

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДУБИЛЬНИХ РЕЧОВИН У КОРИ ДУБА

©Н.В. Хохленкова, Т.Г. Ярних, В.М. Чушенко, М.В. Буряк

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: розроблено методику кількісного визначення дубильних речовин у корі дуба методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-ділянці. Проведено порівняльний аналіз результатів визначення дубильних речовин у корі дуба двома методами. Встановлено, що метод абсорбційної спектрофотометрії в УФ-ділянці дає точніший і стабільніший результат.

Ключові слова: кора дуба, танін, метод абсорбційної спектрофотометрії в УФ-ділянці, перманганатометричний метод.

ВСТУП. Дуб звичайний (*Quercus robur*) належить до родини букових (*Fagaceae*). Утворює часті насадження або росте в суміші з іншими породами майже по всій території України (у степу – головним чином по долинах річок). Перш за все, сировину дуба розглядають як джерело отримання дубильних речовин. У корі міститься 10-20 % дубильних речовин, також вони входять і до хімічного складу листків та плодів (5-8 %). Дубильні речовини – це суміш близьких за структурою фенольних сполук. До складу дубильних речовин кори дуба входять як група конденсованих, так і група гідролізованих дубильних речовин [4, 10, 11].

Крім дубильних речовин, кора дуба містить органічні кислоти (галова, елагова), вуглеводи, слиз, крохмаль, пентозани (13-14 %), слиз, флавоноїд кварцетин, білкові речовини [4, 7, 8].

Галенові препарати кори дуба мають в'язучі, протизапальні та антимікробні властивості. На сьогодні накопичені дані про спектр резорбтивної дії дубильних речовин, що включає спазмолітичний, гіпотензивний, протівірусний та ряд інших ефектів. Для дубильних речовин встановлено антиканцерогенну та протирадіаційну активність [8, 10, 11].

Мета дослідження – розробка методики визначення таніну в корі дуба, використовуючи метод адсорбційної спектрофотометрії в УФ-ділянці спектра.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. На даний час відомо понад 100 способів кількісного визначення таніну, які можна розділити на наступні групи:

- гравіметричні – засновані на кількісному осадженні дубильних речовин желатином, іонами тяжких металів та ін.;
- титриметричні – засновані на реакціях окислювання, насамперед із застосуванням калію перманганату (ГФ IX, X, XI);
- фотометричні – засновані на реакціях із солями заліза III, із кислотою фосфорно-вольфрамовою, з реактивом Фоліна-Деніса та ін. [3, 5, 6].

Фармакопейним методом кількісного визначення дубильних речовин у корі дуба є перманганатометричний метод – метод Левенталя [1]. Цей метод є традиційним для кількісного визначення дубильних речовин, але він має ряд недоліків: здатність калію перманганату окисляти багато природних сполук, які належать до різних класів за хімічною будовою, різний перерахунковий коефіцієнт для різноманітних груп сполук, розтягнутість переходу забарвлення при титруванні. Таким чином, даний метод не дозволяє об'єктивно оцінювати вміст дубильних речовин у корі дуба.

Тому виникає необхідність пошуку іншого методу і розробки більш вибіркової методики визначення дубильних речовин у корі дуба.

Одним з таких методів є абсорбційна спектрофотометрія в УФ-ділянці [2]. Але складність цього методу для кількісної оцінки суми дубильних речовин полягає в наявності відповідного еталону для стандартизації. В якості стандарту можуть бути використані як чисті речовини (наприклад, галова кислота, елагова кислота, пірогалол та ін.), так і складні сполуки, наприклад танін.

Для визначення дубильних речовин у корі дуба нами було використано стандартний зразок таніну, що відповідає вимогам Європейської фармакопеї [9].

Для розробки спектрофотометричної методики кількісного визначення таніну нами були проведені дослідження з вибору розчинника, концентрації речовини, умов проведення дослідів (температура, рН та ін.). Експериментальні дослідження показали, що найбільш зручним розчинником для кількісного визначення таніну є вода очищена, рН середовища не впливає на спектр поглинання розчинів таніну.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Встановлено, що спектр поглинання водних розчинів таніну має максимум за довжини хвилі (275±2) нм.

Вивчено виконання закону Бугера-Ламберта-Бера для розчинів таніну в інтервалі концентрацій від 1,0 до 25,0 мкг/мл. Підпорядкування закону Бугера-Ламберта-Бера спостерігається у

водному розчині при (275±2) нм у межах від 5 до 20,0 мкг/мл.

Метрологічні характеристики методики кількісного визначення таніну наведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Метрологічні характеристики методики кількісного визначення таніну

Взято, г	f	Xi	Xср.	S ²	S _x	P, %	t(P, f)	ΔX	E, %
0,0250	4	0,02532	0,02499	6,8·10 ⁻⁸	2,613·10 ⁻⁴	95	2,78	3,24·10 ⁻⁴	1,2996
		0,02485							
		0,02491							
		0,02521							
		0,02469							

Лінійна залежність між величиною абсорбції розчинів і концентрацією таніну в досить широкому діапазоні концентрацій дозволить проводити визначення дубильних речовин у перерахунку на танін у корі дуба з достатньою надійністю.

Наступним етапом наших досліджень було порівняльне визначення дубильних речовин у корі дуба двома методами: перманганатометричним та спектрофотометричним. Для досягнення мети нами були отримані водні витяги з кори дуба за методикою, наведеною в статті ГФ XI (вип. 1, стор. 286) [1].

Методика спектрофотометричного визначення дубильних речовин у корі дуба полягає у наступ-

ному: 1 мл водного витягу з кори дуба поміщають в мірну колбу місткістю 50 мл, доводять об'єм розчину водою до позначки і перемішують.

Оптичну густину отриманого розчину вимірюють на спектрофотометрі за довжини хвилі 275 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння воду очищену. Паралельно вимірюють оптичну густину розчину стандартного зразка (СЗ) таніну.

Порівняльне вивчення УФ-спектрів водного розчину таніну та водного розчину витягу з кори дуба показало, що вони ідентичні, максимум спостерігається за довжини хвилі (275±2) нм (рис. 1).

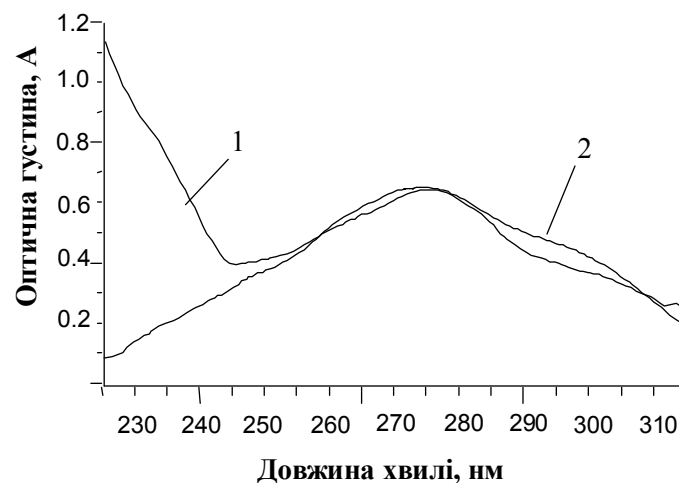


Рис. 1. Спектри поглинання: 1 – розчину витягу з кори дуба; 2 – розчину СЗ таніну.

Вміст таніну (X) у грамах обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot 250 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 15 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot m_1 \cdot 1 \cdot 250 \cdot 100 \cdot (100 - W)}$$

де A₁ – оптична густина випробовуваного розчину;

A₀ – оптична густина розчину СЗ таніну;

m₀ – маса наважки СЗ таніну, у грамах ;

m₁ – маса наважки кори дуба, у грамах;

W – вміст вологи в корі дуба, %.

При використанні перманганатометричного та спектрофотометричного методів для кількісного визначення дубильних речовин у корі дуба отримано різні результати (табл. 2). Це можна пояснити тим, що кожен з цих методів виявляє певний набір сполук у даному виді рослинної сировини. Перманганатометричним методом визначають наявність не тільки дубильних речовин, але і супутніх речовин, які окислюються, що призводить до завищених результатів.

Таблиця 2. Результати визначення дубильних речовин у корі дуба

№ серії	Вміст дубильних речовин, %	
	Перманганатометричний метод	Метод абсорбційної спектрофотометрії в УФ-ділянці
011007	19,82±0,39	10,42±0,13
051107	20,12±0,36	10,59±0,14
151107	17,87±0,31	9,40±0,12

Спектрофотометричний метод відображає кількісний вміст визначеної домінуючої групи із суми дубильних речовин і дає більш точні і стабільні результати. Цей метод більш чуттєвий, зручний та такий, що швидко виконується (експрес-метод).

ВИСНОВКИ. 1. Проведені дослідження дозволили розробити методику кількісного визначення дубильних речовин у перерахунку на танін у корі

дуба методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-ділянці за довжиною хвилі 275 нм.

2. Показано, що порівняно з фармакопейним методом, методика, що розроблена, дозволяє одержати більш точні та стабільні результати кількісного визначення дубильних речовин у корі дуба.

Література

1. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. – 11-е изд-е. – М., 1987. – Вып. 1. – 194 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Кемертелидзе Э.П., Явич П.А., Сарабунович А.Г. и др. Количественное определение таннина // Фармация. – № – С. 34-37.
4. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник / За ред. А.М. Гродзінського. – К.: Укр. енцикл., 1992. – 544 с.
5. Попов И.В., Андреева И.Н., Гаврилин М.В. Определение таннина в сырье и препаратах кровохлебки лекарственной методом ВЭЖХ // Хим.-фармац. журн. – 2003. – Т.37, № 3. – С. 24-26.

6. Чемесова И.И., Чижиков Д.В. Определение содержания дубильных веществ в корневищах *Comarum palustre* L. и настойки из него спектрофотометрически методом // Раст. ресурсы. – 2004 – Вып. 3. – С. 122-130.
7. Arramon G., Saucier Z., Colombani D. et al. // Phytochem. Anal. – 2002. – № 13. – P. 305-310.
8. Gulluce M., Adiguzel A., Ogutcu H., et al. // Phytother. Res. – 2004. – 18. – P. 208-211.
9. European Pharmacopoeia, Edn. 2004. Strasbourg. Council of Europe. Suppl. 5.8 – 2570 p.
10. Herbal medicine. Expanded commission end monographs. First edition. – 2000. – P. 752.
11. Konig M., Scholz E., Hartmann R. et al. // J. Nat. Prod. – 1994. – № 57. – P. 1411-1415.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОРЕ ДУБА

Н.В. Хохленкова, Т.Г. Ярных, В.Н. Чушенко, М.В. Буряк

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: разработана методика количественного определения дубильных веществ в коре дуба методом абсорбционной спектрофотометрии в УФ-области. Проведено сравнение результатов определения дубильных веществ в коре дуба двумя методами. Установлено, что метод абсорбционной спектрофотометрии в УФ-области дает более точные и стабильные результаты.

Ключевые слова: кора дуба, танин, метод абсорбционной спектрофотометрии в УФ-области, перманганатометрический метод.

DETERMINATION OF TANNIC SUBSTANCES IN OAK BARK BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

N.V. Khokhlenkova, T.G. Yarnykh, V.N. Chushenko, M.V. Buryak

National Pharmaceutical University

Summary: The method of quantitative determination of tannic content in the oak bark is developed by the absorption spectrophotometric method. It is conducted comparison of determination of tannic matters results in the oak bark by two methods. It is set, that the absorption spectrophotometric method gives more exact and stable results.

Key words: oak bark, tannin, absorption spectrophotometric method.