

1 – ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

2 – ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный университет им. И.М. Сеченова», Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 2, стр. 1

1 – Peoples' Friendship University of Russia, 6, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – I.M. Sechenov Moscow medicinal State university, 2, build. 1, Trubeckaya str, Str. Moscow, 119991, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: agentcat85@mail.ru
rectorat@mma.ru

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ТРАВЕ ЗВЕРБОЯ

А.И. Марахова^{1*}, Я.М. Станишевский^{1*}, В.И. Потапов²,
А.А. Сорокина²

Резюме. В статье представлены данные по разработке методики потенциометрического титрования дубильных веществ в траве зверобоя и ее валидационная оценка. Проведено сравнение данных по содержанию дубильных веществ в изучаемом лекарственном растительном сырье, полученных потенциометрическим титрованием и титрованием с использованием индикаторов. Показаны преимущества потенциометрии.

Ключевые слова: потенциометрическое титрование, трава зверобоя, валидация.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHOD FOR POTENTIOMETRIC DETERMINING THE AMOUNT OF TANNINS IN HYPERICUM HERB

A.I. Marakhova^{1*}, Ya.M. Stanishevskiy¹, V.I. Potapov², A.A. Sorokina²

Abstract. The article presents data on the development of methods of potentiometric titration of tannins in the Hypericum herb and its validation. The comparison of the content of tannins in the study medicinal plant raw materials obtained by potentiometric titration and titration using indicators. Shown the advantages of potentiometry.

Keywords: potentiometric titration, Hypericum herb, validation.

ВВЕДЕНИЕ

Трава зверобоя используется как вяжущее, противовоспалительное и антидепрессивное средство. Фармакологическая активность травы зверобоя и препаратов на его основе обусловлена комплексом биологически активных веществ (БАВ), среди которых важная роль принадлежит фенольным соединениям, в том числе дубильным веществам. Эта группа соединений обуславливает вяжущие свойства травы зверобоя, а также его настоя и настойки [1]. В связи с фармакологической активностью и гидрофильностью дубильных веществ можно предложить проведение стандартизации травы зверобоя еще и по этой группе биологически активных соединений (БАС) [2].

ГФ XI рекомендует проводить определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье окислительно-восстановительным титрованием в присутствии индикатора – индигосульфокислоты. Конечная точка титрования считается достигнутой при появлении золотисто-желтого окрашивания [3]. Однако методика имеет ряд недостатков: необхо-

димость проведения контрольного опыта, возможность ошибки при определении конечной точки титрования из-за специфики человеческого зрения, диапазоном перехода окраски индикатора.

Указанных проблем можно избежать при потенциометрическом детектировании конечной точки титрования.

Целью данного исследования является разработка методики потенциометрического титрования суммы дубильных веществ в траве зверобоя и ее валидация.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служило измельченное лекарственное растительное сырье – трава зверобоя производства ЗАО «Здоровье» пяти серий. Титрование проводилось с использованием иономера «Аквилон-410».

Экспериментальная часть

При разработке методики потенциометрического титрования учитывали такие параметры, как объем извлечения,

взятого на анализ, и одновременно добавляемый объем титранта. В результате оптимальной явилась следующая методика: около 2 г измельченного до размеров частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм, сырья (точная навеска) помещали в колбу вместимостью 500 мл, заливали 250 мл воды очищенной и кипятили 30 минут с обратным холодильником после закипания. Затем извлечение охлаждали, процеживали через вату около 100 мл (раствор А). Отбирали 25 мл раствора А в мерную колбу вместимостью 500 мл, добавляли 1 мл 96% кислоты серной и доводили водой до метки (раствор Б).

В мерный стакан с помощью пипетки отмеряли 100 мл раствора Б, опускали стеклянный и хлорсеребряный электроды, присоединенные к соответствующим клеммам на иономере. Титровали 0,02 М раствором калия перманганата с помощью микробюретки, добавляя по 0,2 мл титранта при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки.

После установления равновесия фиксировали значения электродвижущей силы (ЭДС) и по полученным результатам строили интегральные (рисунок 1) и дифференциальные (рисунок 2) кривые титрования.



Рисунок 1. Интегральная кривая титрования дубильных веществ травы зверобоя 0,02 М раствором калия перманганата

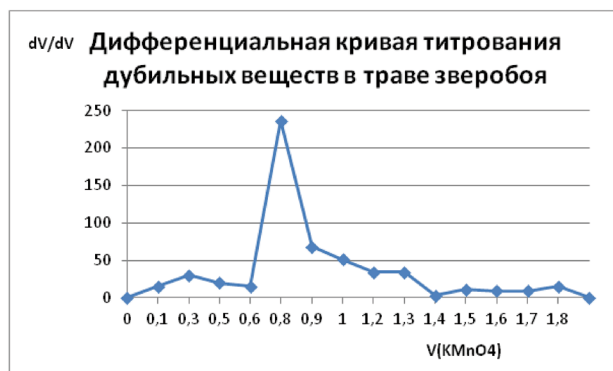


Рисунок 2. Дифференциальная кривая титрования дубильных веществ в траве зверобоя

Содержание дубильных веществ в пересчете на танин в процентах (X) в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$V = \frac{V \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 20}{m \cdot (100 - W) \cdot 100},$$

где V – объем раствора перманганата калия с концентрацией 0,02 М, пошедшего на титрование, мл; m – масса сырья в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья, %; 250 – общий объем извлечения, мл; 100 – объем разбавленного извлечения, взятого для титрования, мл; 20 – разбавление.

Для сравнения результатов также проводилось определение по методике ГФ XI.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные потенциометрическим титрованием и с использованием индикаторов, представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Содержание суммы дубильных веществ в траве зверобоя в пересчете на танин и абсолютно сухое сырье n=5, p=0,95

	Методика ГФ	Относительная ошибка, %	Потенциометрическое титрование	Относительная ошибка, %
Содержание суммы дубильных веществ, %	8,86±0,30	3,4	8,87±0,25	2,8

Полученные результаты показали сходимость, а следовательно, возможность использования метода потенциометрического титрования в анализе дубильных веществ травы зверобоя. Кроме того, потенциометрический метод более точен.

Валидацию методики потенциометрического титрования дубильных веществ проводили по таким характеристикам, как специфичность, линейность, правильность, сходимость.

1. Специфичность

Специфичность аналитической методики считается доказанной, если ни растворитель, ни компоненты плацебо не искажают результат. Для этого проводили титрование растворителя – воды очищенной, которая в данном случае является плацебо (рисунок 3), модельной смеси (раствор стандартного образца танина в воде) (рисунок 4) и действующего вещества – танина (т.к. пересчет производится на танин) (рисунок 5).

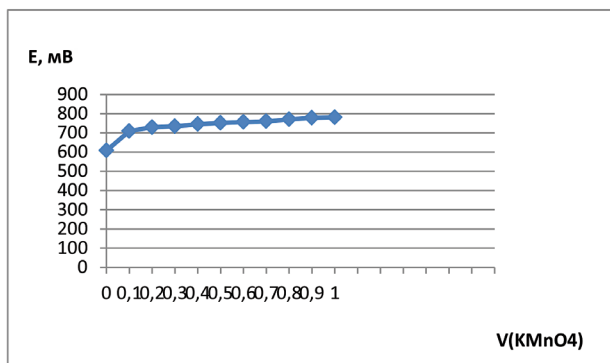


Рисунок 3. Кривая титрования воды 0,02М перманганатом калия

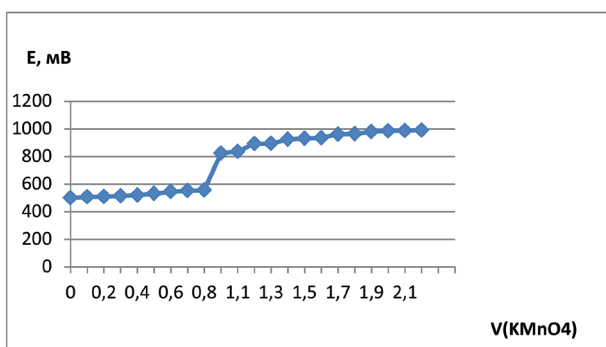


Рисунок 4. Кривая титрования раствора танина (модельный опыт) 0,02М перманганатом калия

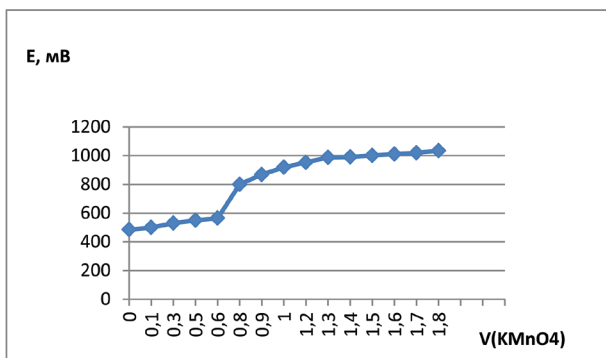


Рисунок 5. Кривая титрования дубильных веществ в траве зверобоя 0,02М перманганатом калия

2. Диапазон применения

Внутри заданного диапазона применения методики должны быть показаны линейность, правильность и прецизионность.

3. Линейность

Линейность аналитической методики показывает, что внутри заданного диапазона методики существует прямо пропорциональное соотношение между кон-

центрациями исследуемого вещества в растворе и расходом титранта.

Линейность доказывалась на 5 разных разведениях модельной смеси: 0,295 г/л, 0,146 г/л, 0,097 г/л, 0,073 г/л, 0,058 г/л (таблица 2). Графическое представление линейности методики показано на рисунке 6.

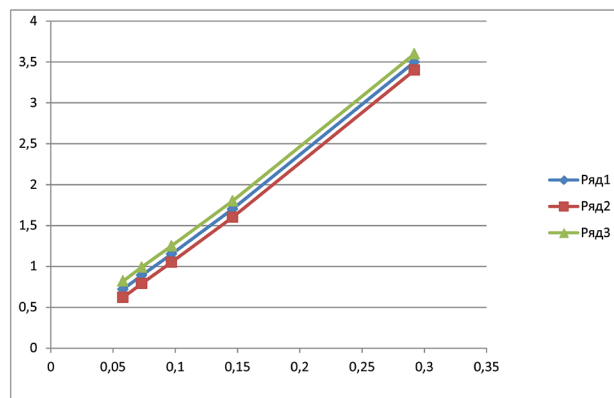


Рисунок 6. Графическое представление линейности методики потенциметрического титрования дубильных веществ в траве зверобоя

Таблица 2.

Линейность потенциметрического титрования дубильных веществ

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$y = 0,04515 + 11,463X$
Наклон а	0,04515
Отрезок на оси ординат b: 95% доверительный интервал	11,463
Коэффициент корреляции r	0,999934

4. Правильность

При титровании правильность не доказывается путём сравнения методики, так как титриметрия является, так называемым, абсолютным методом. Правильность показывалась путём определения отклика по методу с добавками стандартного образца танина. Результаты представлены в таблице 3.

Оценка проводилась путем расчета процента определения известной концентрации, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($p=95\%$) (таблица 4).

Таблица 3.

Правильность потенциометрического титрования дубильных веществ

Уровень концентрации	$m_{\text{танина}}, \text{г}$	$V_{\text{кмпб}}, \text{мл}$	% теор.	% практ.	Отклик
80%	$4,33 \cdot 10^{-3}$	0,9	$4,33 \cdot 10^{-3}$	$3,74 \cdot 10^{-3}$	86,4%
80%	$4,33 \cdot 10^{-3}$	1	$4,33 \cdot 10^{-3}$	$4,33 \cdot 10^{-3}$	100%
80%	$4,33 \cdot 10^{-3}$	1,1	$4,33 \cdot 10^{-3}$	$4,567 \cdot 10^{-3}$	105,5%
90%	$6,33 \cdot 10^{-3}$	1,4	$6,33 \cdot 10^{-3}$	$5,82 \cdot 10^{-3}$	92%
90%	$6,33 \cdot 10^{-3}$	1,6	$6,33 \cdot 10^{-3}$	$6,65 \cdot 10^{-3}$	105%
90%	$6,33 \cdot 10^{-3}$	1,6	$6,33 \cdot 10^{-3}$	$6,65 \cdot 10^{-3}$	105%
100%	$8,33 \cdot 10^{-3}$	2,4	$8,33 \cdot 10^{-3}$	$9,98 \cdot 10^{-3}$	119,8%
100%	$8,33 \cdot 10^{-3}$	2,2	$8,33 \cdot 10^{-3}$	$9,15 \cdot 10^{-3}$	109,8%
100%	$8,33 \cdot 10^{-3}$	2,1	$8,33 \cdot 10^{-3}$	$8,73 \cdot 10^{-3}$	104,8%

Таблица 4.

Правильность потенциометрического титрования дубильных веществ, статистические характеристики

Статистические характеристики, %	Результат
Среднее значение	103,1
Среднеквадратическое отклонение (стандартное отклонение)	10,35
Коэффициент вариации (КВ)	10,04
Нижняя граница доверительного интервала ($p=0,95$)	94,82
Верхняя граница доверительного интервала ($p=0,95$)	111,38

5. Сходимость (повторяемость)

Сходимость показывает, что методика анализа при проведении в одинаковых условиях обеспечивает получение сравнимых результатов. Сходимость была доказана при помощи испытаний 6 проб действующего вещества – танина (таблица 5).

Таблица 5.

Повторяемость потенциометрического титрования дубильных веществ

Проба	Расход 0,02 М, мл	Содержание суммы дубильных веществ, %
1	0,8	8,87
2	0,8	8,87
3	0,7	7,76

Проба	Расход 0,02 М, мл	Содержание суммы дубильных веществ, %
4	0,8	8,87
5	0,8	8,87
6	0,9	9,97

Оценка проводилась путем расчета процента определения известной концентрации, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($p=95\%$) (таблица 6)

Таблица 6.

Повторяемость потенциометрического титрования дубильных веществ, статистические характеристики

Статистические характеристики, %	Результаты
Наименьшее значение	7,76
Наибольшее значение	9,97
Среднее значение	8,868
Стандартное отклонение	0,7
Коэффициент вариации	7,89
Доверительный интервал	0,8

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика потенциометрического определения суммы дубильных веществ в траве зверобоя. Показана сходимость результатов, полученных потенциометрическим титрованием, с результатами методики ГФ. Проведена валидация разработанной методики; были доказаны: специфичность, линейность, диапазон применения, правильность и прецизионность методики потенциометрического титрования суммы дубильных веществ в траве зверобоя.

ЛИТЕРАТУРА

1. В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева. Зверобой: итоги и перспективы создания лекарственных средств: Монография. – Самара: Офорт, ГОУ ВПО «СамГМУ». 2008. 127 с.
2. А.С. Коничев, П.В. Баурин, Н.Н. Федоровский, А.И. Марахова и др. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, источники, недостатки // Вестник Московского государственного областного университета. Естественные науки. 2011. № 3. С. 49-54
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. МЗ СССР. 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. 400с.