei der Mehrzahl der geprüften Aminosäuren in der Lösung noch kein freies Chlor vor.

Aus den erzielten Ergebnissen geht weiter hervor, dass die durch die Einwirkung freien aktiven Chlors erfolgte Zersetzung der Aminosäuren über die Entstehung von Chloraminen der zugehörigen Aminosäuren als deren Zwischenprodukte verläuft.

In die Redaktion eingelangt den 30. 9. 1959

LITERATÚRA

1. Besemann, Chem. Ztg. 52, 826 (1928). — 2. Taras M., Anal. Chem. 19, 342 (1947). — 3. Lur'e J. J., Nikolajeva Z. V., Zavodskaja lab. 16, 793 (1950). — 4. Szyrovski W., Przemysł. Chem. 9, 122 (1953). — 5. Litvinenko P. M., Rozovskij V. S., Sanitaria i gigiena 1, 52 (1954). — 6. Langheld K., Chem. Ber. 42, 332 (1909). — 7. Crane C. W., Forrest J., Stephenson O., Waters W. A., J. Chem. Soc. 1946, 827.

Do redakcie došlo 30. 9. 1959

*Adresa autora:**Prom. biochemik Eudovít Stankovič, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón SVŠT.*