

## ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В СБОРЕ ВИТАМИННОМ

В.Ю. Жилкина<sup>1</sup>, А.И. Марахова<sup>1\*</sup>, Я.М. Станишевский<sup>1</sup>

**Резюме.** В статье представлены результаты качественного анализа органических кислот в сборе поливитаминном № 2. Методом тонкослойной хроматографии установлено содержание яблочной, лимонной, аскорбиновой кислот. Количественный анализ суммы органических кислот и кислоты аскорбиновой, проведенный разработанными авторами методикой потенциометрического титрования, сопоставлен с результатами индикаторного титрования и кулонометрии. Показано преимущество использования потенциометрии для более точного установления конечной точки титрования.

**Ключевые слова:** потенциометрия, витаминный сбор, плоды шиповника, плоды рябины, кулонометрия, органические кислоты, кислота аскорбиновая, тонкослойная хроматография.

### QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF ORGANIC ACIDS IN MIXTURE OF MULTIVITAMIN RAW MATERIAL

V.Yu. Zhilkina<sup>1</sup>, A.I. Marakhova<sup>1\*</sup>, Ya.M. Stanishevskiy<sup>1</sup>

**Abstract.** The article presents the results of a qualitative analysis of organic acids in the mixture of the multivitamin raw material № 2. Thin layer chromatography method was confirmed to contain apple, citric and ascorbic acids. Quantitative analysis of the amount of organic acids and ascorbic acid was conducted by potentiometric titration method developed by the authors. The results were compared with the datas of the indicator titration and coulometry. The advantage of using a potentiometer to more accurately establish the endpoint was showed.

**Keywords:** potentiometry, the mixture of the multivitamin raw material, fructus Rosae, fructus Sorbi, coulometry, organic acids, ascorbic acid, thin layer chromatography.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время особой популярностью пользуются витаминные препараты. Витамины содержатся в большом количестве в лекарственном растительном сырье (ЛРС), преимущественно накапливаясь в плодах [1].

Особый интерес представляют поливитаминные сборы из ЛРС, обладающие витаминным действием, т.к. содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ). При этом витамины в ЛРС присутствуют в более легко усвояемой форме, нежели в синтетических препаратах [1].

Поливитаминный сбор № 2 состоит из плодов шиповника и плодов рябины в равных соотношениях и является источником таких витаминов, как К, В<sub>2</sub>, Р, каротиноиды. Ряд из них, например аскорбиновая кислота, переходят в настой [2, 3]. Второй группой гидрофильных соединений сбора являются органические кислоты [3]. Они участвуют в обменных процессах организма, в цикле Кребса, способствуют повышению тонуса.

Однако извлечения с кислой реакцией среды противопоказаны пациентам с гастритом и язвенной болезнью ЖКТ, что следует учитывать при назначении лекарственных средств [2].

Качество поливитаминного сбора № 2 в настоящее время нормируется нормативным документом (НД) предприятия 42-0426382103, не менявшимся с 2004 года [3]. Очевидно, что в связи с развитием инструментальной базы НД требует пересмотра.

Стандартизацию сбора логично проводить по соединениям, составляющим гидрофильную фракцию и преобладающим в ЛРС, например по аскорбиновой кислоте и сумме органических кислот, применяя современные физико-химические методы [5–8].

В связи с вышесказанным целью настоящего исследования стало качественное и количественное определение содержания суммы органических кислот и кислоты аскорбиновой в поливитаминном сборе № 2, его компонентах различными физико-химическими методами.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили промышленные образцы плодов шиповника (ЗАО Фирма «Здоровье»), серия Т0086, и плодов рябины (ОАО «Красногорсклексредства»), серия 34865. Настои из плодов и сбора готовились в соответствии с общей фармакопейной статьей «Настои и отвары» ГФ XI изд., вып. 2, с. 147-148. Определение pH водных извлечений проводили с помощью pH-метра SevenExcellence™ (Mettler Toledo, Германия) (ОФС «Определение pH» ГФ XI изд., вып. 1, с. 113-115). Качественное обнаружение органических кислот проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в восходящем токе растворителей (ОФС 42-0094-09 «Тонкослойная хроматография» ГФ XII изд., ч. 2) при температуре 20 °С с применением пластинок Sorbfil в системах: этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20) (кислота аскорбиновая) и 95% этанол – аммиак концентрированный (16:4,5) (сумма органических кислот). Стеклопластиковая камера фирмы Merck, Германия. Пульверизатор для опрыскивания хроматографических пластинок, Merck, Германия. Для идентификации кислоты аскорбиновой применяли детектор 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия, а для кислот – бромкрезоловый зеленый. Количественное определение суммы органических кислот и кислоты аскорбиновой проводили титриметрическим методом с использованием индикаторов по методике, представленной в частной фармакопейной статье 38 «Плоды шиповника» ГФ XI изд., вып. 2, с. 294-297, и по ОФС 42-0114-09 «Методы количественного определения витаминов» [8]. Определение содержания свободных органических кислот методом потенциометрического титрования проводили с помощью pH-метра SevenExcellence™ (Mettler Toledo, Германия). Определение содержания суммы органических кислот проводили методом кулонометрического титрования с помощью прибора «Эксперт-006» при силе тока 5 мА. Статистическую обработку экспе-

риментально полученных данных проводили в соответствии с требованиями ОФС 42-0111-09 «Статистическая обработка результатов эксперимента» ГФ XII изд., ч. 2, с использованием критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Качественный анализ

Качественное обнаружение органических кислот и кислоты аскорбиновой в анализируемом ЛРС и в настоях проводилось с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) в восходящем токе растворителей.

Хроматографирование свободных органических кислот осуществляли на пластинках Sorbfil в системе растворителей этанол 25% – аммиак конц. (16:4,5). Условия разделения хроматограммы: температура – 22 °С, время насыщения камеры – 30–40 мин. Время хроматографирования определялось временем прохождения подвижной фазы от линии старта до линии финиша (10 см).

Для обнаружения яблочной и лимонной кислот хроматограмму обрабатывали pH-зависимым детектором – бромкрезоловым зеленым. В щелочной среде детектируемые кислоты проявляются в виде желтых пятен на синем фоне.

Результат представлен на рисунке 1.

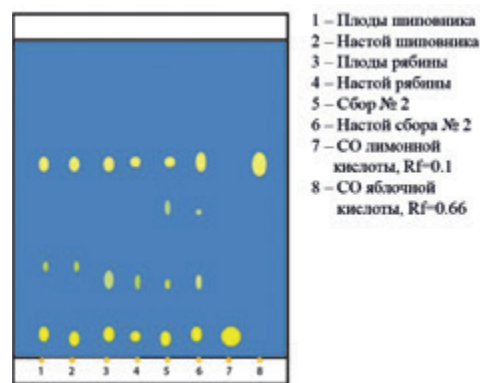


Рисунок 1. Схема хроматограммы органических кислот

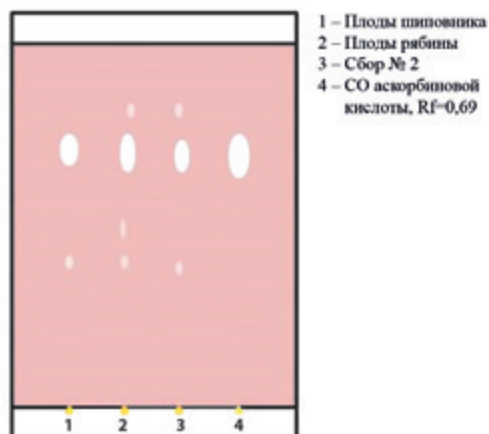
Хроматографирование кислоты аскорбиновой осуществляли на пластинках Sorbfil в системе растворителей этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20) при температуре 22 °С. Время насыщения камеры – 30–40 мин. Время хроматографирования определялось временем прохождения подвижной фазы от линии старта до линии финиша (10 см).

Для обнаружения кислоты аскорбиновой хроматограмму обрабатывали 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия. Зона кислоты аскорбиновой проявлялась в виде белых пятен на розовом фоне.

Результат хроматографирования представлен на рисунке 2.



pH-метр SevenExcellence™ Mettler Toledo



**Рисунок 2.** Схема хроматографирования кислоты аскорбиновой

В ходе качественного анализа было достоверно установлено присутствие кислоты аскорбиновой и органических кислот в анализируемом лекарственном растительном сырье и водных извлечениях, полученных из него.

### Количественное определение кислоты аскорбиновой

Результаты по содержанию кислоты аскорбиновой в сборе поливитаминном и его компонентах, полученные титрованием с 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия (2,6-ДХФИФ Na) и йодатометрическим титрованием, представлены в таблице 1.

**Таблица 1.**

Содержание суммы кислоты аскорбиновой в плодах шиповника, рябины и в поливитаминном сборе № 2 n=5; p=0,95

Сырье	Плоды шиповника	Плоды рябины	Поливитаминный сбор № 2
Титрование 2,6-ДХФИФ Na	0,20±0,01%	0,23±0,01%	0,20±0,01%
Йодатометрия	0,18±0,04%	0,21±0,01%	0,18±0,04%

Данные таблицы 1 свидетельствуют о сходимости результатов, а следовательно, о возможности установления количества кислоты аскорбиновой в сборе поливитаминном № 2 и его компонентах йодатометрическим титрованием.

### Количественное определение суммы свободных органических кислот

Потенциометрическое титрование суммы органических кислот проводили по следующей методике.

Около 25 г (точная навеска) сырья, измельченно до размеров частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, помещали в колбу вместимостью 250 мл, заливали 200 мл воды очищенной и

выдерживали в течение 2 ч на кипящей водяной бане с обратным холодильником. Затем охлаждали, фильтровали, переносили в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводили объем извлечения водой до метки и перемешивали (раствор А).

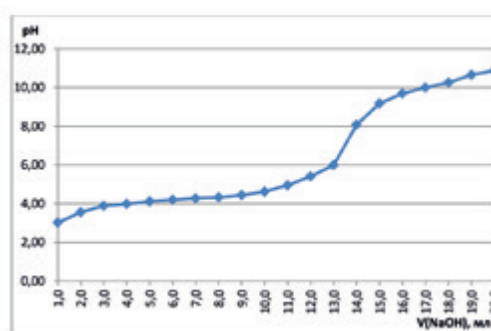
В мерный стакан с помощью пипетки отмеряли 25 мл раствора А, опускали стеклянный и хлорсеребряный электроды, присоединенные к соответствующим клеммам на ионометре. Титровали 0,1 М раствора натрия гидроксида с помощью микробюретки при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки. Фиксировали значения ЭДС и по полученным результатам строили кривые титрования в координатах pH=f(V) для определения точки эквивалентности.

Для более точного определения эквивалентного объема строили дифференциальные кривые титрования в координатах dpH/dV=f(V). Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в процентах (X) в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{V \cdot 0,0067 \cdot K \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{V_a \cdot m \cdot (100 - W)},$$

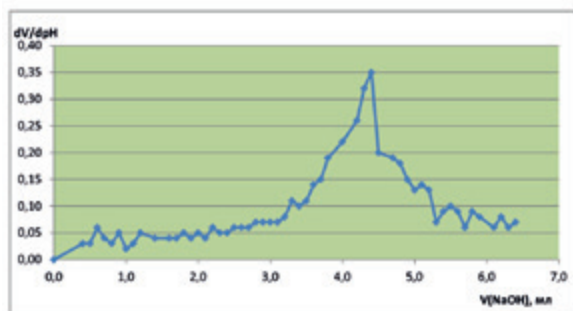
где 0,0067 – количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора гидроксида натрия (0,1 моль/л), г; V – объем раствора гидроксида натрия (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, мл; K – поправочный коэффициент; V<sub>a</sub> – объем извлечения, взятый на титрование, мл; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %; 250 – объем полученного извлечения, мл.

Интегральная и дифференциальная кривые титрования органических кислот в извлечении из сбора витаминного представлены на рисунках 3 и 4 соответственно.



**Рисунок 3.** Интегральная кривая титрования извлечения витаминного сбора № 2 0,1 М раствором гидроксида натрия

Кулонометрическое титрование проводили следующим образом. В мерный стакан отмеряли 50 мл раствора электролита [100 мл насыщенного раствора K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> доводили водой очищенной до объема 800 мл (соотношение 1:7)], после генерации гидроксид-ионов пипеткой вводилась аликвота раствора А (V<sub>a</sub>=250 мл). Титрование проводилось гидроксид-ионами, сгенерированными на электроде.



**Рисунок 4.** Дифференциальная кривая потенциометрического титрования извлечения витаминного сбора № 2 0,1 М раствором гидроксида натрия

Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в процентах (X) в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{x \cdot 10^{-6} \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{V_a \cdot m \cdot (100 - W)},$$

где x – показания кулонометра, содержание органических кислот в пересчете на яблочную кислоту, мкг;  $V_a$  – объем извлечения, взятый на титрование, л; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %; 250 – объем полученного извлечения, мл.

Результаты по содержанию суммы органических кислот в сборе витаминном № 2 и его компонентах, полученные различными методами, в сравнении с индикаторным титрованием по методике ГФ представлены в таблице 2.

**Таблица 2.**

**Содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в поливитаминном сборе № 2 и его компонентах n=5; p=0,95**

Метод	ЛРС	Содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту, %
Методика ГФ	Плоды шиповника	2,87±0,01
	Плоды рябины	3,78±0,02
	Поливитаминный сбор № 2	3,06±0,02
Потенциометрия	Плоды шиповника	2,79±0,02
	Плоды рябины	3,68±0,08
	Поливитаминный сбор № 2	3,01±0,06
Кулонометрия	Плоды шиповника	2,60±0,05
	Плоды рябины	3,59±0,07
	Поливитаминный сбор № 2	3,15±0,08

Данные таблицы 2 показывают сопоставимость результатов, полученных потенциометрическим и кулонометрическим титрованием, с результатами, полученными индикаторным титрованием по методике ГФ. Потенциометрия и кулонометрия могут быть исполь-

зованы при стандартизации витаминного сбора № 2 и его компонентов по показателю «содержание суммы свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту». Использование индикаторов дает несколько завышенные результаты, связанные с ошибками установления конечной точки титрования из-за ее визуальной оценки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом тонкослойной хроматографии установлено содержание яблочной, лимонной, аскорбиновой кислот. Показана возможность использования йодатометрии для количественного анализа кислоты аскорбиновой. Разработана методика потенциометрического титрования суммы органических кислот и показано ее преимущество перед индикаторным титрованием. Изучена возможность кулонометрического титрования для определения суммы органических кислот в сборе витаминном № 2 и его компонентах.

## ЛИТЕРАТУРА

- С.Г. Абдуллина, Н.М. Агапова, О.А. Лира и др. Кулонометрическое определение содержания свободных органических кислот в плодах шиповника // Химико-фармацевтический журнал. 2011. Т. 45. № 5. С. 25–27.
- Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. 400 с.
- ФСП 42-0426382103 «Сбор витаминный № 2». 2004.
- А.И. Марахова. Применение физико-химических методов в анализе сырья лекарственных растений семейства яснотковых: автореф. дисс. ... к. фарм. н. – Пермь. 2009. 24 с.
- Е.В. Сергунова, И.А. Самылина, А.А. Сорокина. Исследования по стандартизации растительных сборов с плодами шиповника // Фармация. 2004. С. 16–17.
- И.А. Самылина. Лекарственное растительное сырье, проблемы стандартизации // Тезисы докладов Медико-фармацевтического форума. – М. 2002. С. 133–134.
- Н.Н. Федоровский, А.И. Марахова, А.А. Сорокина и др. Потенциометрическое титрование в анализе водных извлечений // Фармация. 2008. № 2. С. 15–16.
- Y. Ghaemi, R. Wall. Hydrophobic chromatography with dynamically coated stationary phases // J. Chromatogr. 1979. V. 174. № 1. P. 51-59.
- D.E. Hudhes. Titrometric determination of ascorbic acid with 2,6-dichlorophenol indophenyl in commercial liquid diets // J. Pharm. Sci. 1983. V. 72. P. 29–34.