

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
факультет по подготовке иностранных граждан  
кафедра фармацевтической химии**

**КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

**на тему: «РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ СВОБОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ  
В ПЛОДАХ БРУСНИКИ»**

**Выполнил:** соискатель высшего образования группы

Фм18(5,0д)и-01

специальности 226 Фармация, промышленная фармация

образовательной программы Фармация

Бутуил БАДРЕДДИН

**Руководитель:** доцент заведения высшего образования кафедры  
фармацевтической химии, к.фарм.н., доцент Елена КОЛЕСНИК

**Рецензент:** профессор заведения высшего образования кафедры  
аналитической химии и аналитической токсикологии, д.фарм.н.,  
профессор Николай ГОЛИК

## АННОТАЦИЯ

Квалификационная работа посвящена разработке и валидации количественного определения суммы свободных органических кислот. Установлены соответствия сырья плодов брусники обыкновенной нормативным документам. Проведена идентификация и количественное определение органических кислот в плодах брусники. Установлено, что результаты определения содержания органических кислот потенциометрическим и кондуктометрическим методом сопоставимы между собой. Разработана и валидирована титриметрическая методика определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

*Ключевые слова:* брусника обыкновенная, плоды, валидация, кислотно-основное титрование

## ANNOTATION

The qualifying work is devoted to the development and validation of the quantitative determination of the amount of free organic acids. The conformity of the raw materials of lingonberry fruits with the normative document has been established. Identification and quantitative determination of organic acids in lingonberry fruits was carried out. It has been established that the results of determining the content of organic acids by the potentiometric and conductometric methods are comparable to each other. A titrimetric method for determining the amount of free organic acids in lingonberries has been developed and validated.

*Key words:* Lingonberry, fruits, validation, acid-base titration

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>		6
<b>РАЗДЕЛ 1</b>	<b>БОТАНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БРУСНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</b>	9
1.1	Ботаническая характеристика, географическое распространение и заготовка брусники обыкновенной	9
1.2	Химический состав брусники обыкновенной	11
1.3	Фармакологические свойства и применение в медицине брусники обыкновенной	14
	Резюме	16
<b>РАЗДЕЛ 2</b>	<b>ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	17
2.1	Соответствие плодов брусники требованиям нормативной документации	17
	Выводы к разделу 2	19
<b>РАЗДЕЛ 3</b>	<b>ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ СВОБОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ПЛОДАХ БРУСНИКИ</b>	20
3.1	Обнаружение органических кислот в плодах брусники	20
3.2	Разработка методики определения количественного содержания свободных органических кислот в плодах брусники	22
3.3	Сравнение потенциометрической и кондуктометрической методик титрования свободных органических кислот в плодах брусники	28
	Выводы к разделу 3	31
<b>РАЗДЕЛ 4</b>	<b>ВАЛИДАЦИЯ КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ СВОБОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ПЛОДАХ БРУСНИКИ</b>	32
4.1	Определение специфичности и линейности методики	33
4.2	Определение правильности методики	35
4.3	Определение прецизионности методики	36

Выводы к разделу 4	38
Общие выводы	39
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	41
ПРИЛОЖЕНИЯ	47

## **ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

**ABTS** – 2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиозолин-6-сульфокислоты)

диаммониевая соль;

**DPPH** – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил;

**GLUT** – глюкозный транспортер тип 2;

**МАРК** – митоген активирующая протеинкиназа;

**Nf-kB** – ядерный фактор kB;

**БАВ** – биологически активные вещества;

**ГФУ** – Государственная фармакопея Украины;

**ТСХ** – тонкослойная хроматография.

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Диетическая добавка – это пищевой продукт, потребляемый в небольших определенных количествах дополнительно к обычному пищевому рациону, который является концентрированным источником питательных веществ, в том числе белков, жиров, углеводов, витаминов, минеральных веществ.

На сегодняшний день согласно общей статье ГФУ «Диетические добавки» должны соответствовать технологическим параметрам лекарственной формы, микробиологической чистоте, остаточному количеству пестицидов, тяжелых металлов. Но при этом, отсутствуют нормативные документы по качественному и количественному составу диетических добавок. Таким образом проведение контроля качества диетических добавок является актуальным на сегодняшний день.

**Цель работы** – разработать и валидировать методику количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

**Задачи исследования.** Для решения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- Провести литературный поиск относительно ботанической характеристики, географического распространения и заготовки брусники обыкновенной, а также ее химического состава, фармакологической активности и применения в медицине.
- Провести контроль качества сырья брусники обыкновенной согласно нормативной документации.
- Провести качественный анализ на присутствие органических кислот в плодах брусники обыкновенной.
- Разработать методику количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники обыкновенной.
- Установить количественное содержание суммы свободных

органических кислот в плодах брусники потенциметрическим, кондуктометрическим методом.

- Сравнить результаты кондуктометрическое и потенциметрического титрования суммы свободных органических кислот в плодах брусники.
- Валидировать методику количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

**Объект исследования.** Плоды брусники, собранные в октябре 2021 года в селе Костивцы Житомирской области, Украина.

**Предмет исследования.** Качественный и количественный состав органических кислот, разработка и валидация методики количественного определения суммы свободных органических кислот в сырье брусники обыкновенной.

**Методы исследования:** для решения поставленных в работе задач были использованы методы ТСХ; количественное содержание БАВ определяли титриметрическим методом с потенциметрическим и кондуктометрическим способом определения точки эквивалентности, также использовали статистические методы для обработки полученных результатов.

**Практическое значение полученных результатов.** В результате проведенных исследований показано, что кондуктометрическая методика является оптимальной для определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

**Элементы научных исследований.** Проведен контроль качества плодов брусники обыкновенной. Установлено, что плоды брусники соответствуют первому сорту. Проведен качественный анализ плодов брусники на присутствие органических кислот. Установлено, что в плодах брусники содержатся: щавелевая, винная, яблочная, лимонная, аскорбиновая, янтарная кислоты. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы органических кислот в плодах брусники. Установлено количественное содержание свободных органических в плодах брусники.

**Апробация результатов исследования и публикации.** Результаты

исследования были представлены на международной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития науки, образования и общества в XXI веке», которая состоялась 27 апреля 2023 г. (г. Ровно). По результатам квалификационной работы опубликованы 1 тезисы доклада.

**Структура и объем квалификационной работы.** Работа состоит из введения, аннотации на русском и английском языках, обзора литературы, 3-х разделов собственных исследований, общих выводов, списка использованной литературы, который включает в себя 42 источника, в том числе 33 на иностранных языках. Содержание работы изложено на 40 страницах основного текста и иллюстрировано 15 таблицами и 8 рисунками.



## РАЗДЕЛ 1

### БОТАНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БРУСНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (обзор литературы)

#### 1.1 Ботаническая характеристика, географическое распространение и заготовка брусники обыкновенной

Брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.) относится к семейству Вересковые (*Ericaceae*). Это многолетний вечнозеленый полукустарник высотой до 20 см с ползучим тонким корневищем (рис. 1.1).



Рис. 1.1 Брусника обыкновенная в природе

Листья очередные, зимующие, кожистые, обратнойцевидные или эллиптические с завернутым краем (длиной от 10 до 30 мм и шириной от 5 до 15 мм), с верхней стороны темно-зеленые, блестящие, с нижней – светло-зеленые с темно-бурыми точечными железками и хорошо заметными жилками и черешками до 3 мм длины (рис. 1.2) [1].



Рис. 1.2 Листья брусники обыкновенной в природе

Цветки обоеполые, мелкие (до 5-7 мм длины), розовые, ароматные, собраны в короткие поникающие кисти по 10-15 шт. Количество таких кистей на генеративном побеге может быть до 5-7 шт. (в среднем по 3 шт.). Формула цветка брусники обыкновенной:  $*\text{Ч}(4)\text{Л}(4)\text{T}4+4\text{П}(4)$  (рис. 1.3) [2].



Рис. 1.3 Цветки брусники обыкновенной в природе

Плод – шаровидная, блестящая, при созревании красная сочная ягода с многочисленными мелкими семенами, диаметр ягоды от 6,0 до 11,5 мм, масса ее колеблется в зависимости от места местообитания от 0,23 до 0,43 г (в долинных брусничниках) и от 0,19 до 0,51 г (в горных), горьковатая на вкус. Цветет брусника в мае – июне, а созревает в конце августа. При этом на одном и том же растении находятся как зрелые плоды от первого цветения так и зеленые ягоды, а также цветки (рис. 1.4) [3].



Рис. 1.4 Плоды брусники обыкновенной в природе

Брусника в основном произрастает в европейской части России, Сибири, на Дальнем Востоке. В Украине брусника произрастает в болотистых местах на территории Полесья и Карпатах. Растение очень зимостойкое и встречается

за полярным кругом, вдоль побережья Северного Ледовитого Океана до Чукотки [4].

Заготовка брусники возможна в Волынской, Ровенской, Тернопольской, Львовской, Ивано-Франковской, Черновицкой и Закарпатской областях, на севере Киевской и Житомирской областей. Можно встретить бруснику на севере Сумской и Черниговской областей. Запасы брусники на территории Украины ограничены [5].

Плоды брусники собирают в период полной спелости, когда они хорошо отделяются от побегов. Сбор ягод проводится утром, когда сойдет роса в сухую погоду, так как влажные ягоды могут загнить, а собранные в жару – завянуть. Урожайность плодов брусники может достигать до 300-350 кг/га. Собирают плоды брусники ручным способом или совком, при использовании совка производительность сбора увеличивается в 3-4 раза. В течении 1 часа можно собрать 10 кг ягод брусники. Хранятся свежие собранные ягоды в бочках при температуре не выше 3-5° С в течении 10 месяцев с момента сбора [6, 7].

## 1.2 Химический состав брусники обыкновенной

В плодах брусники содержатся разнообразные биологические активные вещества: полисахариды, органические кислоты, терпены, витамины, антоцианы, флавонолы, проантоцианидины, катехины, фенольные кислоты и фенольные гликозиды (табл. 1.1) [8].

Таблица 1.1

### Химический состав плодов и листьев брусники

Сполука	Листья, % содержания в сухом сырье	Плод, % содержания в сухом сырье
1	2	3
<i>Полисахариды</i>		
Фруктоза	✓ [8]	(4,48 %) ✓[8]
Глюкоза	✓ [8]	(3,91 %) ✓[8]
Сахароза	✓ [8]	(0,53 %) ✓[8]

<i>Органические кислоты</i>		
Лимонная кислота	✓[9]	(1,30%) ✓[9]
Яблочная кислота	✓[9]	(0,30%) ✓[9]
Бензойная кислота	✓[9]	(0,05 – 0,20%) ✓[9]
Винная кислота	✓[9]	✓[9]
Щавелевая кислота	✓[9]	✓[9]
Салициловая кислота	✓[9]	✓[9]
<i>Терпены</i>		
Урсоловая кислота	(0,04%) ✓ [10]	(0,08%) ✓ [11]
Олеоновая кислота	(0,001%) ✓ [10]	(0,015%) ✓ [11]
Камфора	✓[10]	✓[12]
$\beta$ -терпениол	✓[10]	✓[12]
$\beta$ -фарнезин	✓[10]	✓[12]
<i>Витамины</i>		
Аскорбиновая кислота	(0,001 – 0,01%) ✓[13]	(0,05 – 0,3%) ✓[14]
Токоферол	✓[13]	(0,1%) ✓[14]
Филлохинон	✓[13]	✓[14]
Тиамин	(0,003%) ✓[13]	(0,3%) ✓[14]
<i>Антоцианы</i>		
Цианидин-3-арабинозид	-	(0,72%) ✓ [15]
Цианидин-3-галактозид	-	(0,39%) ✓ [15]
Дельфинидин	-	✓ [15]
<i>Флавонолы</i>		
Кверцетин	(0,0025 – 0,00113%) ✓ [16]	(0,25 – 2,13%) ✓ [16]
Мирицетин	(1,0%) ✓ [16, 20]	(0,39%) ✓ [17, 20]
Кемпферол	(0,5%) ✓ [16, 20]	(0,05%) ✓ [17, 20]
Рутин	(1,6%) ✓ [16, 20]	(1,0%) ✓ [17, 20]
<i>Проантоцианидины</i>		
Проантоцианидин В1	(0,70%) ✓ [18]	(0,60%) ✓ [19]
Проантоцианидин В2	(0,80%) ✓ [18]	(0,40%) ✓ [19]
Проантоцианидин А1	(0,70%) ✓ [18]	(0,50%) ✓ [19]
Проантоцианидин А2	(0,50%) ✓ [18]	(0,30%) ✓ [19]
<i>Катехины</i>		
Эпикатехин	(0,02%) ✓ [19, 21, 22]	(0,50%) ✓ [19, 21, 22]
Эпигаллокатехин	✓ [19, 21, 22]	✓ [19, 21, 22]
Катехин	(1,0%) ✓ [19, 21, 22]	(1,7%) ✓ [19, 21, 22]
<i>Фенольные кислоты</i>		
Галловая кислота	(0,90%) ✓ [23]	(0,88%) ✓ [23]
<i>n</i> -гидроксибензойная кислота	(0,77%) ✓ [23]	(0,61%) ✓ [23]

Протокатеховая кислота	(0,81%) ✓ [23]	(0,9%) ✓ [24]
Ванилиновая кислота	(0,11%) ✓ [24]	(0,2%) ✓ [24]
Кумаровая кислота	(0,33%) ✓ [24]	(0,8%) ✓ [24]
Кофейная кислота	(0,01%) ✓ [24]	(0,015%) ✓ [24]
Феруловая кислота	(0,01%) ✓ [24]	(0,02%) ✓ [25]
Хлорогеновая кислота	(0,12%) ✓ [24]	(0,2%) ✓ [25]
Неохлорогеновая кислота	(0,01%) ✓ [24]	(0,04%) ✓ [25]
<i>Фенолы и их производные</i>		
Гидрохинон	(2,0%) ✓ [26]	(1,0%) ✓ [26]
Арбутин	(4,5 – 9%) ✓ [26]	(2,0%) ✓ [26]
Метиларбутин	✓ [26]	✓ [26]

Согласно литературным источникам, содержание фенолов и их производных выше в листьях. Основным фенольным соединением в плодах и листьях является арбутин. В листьях и плодах брусники содержатся следующие производные флавонолов: кверцетин, мирицетин, кемпферол и рутин. Количество флавонолов в листьях больше, чем в плодах.

Отличительной характеристикой плодов от листьев брусники является присутствие в химическом составе антоцианов. Антоцианы представлены следующими соединениями: цианидин-3-арабинозид, цианидин-3-галактозид и дельфинидин. Количественное содержание антоцианов может достигать 1%.

Также, одной из основных групп БАВ в плодах и листьях брусники являются органические кислоты. Органических кислот в плодах больше, чем в листьях, основными же представителями органических кислот являются следующие соединения: лимонная, яблочная, бензойная, винная, щавелевая и салициловая кислоты. Содержание органических кислот в плодах может достигать до 3,0%, а в листьях – 1,2%.

Плоды и листья брусники богаты различными фенольными кислотами, такими, как: галловая, *n*-гидроксibenзойная, протокатеховая, ванилиновая, кумаровая, кофейная, феруловая, хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты. Кроме этого, в плодах и листьях брусники содержатся производные катехинов

и проантоцианидов. Основными доминирующими соединениями среди катехинов являются эпикатехин и катехин. Содержание катехинов в листьях до 2,0%, а в плодах - 0,5-1,0%. Проантоцианиды превалируют в листьях.

В бруснике обыкновенной содержатся производные терпенов: урсоловая и олеаноленовая кислота, камфора,  $\beta$ -терпениол и  $\beta$ -фарнезин. Терпеновые соединения входят в состав эфирных масел и обуславливают специфический аромат растений. В исследованиях было показано, что тритерпеновые соединения в основном содержатся в оболочке плодов.

В плодах брусники содержится большое количество витаминов: аскорбиновая кислота, тиамин, токоферол и филлохинон.

### **1.3 Фармакологические свойства и применение в медицине брусники обыкновенной**

Плоды брусники обладают широким спектром лечебно-профилактических свойств для здоровья человека: иммуномодулирующим, антиоксидантным, противораковым, кардиопротекторным, гипогликемическим, противовоспалительным и антибактериальным действием [23].

В исследованиях *in vivo* была показана иммуномодулирующая активность экстрактов плодов брусники. В эксперименте мышам перорально один раз в день в течений 14 дней вводили экстракт брусники в диапазоне 50 – 200 мг/кг до воздействия гамма-облучением. По результатам эксперимента, было показано, что в группе, которой вводили экстракт брусники, количество лейкоцитов в периферической крови животных было выше, чем в контрольной [27].

Методиками DPPH, ABTS была определена антиоксидантная активность экстрактов плодов брусники. Наиболее существенный вклад в антиоксидантную активность экстракта вносят антоцианы, флавонолы и производные фенолов [28].

Во многих исследованиях было показано антипролиферативное действие экстрактов плодов брусники: экстракт брусники подавляет пролиферацию опухолевых клеток линий HT-29 аденокарциномы толстого кишечника путем ингибирования экспрессии гена p21. В других исследованиях на линии клеток толстого кишечника Caco-2 было исследовано противоопухолевое действие проантоцианидинов брусники в дозе 25 – 75 мкг/мл. По результатам исследования было определено, что уровень пролиферации снижается на 75%, кроме этого, предварительная обработка мышинных эпителиальных клеток линии JB6P экстрактом брусники тормозила транскрипцию NF- $\kappa$ B, JNK и MAPK. Экстракт брусники оказывал противоопухолевую активность на клетках линий HL-60 лейкоцитов человека [29, 31].

Было описано прямое антидиабетическое действие этанольного экстракта плодов брусники в исследованиях *in vitro*. Этанольный экстракт стимулировал АМФК скелетных мышц C2C12. Основная роль АМФК в метаболизме глюкозы заключается в увеличении обмена веществ в клетке. В исследованиях *in vivo* на моделях сахарного диабета у мышей линий C57BL/6, крысы получали в рационе высококалорийную пищу и дополнительно введенный экстракт плодов брусники (в дозе 125, 250 и 500 мг/кг) в течении 8 недель. По результатам исследования было показано снижение гликемий, что напрямую коррелировало с повышением GLUT4, АМФК и Akt в скелетных мышцах [32].

Кардиопротекторную активность исследовали на слепом рандомизированном исследовании у 72 пациентов с устойчивой гипертензией и атеросклерозом. В течении 8 недель, пациенты употребляли в пищу 100 г ягод черники и 50 г брусники. В результате, у пациентов снижалось артериальное давление и увеличилось ЛПВП в сыворотке [33]. На взгляд исследователей это связано в первую очередь с присутствием антоцианов и подавлением ими ангиотензин-превращающего фермента.

Была исследована противовоспалительная активность сока брусники в эксперименте на крысах со спонтанным развитием гипертензии. При применении сока брусники снижалась экспрессия мРНК циклооксигеназы-2, моноцитарного хемотаксического белка – 1 [34]. Кроме этого, в исследованиях *in vitro* на клеточной линии RAW264.7, экстракт плодов брусники приводил к дозозависимому уменьшению продукции интерлейкинов-1 $\beta$  [35].

Антимикробное действие экстрактов плодов брусники изучалось в отношении *S. aureus*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Str. mutans*, *Fusobact. Nucleatum*. Было установлено, что антоцианы и проантоцианидины брусники подавляют рост вышеприведенных штаммов бактерий, что связано с возможным ингибированием репликации бактерий [36].

### Резюме

1. В ходе анализа было установлено, что брусника обыкновенная в Украине произрастает на территории Полесья и Карпат. Сырьевая база брусники обыкновенной недостаточна для промышленной заготовки.
2. Показано, что химический состав плодов брусники обыкновенной представлен: полисахаридами, органическими кислотами, терпенами, витаминами, антоцианами, флавонолами, проантоцианидинами, катехинами, фенольными кислотами и фенольными гликозидами.
3. Установлено, что плоды брусники обыкновенной обладают иммуномодулирующим, антиоксидантным, противораковым, кардиопротекторным, гипогликемическим, противовоспалительным и антибактериальным действием.



## РАЗДЕЛ 2

### ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1 Соответствие плодов брусники требованиям нормативной документации

Для проведения контроля качества плодов брусники используют нормативный документ ГОСТ 5039:2008 «Брусника свежая. Технические условия» [37]. Согласно данному нормативному документу, свежие плоды брусники разделяют на первый и второй сорт. Нами было проведено исследование по соответствию плодов брусники показателям данного нормативного документа. В ходе анализа было установлено, что изучаемые плоды брусники соответствуют первому сорту.

Результаты представлены в табл. 2.1

*Таблица 2.1*

<b>Показатели качества плодов брусники свежей</b>			
<b>Показатель</b>	<b>Характеристика и норма</b>	<b>Исследуемое сырье</b>	<b>Соответствие стандарту</b>
Внешний вид	красные многосемянные шаровидные блестящие ягоды до 8 мм в диаметре, несущие на верхушке засохшую чашечку	красные многосемянные шаровидные блестящие ягоды до 8 мм в диаметре, несущие на верхушке засохшую чашечку	Соответствует
Вкус и аромат	кисло-сладкий вкус	кисло-сладкий вкус	Соответствует
<b>Состояние спелости для потребления в свежем виде и при поставке для переработки</b>			
<b>Масса ягод для потребления в свежем виде, не менее:</b>			
для первого товарного сорта, г	1,5	1,6 – 1,8	Соответствует

Для второго товарного сорта, г	1,2	1,6 – 1,8	Соответствует
Масса ягод для технической переработки, г	Не нормируют	1,6 – 1,8	Соответствует
<b>Массовая доля плодов других помологических сортов, % от массы, не более:</b>			
для первого товарного сорта, г	Не допускают	0	Соответствует
для второго товарного сорта, г	5	0	Соответствует
<b>Наличие плодов смятых, перезрелых в местах заготовки, % от массы, не более:</b>			
для первого товарного сорта, г	Не допускают	0	Соответствует
для второго товарного сорта, г	2	0	Соответствует
<b>Наличие плодов смятых, перезрелых в местах назначения, % от массы, не более:</b>			
для первого товарного сорта, г	2	1,5	Соответствует
для второго товарного сорта, г	4	1,5	Соответствует
<b>Наличие плодов, не достигших съемочной спелости, но не зеленых, % от массы, не более чем:</b>			
для первого товарного сорта, г	Не допускают	0	Соответствует
для второго товарного сорта, г	2	0	Соответствует
<b>Наличие примесей растительного происхождения, % от массы, не более:</b>			
для первого товарного сорта, г	Не допускают	0	Соответствует

для второго товарного сорта, г	0,5	0	Соответствует
<b>Наличие плодов прелых, загрязненных, плесневых, со следами химических средств защиты</b>			
для первого товарного сорта, г	Не допускают	0	Соответствует
для второго товарного сорта, г	Не допускают	0	Соответствует

Сырье плодов брусники обыкновенной сушили при 50 – 70° С в сушильном шкафу.

### Выводы к разделу 2

1. Установлено, что исследуемые плоды брусники обыкновенной по нормативному документу ГОСТ 5039:2008 «Брусника свежая. Технические условия» соответствуют первому сорту.

### РАЗДЕЛ 3

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ СВОБОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ПЛОДАХ БРУСНИКИ

### 3.1 Обнаружение органических кислот в плодах брусники

Для идентификации органических кислот нами был использован ТСХ метод.

Для ТСХ – скрининга органических кислот были использованы ТСХ – пластинки марки «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ» (ТУ 26-11-17-89), которые перед использованием активировались в сушильном шкафу при 100-105° С в течение 1 ч.

#### *Методика получения извлечения для ТСХ-скрининга*

10,0 г (точная навеска) сырья помещали в колбу со шлифом на 250,0 мл, заливали 150,0 мл дистиллированной воды и экстрагировали в течении 1 ч на кипящей водяной бане. Полученное извлечение отфильтровывали через бумажный фильтр «синяя лента».

#### *Пробоподготовка стандартных растворов сравнения и проявителя*

Стандартный раствор щавелевой кислоты: 0,25 г (точная навеска) переносили в мерную колбу объемом 25,0 мл, растворяли и доводили до метки 96% этанолом.

Стандартный раствор аскорбиновой кислоты: 0,50 г (точная навеска) переносили в мерную колбу объемом 25,0 мл, растворяли и доводили до метки 96% этанолом.

Стандартный раствор янтарной кислоты: 0,10 г (точная навеска) переносили в мерную колбу объемом 25,0 мл, растворяли и доводили до метки 96% этанолом.

Стандартный раствор лимонной кислоты: 0,30 г (точная навеска) переносили в мерную колбу объемом 25,0 мл, растворяли и доводили до метки 96% этанолом.

Стандартный раствор яблочной кислоты: 0,80 г (точная навеска) переносили в мерную колбу объемом 25,0 мл, растворяли и доводили до метки 96% этанолом.

Раствор бромкрезолового зеленого: 0,100 г бромкрезолового зеленого растворяли в 50,0 мл 96% этанола.

На линию старта пластинки микропипеткой наносили 30 мкл исследуемого водного извлечения и 10,0 мкл 1% раствора щавелевой кислоты, 2% раствора аскорбиновой кислоты, 0,4% раствора янтарной кислоты, 1,2% раствора лимонной кислоты, 3,2% раствора яблочной кислоты в виде полос длиной около 10 мм. Пластинку с нанесенными пробами помещали в хроматографическую камеру и хроматографировали в следующей смеси растворителей: этилацетат : уксусная кислота : муравьиная кислота : вода (100:11:11:25).

Детектирование БАВ осуществляли раствором бромкрезолового зеленого и просматривали пластинку при дневном свете. После проявления органические кислоты проявлялись в виде желтых зон на синем фоне.

Результаты показаны в табл. 3.1 и рис. 3.1.

*Таблица 3.1*

**Результаты изучения органических кислот в плодах брусники методом ТСХ**

Наименование стандарта	Значение $R_f$ стандарта	Значение $R_f$ исследуемого раствора
Щавелевая кислота	0,32±0,02	0,33±0,02
Винная кислота	0,36±0,02	0,37±0,02
Лимонная кислота	0,41±0,02	0,42±0,02
Аскорбиновая кислота	0,50±0,02	0,51±0,02
Яблочная кислота	0,80±0,02	0,81±0,02
Янтарная кислота	0,91±0,02	0,90±0,02

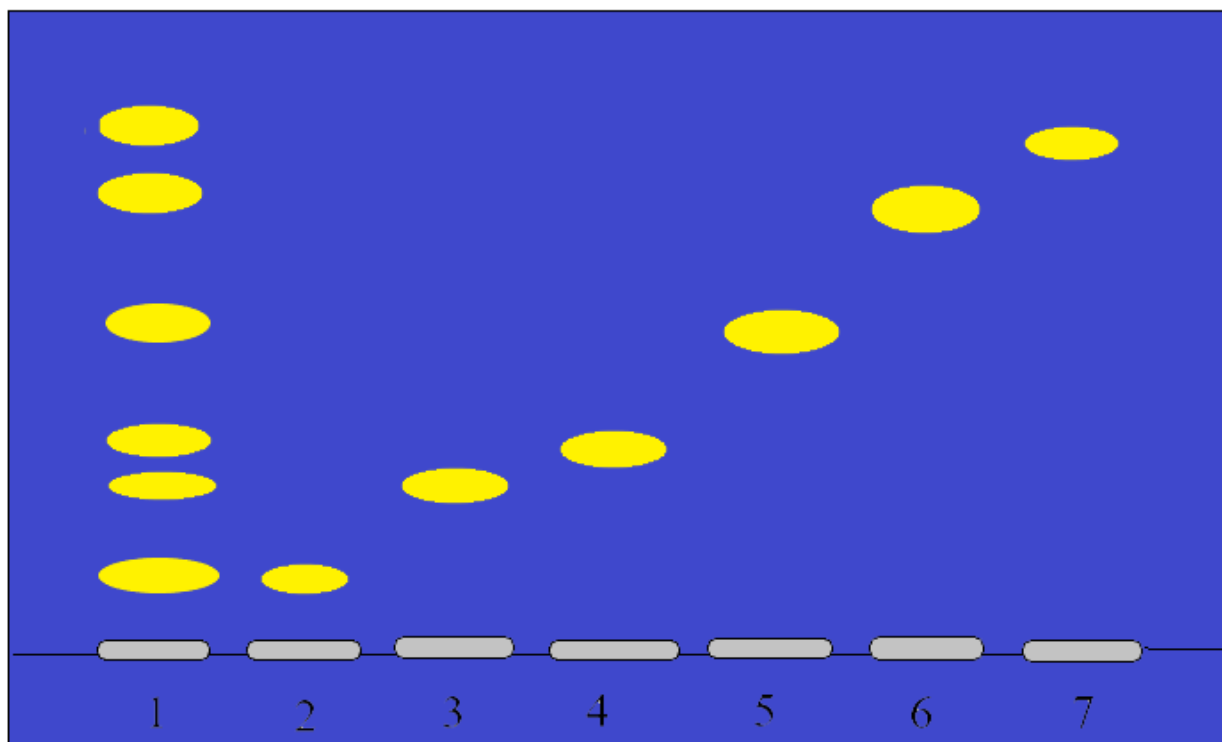


Рис. 3.1 1 – водное извлечение плодов брусники, 2 – щавелевая кислота, 3 – винная кислота, 4 – лимонная кислота, 5 – аскорбиновая кислота, 6 – яблочная кислота, 7 – янтарная кислота

### **3.2 Разработка методики определения количественного содержания свободных органических кислот в плодах брусники**

Согласно ГФУ 2.3 сумма органических кислот определяется в пересчете на лимонную кислоту кислотно-основным титрованием с установлением точки эквивалентности потенциометрическим методом. Но при этом в аналитической химии существуют другие методы определения точки эквивалентности, такие как кондуктометрический, вольтамперометрический и кулонометрический. Приведенные методы не уступают по точности, воспроизводимости и чувствительности.

Для сравнения результатов определения суммы органических кислот кондуктометрический метод был выбран по ряду причин: во-первых, кондуктометрический метод простой, во-вторых, в методе не применяют токсические вещества, как в вольтамперометрии – ртутный электрод, в-

третьих, кондуктометрический метод не требует дорогостоящего оборудования, как в кулонометрии.

Для определения эквивалентного объема титранта устанавливают точку эквивалентности, которую можно определить с помощью построенной кривой титрования. Кривые титрования могут быть интегральной, дифференциальной и Грана. Мы выбрали дифференциальный тип построения кривой титрования так, как этот тип является наиболее оптимальным и удобным для определения эквивалентного объема титранта. Кривая титрования строилась в координатах  $\Delta E/\Delta V - V_{\text{титр}}$ . (рис. 3.2).

После этого определяется максимум, соответствующий точке эквивалентности. Для определения эквивалентного объема титранта опускается линия от максимума до оси абсцисс, затем определяется объем титранта израсходованного на титрование исследуемого раствора. Содержание свободных органических кислот (X, %) в пересчете на лимонную кислоту в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X(\%) = \frac{(V_{\text{экв}} - V_{\text{хд}}) \cdot 0,0034 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100 \cdot КП}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)},$$

где: 0,0034 – количество лимонной кислоты, соответствующее 1 мл 0,05 М раствора гидроксида натрия, г;

$V_{\text{экв}}$  – объем 0,05 М раствора гидроксида натрия, мл;

$V_{\text{х}}$  – объем 0,05 М раствора гидроксида натрия, использованного для титрования в холостом опыте, мл;

КП – поправочный коэффициент;

$m$  – масса навески, г;

$W$  – потеря в массе при высушивании сырья.

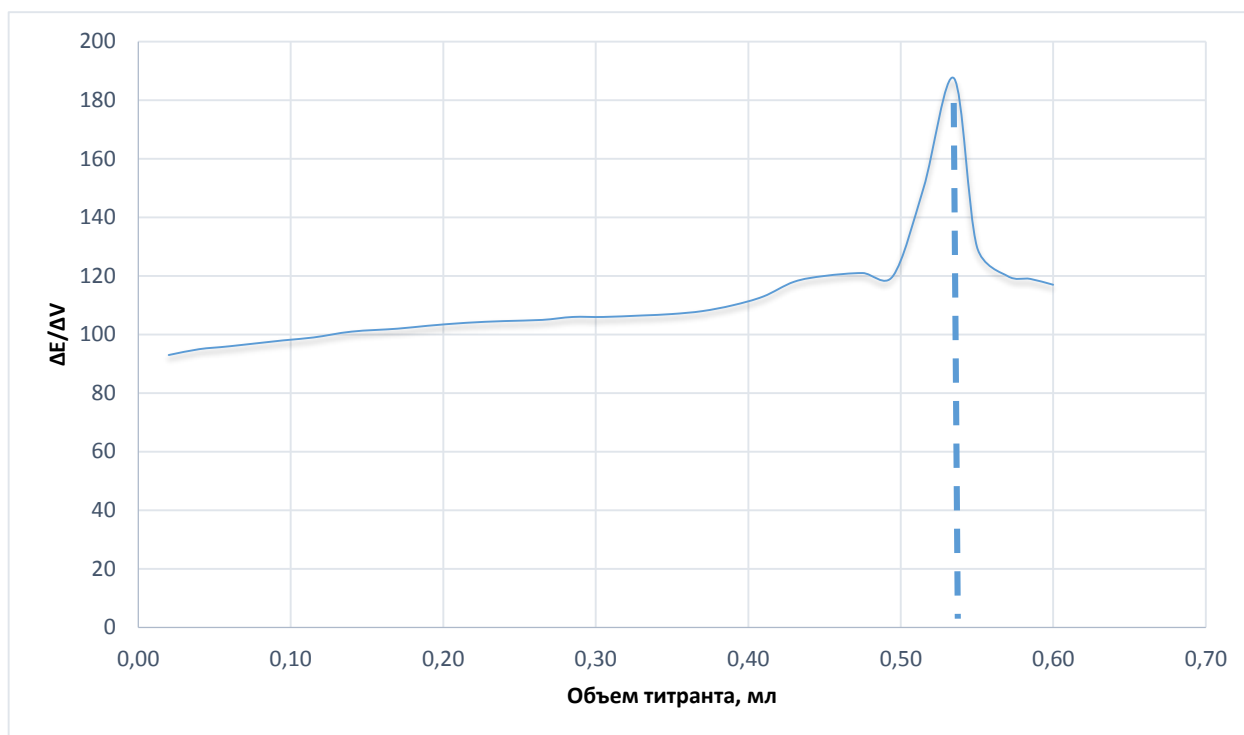


Рис. 3.2 Кривая потенциометрического титрования суммы свободных органических кислот

Также сумма свободных органических кислот была определена кондуктометрически. В кондуктометрическом методе титрования точку эквивалентности определяли с помощью построенной интегральной кривой титрования в координатах  $\chi, \mu\text{S} - V_{\text{титр.}}$  (рис. 3.2).

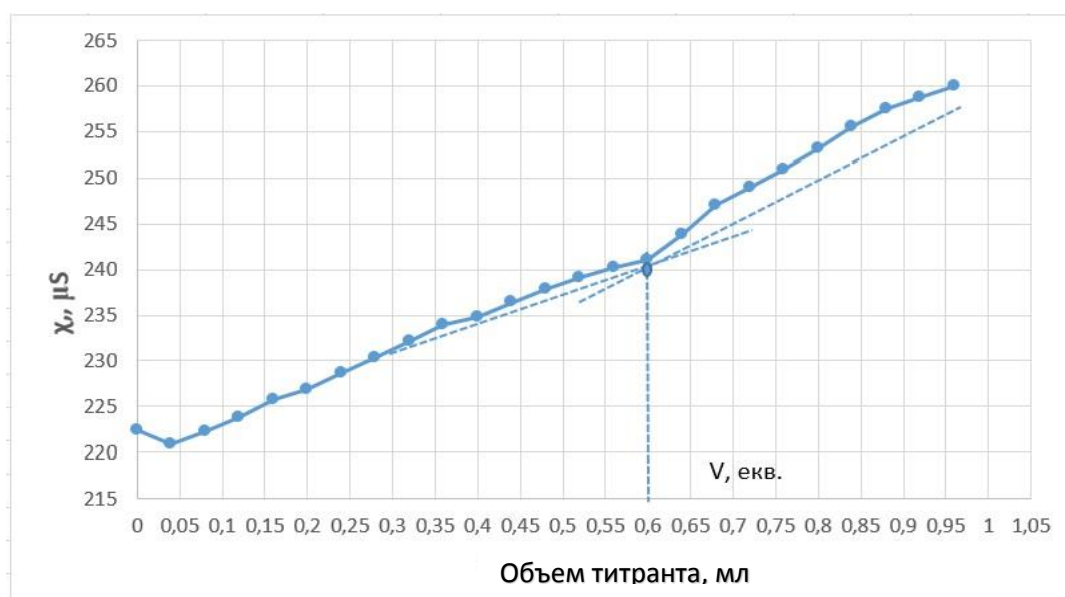


Рис. 3.3 Кривая кондуктометрического титрования суммы свободных органических кислот



Для разработки методики количественного определения органических кислот нужно определить основные условия экстрагирования: экстрагент, соотношение сырье/экстрагент, степень экстракции, время экстракции.

Для выбора оптимальных условий экстракции было брали 10,0 г измельченного сырья (точная навеска), помещали в колбу со шлифом емкостью 500 мл, добавляли 50, 100, 200, 300 мл экстрагента. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течении 30 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут. Полученное извлечение фильтровали, охлаждали и переносили в мерную колбу, доводили до метки тем же растворителем, что и экстрагент.

По результатам исследований, самое высокое содержание свободных органических кислот было установлено в водном извлечении, а наименьшее в 96% этаноле. Таким образом, как оптимальный экстрагент была выбрана вода. (табл. 3.2).

Таблица 3.2

**Результаты исследования выбора экстрагента**

Экстрагент	Содержание суммы свободных органических кислот в плодах брусники, %	
	Потенциометрическое титрование	Кондуктометрическое титрование
96% этанол	1,05±0,01	1,10±0,01
70% этанол	1,40±0,02	1,43±0,01
50% этанол	1,56±0,01	1,56±0,01
30% этанол	1,80±0,01	1,85±0,01
вода	2,00±0,01	2,03±0,01

При соотношении сырье/экстрагент 1:30 экстракция свободных органических кислот наибольшая, наименьшая же - при соотношении сырье/экстрагент 1:5 и 1:10. Однако при экстракции в соотношении 1:20 и 1:30 содержание свободных органических кислот значительно не увеличилось,

поэтому оптимальным соотношением сырье/экстрагент следует считать 1:20. (табл. 3.3).

Таблица 3.3

<b>Результаты исследования выбора соотношения сырье/экстрагент</b>		
<b>Соотношение сырье/экстрагент</b>	<b>Содержание суммы свободных органических кислот в плодах брусники, %</b>	
	<b>Потенциометрическое титрование</b>	<b>Кондуктометрическое титрование</b>
1:5	1,80±0,01	1,81±0,01
1:10	1,95±0,02	1,96±0,01
1:20	2,10±0,01	2,11±0,01
1:30	2,11±0,01	2,12±0,01

Самое высокое количество свободных органических кислот экстрагируется за 120 минут, а наименьшее - за 30 минут, но оптимальным временем экстракции является 60 минут. Это связано с тем, что при экстракции в течении 90 и 120 минут содержание свободных органических кислот значительно не увеличивается, и в данном случае увеличение времени экстрагирования не является логичным (табл. 3.4).

Таблица 3.4

<b>Результаты исследования выбора времени экстракции</b>		
<b>Время экстракции</b>	<b>Содержание суммы свободных органических кислот в плодах брусники, %</b>	
	<b>Потенциометрическое титрование</b>	<b>Кондуктометрическое титрование</b>
30 минут	2,10±0,01	2,11±0,01
60 минут	2,30±0,02	2,32±0,01
90 минут	2,31±0,01	2,33±0,01
120 минут	2,35±0,01	2,36±0,01

Оптимальной степенью экстракции плодов брусники является двукратная. При последующих экстракциях экстрагируется достаточно низкое количество свободных органических кислот, поэтому проведение 3 и 4 экстракции экономически не выгодно (табл. 3.5).

Таблица 3.5

**Результаты исследования выбора степени экстракции**

Степень экстракции	Содержание суммы свободных органических кислот в плодах брусники, %	
	Потенциометрическое титрование	Кондуктометрическое титрование
1 экстракция	2,30±0,01	2,32±0,01
2 экстракция	2,80±0,02	2,83±0,01
3 экстракция	2,91±0,01	2,96±0,01
4 экстракция	2,92±0,01	2,96±0,01

Оптимальной методикой экстракции свободных органических кислот из плодов брусники является: точную навеску сырья (10,0 г) помещали в колбу со шлифом емкостью 1000 мл, добавляли 200 мл дистиллированной воды. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут, дважды экстрагировали, полученные извлечения фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента», объединяли и переносили в мерную колбу на 500 мл, доводили до метки водой дистиллированной.

Сумму свободных органических кислот устанавливали кислотно-основным титрованием с определением точки эквивалентности потенциометрическим, кондуктометрическим и индикаторным методом.

Содержание суммы свободных органических кислот в пересчете на лимонную кислоту составило 2,83, 2,80 и 3,60% в плодах брусники для кондуктометрического, потенциометрического и индикаторного методов, соответственно (табл. 3.6). Относительная ошибка потенциометрического и

кондуктометрического титрования не превышала  $\pm 1,42\%$  и  $\pm 2,28\%$ , соответственно, что значительно ниже ошибки титрования с применением индикатора, составлявшей в среднем  $\pm 4,80\%$ .

Таблица 3.6

**Метрологические характеристики количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники**

Метод титрование	$\bar{x}$	$S^2$	$S$	$S_{\bar{x}}$	$\Delta x$	$\varepsilon, \%$	$\bar{x} + \Delta x$
Кондуктометрический	2,83	0,00012	0,0110	0,0049	0,01	1,45	2,83 $\pm$ 0,01
Потенциометрический	2,80	0,00033	0,0182	0,0081	0,02	2,26	2,80 $\pm$ 0,02
Индикаторный	3,60	0,01685	0,1298	0,0581	0,16	4,80	3,60 $\pm$ 0,16

**3.3. Сравнение потенциометрической и кондуктометрической методик титрования свободных органических кислот в плодах брусники**

В случае необходимости сравнения двух результатов анализа одного и того же образца, полученных по разным методикам, причем оба результата содержат сравнимые между собой случайные погрешности, используют модифицированный тест Стьюдента. Математическая задача сводится в этом случае к установлению значимости различия между двумя средними значениями  $\mu_1$  и  $\mu_2$  [38].

Модифицированный тест Стьюдента используется, когда дисперсии соответствующих значений  $s^2_{I=(x_1)}$  и  $s^2_{2=(x_2)}$  различаются незначимо.

Для модифицированного теста Стьюдента тестовая статистика рассчитывается как:

$$t = \frac{|\mu_1 - \mu_2|}{\bar{s}(x)} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}},$$

где,  $n_1$  и  $n_2$  – числа параллельных значений, из которых рассчитаны величины  $x_1$  и  $x_2$  соответственно, а  $\bar{s}(x)$  – среднее стандартное отклонение, рассчитываемое по следующей формуле:

$$\bar{s}(x) = \sqrt{\frac{f_1 \cdot s_1^2 + f_2 \cdot s_2^2}{f_1 + f_2}},$$

Значения  $f_1$  и  $f_2$  – числа степеней свободы соответствующих дисперсий, равные  $n_1-1$  и  $n_2-1$ . Критическим значением служит коэффициент Стьюдента  $t(P, f)$  для числа степеней свободы избранной доверительной вероятности  $P$  и числа степеней свободы:

$$v = v_1 + v_2 = n_1 + n_2 - 2$$

Таким образом, значимое различие между  $x_1$  и  $x_2$  имеет место тогда, когда

$$\frac{|\mu_1 - \mu_2|}{\bar{s}(x)} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} > t(P, v = n_1 + n_2 - 2)$$

Для проверки того, что дисперсии соответствующих значений  $s^2_1 = (x_1)$  и  $s^2_2 = (x^2)$  различаются незначительно, то есть сравнить их воспроизводимость и доказать, что они являются однородной дисперсией. Для этого используется статистический тест Фишера, в случае сравнения воспроизводимости двух методик анализа с оценками дисперсии  $s^2_1$  и  $s^2_2$  ( $s^2_1 > s^2_2$ ) вычисляют критерии Фишера  $F$ :

$$F = \sqrt{\frac{s^2_1}{s^2_2}}$$

Критерий  $F$  характеризует при  $s^2_1 > s^2_2$  вероятность различия между  $s^2_1$  и  $s^2_2$ .

Вычисленное значение  $F$  сравнивают с табличным значением  $F(P, f_1, f_2)$ , найденным при  $P=95\%$ .

Если

$$F > F(P, f_1, f_2),$$

расхождение значений  $s^2_1$  и  $s^2_2$  не может быть признано значимым, и вывод о расхождении воспроизводимости методик нельзя сделать из-за недостаточного объема информации [39].

Было определено суммарное содержание свободных органических кислот в плодах брусники потенциометрическим и кондуктометрическим титрованием. В обоих случаях число параллельных исследований составило  $n=5$ . Получены две выборки анализа содержания свободных органических кислот в плодах брусники:

- 1) Потенциометрическое титрование: 2,80, 2,79, 2,81, 2,82, 2,86%
- 2) Кондуктометрическое титрование: 2,83, 2,80, 2,82, 2,85, 2,85%

Было проведено сравнение двух методик анализа по воспроизводимости с помощью  $F$ -теста.

Результаты представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7

**Результаты сравнения потенциометрической и кондуктометрической методики титрования свободных органических кислот в плодах брусники согласно  $F$ -теста**

Методика	$\mu$ , %	f	$s^2$	$F(95\%, f_1, f_2)$ , таб	$F$ , выч
Кондуктометрическая	2,83	4	0,00012	6,41	2,75
Потенциометрическая	2,80		0,00033		

Критические значения  $F(95\%, 4, 4) = 6,41$ ,  $F_{\text{выч}} < F_{\text{таб}}$ , воспроизводимость данных значимо не различается.

Для сравнения средних значений выборок будем использовать модифицированный тест Стьюдента.

Результаты представлены в таблице 3.8.

Таблица 3.8

**Результаты сравнения потенциметрической и кондуктометрической методики титрования свободных органических кислот в плодах брусники согласно модифицированному тесту Стьюдента**

Методика	$\mu$ , %	n	f	$\bar{s}(x)$	v	$t(95\%,v)$	t, выч.
Кондуктометрическая	2,83	5	4	0,015	8	0,024	2,40
Потенциметрическая	2,80						

Критические значения  $t(95\%, 4, 4) = 2,40$ ,  $t$  выч. <  $t$  таб., следовательно, разница между средними значениями незначительна.

### Выводы к разделу 3

1. В ходе анализа методом ТСХ были идентифицированы следующие органические кислоты: щавелевая, яблочная, лимонная, янтарная, аскорбиновая и винная.
2. Установлены оптимальные условия экстракции свободных органических кислот из плодов брусники: экстрагент – вода дистиллированная, соотношение «сырье/экстрагент» – 1/20, время экстракции – 60 минут, степень экстракции – двукратная.
3. Сумма свободных органических кислот в плодах брусники составила 2,83, 2,80 и 3,60% для кондуктометрического, потенциметрического и индикаторного метода титрования, соответственно.
4. Установлено, что полученные данные и средние значения при кондуктометрическом, и потенциметрическом методе титрования органических кислот в плодах брусники не разнятся.

## РАЗДЕЛ 4

### ВАЛИДАЦИЯ КОНДУКТOMETРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ СВОБОДНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ПЛОДАХ БРУСНИКИ

Для валидации методики определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники нами был выбран кондуктометрический метод, поскольку относительная ошибка при кондуктометрическом титровании была меньшей на 50%, чем при потенциометрическом.

*Методики определения суммы органических кислот в плодах брусники.*

10,0 (точная навеска) сырья помещали в колбу со шлифом емкостью 1000 мл, добавляли 200 мл дистиллированной воды. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут, дважды экстрагировали, полученные извлечения фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента», объединяли, и переносили в мерную колбу на 500 мл, доводили до метки водой дистиллированной (раствор А). 20,00 мл раствора А помещали в колбу на 500 мл, добавляли 250 мл свежeproкипяченной воды и титровали 0,05 М раствором гидроксида натрия кондуктометрически (HANNA 2550, кондуктометрический электрод – HI 76310). Содержание свободных органических кислот (X, %) в пересчете на лимонную кислоту в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X(\%) = \frac{(V_{\text{экв}} - V_{\text{хд}}) \cdot 0,0034 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100 \cdot КП}{m \cdot 20 \cdot (100 - W)},$$

где: 0,0034 – количество лимонной кислоты, соответствующей 1 мл 0,05 М раствора гидроксида натрия, г;

$V_{\text{экв}}$  – объем 0,05 М раствора гидроксида натрия, мл;

$V_{\text{х}}$  – объем 0,05 М раствора гидроксида натрия, использованного для титрования в холостом опыте, мл;

КП – поправочный коэффициент;

$m$  – масса навески, г;



W – потеря в массе при высушивании сырья.

Валидация методики количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники методом кондуктометрического титрования выполнялась в соответствии с International Conference on Harmonization (ICH) [40]. Разработанная титриметрическая методика валидировалась по следующим показателям: специфичность, правильность, линейность, сходимость, промежуточная прецизионность, стабильность.

#### **4.1 Определение специфичности и линейности методики**

Специфичность методики изучалась путём кондуктометрического титрования растворителя. При изучении специфичности методики было показано, что используемый при подготовке растворитель и вероятные примеси не влияют на результат количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

Линейность методики изучалась на 9 уровнях концентрации (40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200%) от теоретического содержания суммы свободных органических кислот (в пересчете на лимонную кислоту, %) в плодах брусники. Для приготовления разведений в мерные колбы на 100,00 мл переносят аликвоты извлечения объемом 2,00; 6,00; 8,00; 10,00; 12,00; 14,00; 16,00; 18,00; 20,00 мл и доводят до метки растворителем. Линейная зависимость объема титранта от концентрации суммы органических кислот показана в нормализованных координатах (рис. 4.1).

Согласно требованиям ICH, значение коэффициента корреляции при изучении линейности аналитической методики определения количественного содержания активного вещества должно быть  $\geq 0,999$ .

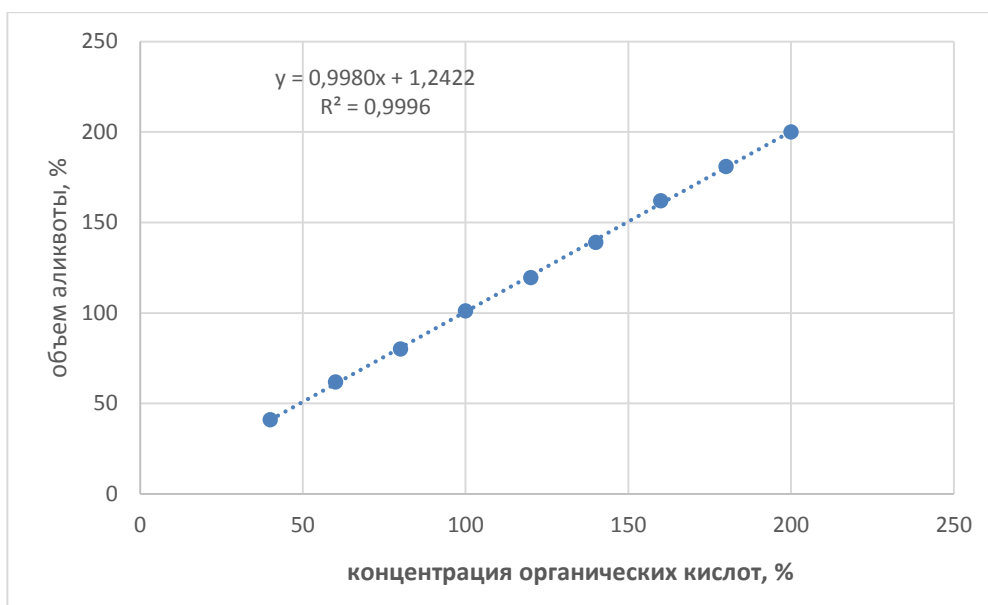


Рис. 4.1 Зависимость эквивалентного объема титранта от концентрации суммы свободных органических кислот в плодах брусники в нормализованных координатах

Таблица 4.1

#### Результаты оценки линейной зависимости

№	Концентрация, %	Эквивалентный объем титранта, мл
1	40	40
2	60	61
3	80	80,30
4	100	101,50
5	120	120
6	140	141
7	160	161
8	180	180
9	200	201
Уравнение регрессии: $y = 0,9980x + 1,2422$		
Угол (b): 0,9980, свободный член (a): 1,2422		
Коэффициент корреляции, $r^2$ : 0,9996		

Линейность была доказана в диапазоне концентраций от 40 до 200%. Уравнение регрессии кривой:  $y = 0,9980x + 1,2422$ . Значение коэффициента корреляции ( $r^2$ ) равно 0,9996 (табл. 4.1).

#### **4.2 Определение правильности методики**

Правильность методики проверена методом добавок при трехкратном анализе трех уровней концентрации органических кислот соответствующих 40, 60, 80% от рабочей концентрации органических кислот. Стандартный раствор лимонной кислоты: 0,096 (точная навеска) переносили в мерную колбу с емкостью 200,00 мл и доводили объем раствора водой дистиллированной до метки. Отбирали аликвоты полученного стандартного раствора 4,00, 6,00, 8,00 мл, помещали в мерные колбы с объемом 100,00 мл, добавляли 20,00 мл раствора А и титровали приготовленный раствор. Критерием оценки при определении правильности служит значение относительного стандартного отклонения, которое в соответствии с требованиями должно быть не более 2% и процент восстановления должен быть от 95 до 105%.

Правильность методики оценивалась с помощью процента восстановления и относительного стандартного отклонения. Процент восстановления находится в интервале от 98,29 до 102,56%, а его средняя величина составляет 99,80%, значение относительного стандартного отклонения при оценке правильности методики составило 1,63%, что не превышает 2% (табл. 4.2).

Таблица 4.2

**Результаты правильности методики**

Найдено органических кислот, (г)	Добавлено СО лимонной кислоты, (г)	Рассчитанное содержание, (г)	Полученное содержание, (г)	Восстановление, %	SD %	RSD %
0,065	0,026	0,091	0,090	98,90	1,64	1,63
			0,092	101,10		
			0,089	102,25		
0,065	0,039	0,104	0,104	100,00		
			0,106	101,92		
			0,102	101,96		
0,065	0,052	0,117	0,117	100,00		
			0,120	102,56		
			0,115	98,29		

**4.3 Определение прецизионности методики**

Сходимость методики проверяли путем приготовления водного извлечения плодов брусники из 6 навесок сырья в пределах короткого промежутка времени, с применением одинакового набора реактивов и с участием одного и того же аналитика. Промежуточную прецизионность определяли, как описано выше в условиях той же лаборатории, но в разные дни. Критерий приемлемости выражается величиной относительного стандартного отклонения и должен превышать 2%.

Таблица 4.3

**Результаты сходимости методики**

Исследуемый образец	Содержание суммы свободных органических кислот, %	
	Первый день	Второй день
1	0,60	0,65
2	0,62	0,66
3	0,61	0,64
4	0,60	0,64
5	0,63	0,65
6	0,64	0,63
Среднее значение, %	0,62	0,64
Стандартное отклонение	0,020	0,021
Доверительный интервал (P = 95%),	0,018	0,016
RSD, %	1,53	1,76
Среднее значение RSD, %	1,67	

Таблица 4.4

**Результаты промежуточной прецизионности методики**

Исследуемый образец	Содержание суммы свободных органических кислот, %	
	Первый день	Второй день
1	0,60	0,65
2	0,62	0,66
3	0,61	0,64
4	0,60	0,64
5	0,63	0,65
6	0,64	0,63
Среднее значение, %	0,62	0,64
Стандартное отклонение	0,020	0,021
Доверительный интервал (P = 95%),	0,018	0,016
RSD, %	1,53	1,76
Среднее значение RSD, %	1,67	

Прецизионность методики была подтверждена сходимостью и промежуточной прецизионностью. Значения относительного стандартного отклонения для сходимости и промежуточной прецизионности составляли

1,43% и 1,67% соответственно. Значения относительного стандартного отклонения были менее 2%, это доказывает, что методика прецизионна (табл. 4.3, 4.4).

Стабильность методики является одним из важных валидационных параметров. Она была подтверждена в течение 60 минут после получения водного извлечения из плодов брусники, относительное стандартное отклонение составляет 1,82, что доказывает стабильность раствора водного извлечения из плодов брусники в течение 60 минут (табл. 4.5).

*Таблица 4.5*

**Результаты определение стабильности методики**

t, хв	0	15	30	45	60	Средне значения, %	RSD, %
Содержание суммы свободных органических кислот, %	0,61	0,62	0,61	0,60	0,61	0,62	1,82

**Выводы к разделу 4**

1. Проведена валидация титриметрической методики определения суммы свободных органических в плодах брусники, установлено, что относительное стандартное отклонение не превышало 2%, процент восстановления был в диапазоне от 95 до 105%, а коэффициент корреляции линейной зависимости был больше 0,999.

2. Установлено, что предложенная методика определения суммы органических кислот является воспроизводимой, надежной, точной и не требует много времени для проведения анализа.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. В ходе анализа литературных источников было установлено, что ареал произрастания брусники обыкновенной в Украине находится на территории Полесья и Карпат. В химический состав плодов брусники входят производные антоцианов, катехинов, проантоцианидинов, терпенов, фенолов, органических кислот, полисахариды и витамины. Основным биологически активным веществом является арбутин.
2. Проведен контроль качества плодов брусники на соответствие требованиям нормативного документа. Установлено, что исследуемые плоды соответствуют первому сорту.
3. Методом ТСХ установлен качественный состав органических кислот плодов брусники. В сырье были идентифицированы органические кислоты: щавелевая, яблочная, лимонная, янтарная, аскорбиновая и винная.
4. Разработана титриметрическая методика определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники. Установлены оптимальные условия экстракции свободных органических кислот из плодов брусники: экстрагент – вода дистиллированная, соотношение «сырье/экстрагент» – 1/20, время экстракции – 60 минут, степень экстракции – дважды.
5. Сумма свободных органических кислот в плодах брусники составила 2,83%, 2,80% и 3,60% для кондуктометрического, потенциометрического и индикаторного метода фиксирования конечной точки титрования, соответственно. Установлено, что полученные данные и средние значения при кондуктометрическом, и потенциометрическом методе титрования органических кислот в плодах брусники не разнятся.
6. Проведена валидация разработанной кондуктометрической методики количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники согласно следующим параметрам: специфичность, правильность, сходимость и промежуточная прецизионность.

7. Установлено, что предложенная методика определения суммы органических кислот является воспроизводимой, надежной, точной и не требует много времени для проведения анализа.



**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

- 1 Кузьмішина І. І. Флора і рослинність України : курс лекцій. Луцьк : Східноєвроп. нац. ун-т ім. Лесі Українки, 2016. 152 с.
- 2 Адвентивна флора України: географічні особливості поширення / Ю. О. Кисельов та ін. *Scientific Bulletin of UNFU*. 2020. Т. 30, № 1. С. 9–13. URL: <https://doi.org/10.36930/40300101> (дата звернення: 28.04.2023).
- 3 Григора І., Соломаха В. Рослинність України. Київ : Фітосоціоцентр, 2005. 452 с.
- 4 Protopopova V. V., Shevera M. V. Invasive species in the flora of Ukraine. I. The group of highly active species. *GEO&BIO*. 2019. Vol. 2019, № 17. P. 116–135. URL: <https://doi.org/10.15407/gb.2019.17.116> (date of access: 28.04.2023).
- 5 Шиндер О. І. Спонтанна флора Національного ботанічного саду імені ММ Гришка НАН України (м. Київ). Повідомлення 3. Адвентивні види: ергазіофіти. *Інтродукція рослин*. 2019. № 3. С. 14–29.
- 6 Телішевська Г. Ю., Грицик А. Р., Бензель І. Л. Розповсюдження, ботанічна характеристика та використання видів родини Вересові. *Актуальні проблеми профілактик. медицини*. 2012. С. 125–131.
- 7 Гапоненко В., Левашова О. Родина вересові (Ericaceae) – перспективне джерело лікарських препаратів. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали II Міжнар. науково-практ. internet-конф., м. Харків, 21–23 берез. 2016 р. Харків, 2016. С. 70.
- 8 Composition of Sugars, Organic Acids, and Total Phenolics in 25 Wild or Cultivated Berry Species / M. Mikulic-Petkovsek et al. *Journal of Food Science*. 2012. Vol. 77, №10. P. C1064–C1070. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02896.x> (date of access: 28.04.2023).
- 9 Aaby K., Amundsen M. Evaluation of extraction methods for determination of phenolic compounds, organic acids and sugars in lingonberries (*Vaccinium vitis-idaea*). *Acta Horticulturae*. 2023. No. 1357. P. 215–222.

- URL: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2023.1357.31> (date of access: 28.04.2023).
- 10 Characterization of Metabolite Profiles of Leaves of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) / P. Liu et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014. Vol. 62, № 49. P. 12015–12026. URL: <https://doi.org/10.1021/jf503521m> (date of access: 28.04.2023).
  - 11 Lee J., Finn C. E. Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) grown in the Pacific Northwest of North America: Anthocyanin and free amino acid composition. *Journal of Functional Foods*. 2012. Vol. 4, № 1. P. 213–218. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.10.007> (date of access: 27.04.2023).
  - 12 Vilkickyte G., Raudone L. Optimization, Validation and Application of HPLC-PDA Methods for Quantification of Triterpenoids in *Vaccinium vitis-idaea* L. *Molecules*. 2021. Vol. 26, № 6. P. 1645. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules26061645> (date of access: 27.04.2023).
  - 13 Vilkickyte G., Raudone L., Petrikaite V. Phenolic Fractions from *Vaccinium vitis-idaea* L. and Their Antioxidant and Anticancer Activities Assessment. *Antioxidants*. 2020. Vol. 9, № 12. P. 1261. URL: <https://doi.org/10.3390/antiox9121261> (date of access: 27.04.2023).
  - 14 Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods / O.-C. Bujor et al. *Food Chemistry*. 2018. Vol. 252. P. 356–365. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.052> (date of access: 28.04.2023).
  - 15 Influence of enzymatic treatment on the chemical composition of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) juice / A. Marsol-Vall et al. *Food Chemistry*. 2021. Vol. 339. P. 128052. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128052> (date of access: 28.04.2023).

- 16 The chemical composition, antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of water-extractable polysaccharide conjugates from northern Manitoba lingonberry / K. A. Ross та ін. *Cogent Food & Agriculture*. 2015. Т. 1, № 1. С. 1109781. URL: <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1109781> (дата звернення: 28.04.2023).
- 17 Ross K. A., Siow Y., Debnath S. C. Lingonberries. *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*. 2020. P. 437–455. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812780-3.00027-1> (date of access: 28.04.2023).
- 18 Liu J., Hefni M. E., Withhöft C. M. Characterization of Flavonoid Compounds in Common Swedish Berry Species. *Foods*. 2020. Vol. 9, № 3. P. 358. URL: <https://doi.org/10.3390/foods9030358> (date of access: 28.04.2023).
- 19 Hajazimi E., Landberg R., Zamaratskaia G. Simultaneous determination of flavonols and phenolic acids by HPLC-CoulArray in berries common in the Nordic diet. *LWT*. 2016. Vol. 74. P. 128–134. URL: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.034> (date of access: 28.04.2023).
- 20 Mattila P., Astola J., Kumpulainen J. Determination of Flavonoids in Plant Material by HPLC with Diode-Array and Electro-Array Detections. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000. Vol. 48, № 12. P. 5834–5841. URL: <https://doi.org/10.1021/jf000661f> (date of access: 28.04.2023).
- 21 HPLC–MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species / M. Mikulic-Petkovsek et al. *Food Chemistry*. 2012. Vol. 135, № 4. P. 2138–2146. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.115> (date of access: 28.04.2023).
- 22 Catechins and Procyanidins in Berries of Vaccinium Species and Their Antioxidant Activity / K. R. Määttä-Riihinen et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. Vol. 53, № 22. P. 8485–8491. URL: <https://doi.org/10.1021/jf050408l> (date of access: 28.04.2023).

- 23 Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) and European Cranberry (*Vaccinium microcarpon*) Proanthocyanidins: Isolation, Identification, and Bioactivities / P. Kylli et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011. Vol. 59, № 7. P. 3373–3384. URL: <https://doi.org/10.1021/jf104621e> (date of access: 28.04.2023).
- 24 Antioxidant Activities of *Vaccinium vitis-idaea* L. Leaves within Cultivars and Their Phenolic Compounds / L. Raudone et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 5. P. 844. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules24050844> (date of access: 28.04.2023).
- 25 Phenolic Compounds from Five Ericaceae Species Leaves and Their Related Bioavailability and Health Benefits / B. E. Ștefănescu et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 11. P. 2046. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules24112046> (date of access: 28.04.2023).
- 26 Seeram N. P. Berry Fruits: Compositional Elements, Biochemical Activities, and the Impact of Their Intake on Human Health, Performance, and Disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. Vol. 56, № 3. P. 627–629. URL: <https://doi.org/10.1021/jf071988k> (date of access: 28.04.2023).
- 27 Protective Effect of Anthocyanins from Lingonberry on Radiation-induced Damages / Z.-L. Fan et al. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2012. Vol. 9, № 12. P. 4732–4743. URL: <https://doi.org/10.3390/ijerph9124732> (date of access: 28.04.2023).
- 28 Ferlemi A.-V., Lamari F. Berry Leaves: An Alternative Source of Bioactive Natural Products of Nutritional and Medicinal Value. *Antioxidants*. 2016. Vol. 5, № 2. P. 17. URL: <https://doi.org/10.3390/antiox5020017> (date of access: 28.04.2023).
- 29 Evaluation of Bioactive Compounds, Minerals and Antioxidant Activity of Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) Fruits / P. Drózdź et al. *Molecules*. 2017. Vol. 23, № 1. P. 53.

- URL: <https://doi.org/10.3390/molecules23010053> (date of access: 28.04.2023).
- 30 Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, and Biological Effects of European Cranberry (*Vaccinium oxycoccos*) / T. Jurikova et al. *Molecules*. 2018. Vol. 24, № 1. P. 24. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules24010024> (date of access: 28.04.2023).
- 31 Fractionation and Characterization of Triterpenoids from *Vaccinium vitis-idaea* L. Cuticular Waxes and Their Potential as Anticancer Agents / G. Vilkickyte et al. *Antioxidants*. 2023. Vol. 12, № 2. P. 465. URL: <https://doi.org/10.3390/antiox12020465> (date of access: 28.04.2023).
- 32 Intake of fruit, berries, and vegetables and risk of type 2 diabetes in Finnish men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study / J. Mursu et al. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2013. Vol. 99, № 2. P. 328–333. URL: <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.069641> (date of access: 28.04.2023).
- 33 Lingonberry anthocyanins protect cardiac cells from oxidative-stress-induced apoptosis / C. K. Isaak et al. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2017. Vol. 95, № 8. P. 904–910. URL: <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0667> (date of access: 28.04.2023).
- 34 In vitro assessment of the cytotoxicity and anti-inflammatory properties of a novel dietary supplement / I. Popescu et al. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2021. Vol. 22, № 4. URL: <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10604> (date of access: 28.04.2023).
- 35 Exploring *Vaccinium vitis-idaea* L. as a potential source of therapeutic agents: antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of extracts and fractions / G. Vilkickyte et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022. Vol. 292. P. 115207. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115207> (date of access: 28.04.2023).

- 36 LASLO É., KÖBÖLKUTI Z. A. Total Phenol Content and Antimicrobial Activity of Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) from Several Areas in the Eastern Carpathians. *Notulae Scientia Biologicae*. 2017. Vol. 9, № 1. P. 77–83. URL: <https://doi.org/10.15835/nsb9110035> (date of access: 28.04.2023).
- 37 ДСТУ 5039:2008. Брусниця свіжа. Технічні умови. На заміну ГОСТ 20450-75 ; чинний від 2010-01-01. Вид. офіц. Київ : Держспоживстандарт України, 2010. 20 с.
- 38 Ferreira, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs: Sisvar. *Brazilian Journal of Biometrics*. 2019. Vol. 37, № 4. P. 529-535.
- 39 Flatt C., Jacobs R. L. Principle Assumptions of Regression Analysis: Testing, Techniques, and Statistical Reporting of Imperfect Data Sets. *Advances in Developing Human Resources*. 2019. Vol. 21, № 4. P. 484–502. URL: <https://doi.org/10.1177/1523422319869915> (date of access: 28.04.2023).
- 40 Walfish, S. Analytical methods: a statistical perspective on the ICH Q2A and Q2B guidelines for validation of analytical methods. *BioPharm International*. 2006. Vol. 19, № 12. P. 1-6.
- 41 Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
- 42 Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

## Приложение А



CENTER FOR FINANCIAL-ECONOMIC RESEARCH  
ЦЕНТР ФІНАНСОВО-ЕКОНОМІЧНИХ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

### CERTIFICATE OF PARTICIPATION СЕРТИФІКАТ УЧАСНИКА

№ 27-04-23-08

підтверджує, що

**Бутуіл Бадреддін**

**взяв участь у роботі Міжнародної науково-практичної конференції**

«Проблеми та перспективи розвитку науки, освіти і суспільства в XXI столітті»

**International scientific-practical conference**

«Problems and prospects of development sciences, education and society in the XXI century»

**Загальна кількість академічних годин: 6 год  
(0,2 кредита ECTS)**

Директор Центру фінансово-економічних наукових досліджень



Щербак В. Д.

27 квітня 2023 р.

April 27, 2023

м. Рівне, Україна

Rivne, Ukraine



**Национальный фармацевтический университет**

Факультет по подготовке иностранных граждан  
Кафедра фармацевтической химии  
Уровень высшего образования магистр  
Специальность 226 Фармация, промышленная фармация  
Образовательная программа Фармация

**УТВЕРЖДАЮ**  
**Заведующая кафедрой**  
**фармацевтической химии**

**Виктория ГЕОРГИЯНЦ**  
“ 24 ” августа 2022 года

**ЗАДАНИЕ**  
**НА КВАЛИФИКАЦИОННУЮ РАБОТУ**  
**СОИСКАТЕЛЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**Бутуил БАДРЕДДИНА**

1. Тема квалификационной работы: «Разработка и валидация количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники», руководитель квалификационной работы: Елена КОЛЕСНИК, к.фарм.н., доцент.

Утверждена приказом НФаУ от “06” февраля 2023 года № 35

2. Срок подачи соискателем высшего образования квалификационной работы: апрель 2023г.

3. Исходные данные к квалификационной работе: установление соответствия сырья плодов брусники обыкновенной нормативным документам; проведение идентификации и количественного определения органических кислот в плодах брусники; установление сопоставимости результатов определения содержания органических кислот потенциометрическим и кондуктометрическим методом; разработка и валидация титриметрической методики определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

4. Содержание расчетно-пояснительной записки (перечень вопросов, которые необходимо разработать): провести литературный поиск относительно химического состава, фармакологической активности и применения в медицине брусники обыкновенной; провести контроль качества сырья согласно нормативной документации; установить качественный состав органических кислот, разработать и валидировать методику количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники обыкновенной.

5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей): рисунков – 8.

## 6. Консультанты разделов квалификационной работы

Раздел	Имя, ФАМИЛИЯ, должность консультанта	Подпись, дата	
		задание выдал	задание принял
1.	Елена КОЛЕСНИК, доцент заведения высшего образования кафедры фармацевтической химии	5 сентября 2022 г.	5 сентября 2022 г.
2.	Елена КОЛЕСНИК, доцент заведения высшего образования кафедры фармацевтической химии	11 ноября 2022 г.	11 ноября 2022 г.
3.	Елена КОЛЕСНИК, доцент заведения высшего образования кафедры фармацевтической химии	12 декабря 2022 г.	12 декабря 2022 г.
4.	Елена КОЛЕСНИК, доцент заведения высшего образования кафедры фармацевтической химии	19 декабря 2022 г.	19 декабря 2022 г.

7. Дата выдачи задания: « 24 » августа 2022 года

## КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН

№ з/п	Название этапов квалификационной работы	Срок выполнения этапов квалификационной работы	Примечание
1	Проведение литературного поиска относительно химического состава, фармакологической активности и применения в медицине брусники обыкновенной (Обзор литературы).	сентябрь - октябрь 2022 г.	<b>выполнено</b>
2	Проведение анализа на соответствие плодов брусники обыкновенной требованиям нормативной документации.	ноябрь 2021 р.	<b>выполнено</b>
3	Определение качественного состава и количественного содержания свободных органических кислот в плодах брусники.	декабрь - январь 2022 - 2023 г.	<b>выполнено</b>
4	Валидация кондуктометрической методики определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.	февраль - март 2023 г	<b>выполнено</b>
5	Оформление работы.	апрель 2023 г	<b>выполнено</b>

Соискатель высшего образования

\_\_\_\_\_ Бутуил БАДРЕДДИН

Руководитель квалификационной работы

\_\_\_\_\_ Елена КОЛЕСНИК

**ВИТЯГ З НАКАЗУ № 35**  
**По Національному фармацевтичному університету**  
**від 06 лютого 2023 року**

нижченаведеним студентам 5-го курсу 2022-2023 навчального року, навчання за освітнім ступенем «магістр», галузь знань 22 охорона здоров'я, спеціальності 226 – фармація, промислова фармація, освітня програма – фармація, денна форма здобуття освіти (термін навчання 4 роки 10 місяців та 3 роки 10 місяців), які навчаються за контрактом, затвердити теми кваліфікаційних робіт:

Прізвище студента	Тема кваліфікаційної роботи	Посада, прізвище та ініціали керівника	Рецензент кваліфікаційної роботи	
<b>• по кафедрі фармацевтичної хімії</b>				
Бутуіл Бадредін	Розробка і валідація кількісного визначення суми вільних органічних кислот у плодах брусниці	Development and validation of quantitative determination of the amount of free organic acids in lingonberries	Колеснік О.В., к.ф.н., доц.	Голік М.Ю., д.ф.н., проф.

Підстава: подання декана, згода ректора

Ректор

Вірно. Секретар



## ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу  
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі  
здобувача вищої освіти**

№ 113099 від « 8 » травня 2023 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Бутуіл Бадреддін, 5 курсу, \_\_\_\_\_ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Розробка і валідація кількісного визначення суми вільних органічних кислот у плодах брусниці / Development and validation of quantitative determination of the amount of free organic acids in lingonberries», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіїляції).

Голова комісії,  
професор



**Інна ВЛАДИМИРОВА**

3%

26%

**ОТЗЫВ**

**научного руководителя на квалификационную работу уровня высшего образования магистр специальности 226 Фармация, промышленная фармация**

**Бутуил БАДРЕДДИНА**

**на тему: «Разработка и валидация количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники»**

**Актуальность темы.** На сегодняшний день согласно общей статье ГФУ диетические добавки должны соответствовать технологическим параметрам лекарственной формы, микробиологической чистоте, остаточному количеству пестицидов, тяжелых металлов. Но при этом, отсутствуют нормативные документы по качественному и количественному составу диетических добавок.

В плодах брусники обыкновенной, входящих в состав ряда диетических добавок содержатся разнообразные биологические активные вещества: полисахариды, органические кислоты, терпены, витамины, антоцианы, флавонолы, проантоцианидины, катехины и др. Таким образом исследование контроля качества диетических добавок с брусникой является актуальным.

Работа Бутуил БАДРЕДДИНА является актуальной и посвящена разработке и валидации методик количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

**Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.**

В результате проведенных исследований показано, что для определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники обыкновенной оптимальной является кондуктометрическая методика.

**Оценка работы.** Работа выполнена на высоком научном уровне. Предложенные магистрантом методики исследований, их теоретическое обоснование соответствуют поставленным заданиям и современным требованиям. Объем проведенных исследований позволили Бутуил

БАДРЕДДИНУ выполнить все поставленные задачи. Квалификационная работа изложена грамотно, выводы обоснованы и соответствуют цели и задачам исследования.

**Общий вывод и рекомендации о допуске к защите.**  
Квалификационная работа Бутуил БАДРЕДДИНА выполнена в полном объеме. По актуальности, теоретическому и практическому значению, объему выполненных исследований отвечает требованиям «Положения о порядке подготовки и защиты квалификационных работ в Национальном фармацевтическом университете» и может быть представлена к рассмотрению в Экзаменационной комиссии Национального фармацевтического университета.

Научный руководитель \_\_\_\_\_доцент Елена КОЛЕСНИК

5 апреля 2023 г.

**РЕЦЕНЗИЯ**

**на квалификационную работу уровня высшего образования магистр специальности 226 Фармация, промышленная фармация**

**Бутуил БАДРЕДДИНА**

**на тему: «Разработка и валидация количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники»**

**Актуальность темы.** Квалификационная работа Бутуил БАДРЕДДИНА посвящена разработке и валидации методики количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники.

В данном растении содержатся разнообразные биологические активные вещества: полисахариды, органические кислоты, терпены, витамины, антоцианы, флавонолы, проантоцианидины, катехины и др. Плоды брусники обыкновенной обладают иммуномодулирующим, антиоксидантным, противораковым, кардиопротекторным, гипогликемическим, противовоспалительным, антибактериальным действием и входят в состав ряда диетических добавок.

На сегодняшний день согласно общей статье ГФУ диетические добавки должны соответствовать технологическим параметрам лекарственной формы, микробиологической чистоте, остаточному количеству пестицидов, тяжелых металлов. Но при этом, отсутствуют нормативные документы по качественному и количественному составу диетических добавок. Таким образом исследование контроля качества диетических добавок является актуальным.

По-этому разработка и валидация методик количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники является актуальной.

**Теоретический уровень работы.** Работа Бутуил БАДРЕДДИНА выполнена на достаточно высоком теоретическом уровне. Был проведен поиск

научной литературы по теме работы, проанализированы и обобщены полученные данные.

Это позволило предложить возможные методы количественного определения органических кислот в плодах брусники обыкновенной, разработать и валидировать кондуктометрическую методику определения.

Результаты исследований, проведенных автором, их анализ и сделанные выводы свидетельствуют о хорошей теоретической подготовке Бутуил БАДРЕДДИНА.

**Предложения автора по теме исследования.** Предложенная теоретически обоснованная и валидированная кондуктометрическая методика может быть использована для количественного определения органических кислот в плодах брусники обыкновенной.

**Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.** Выводы и рекомендации, приведенные в работе, обоснованы и имеют практическое значение. В результате проведенных исследований установлены оптимальные условия экстракции свободных органических кислот из плодов брусники, определено, что полученные данные и средние значения при кондуктометрическом, и потенциометрическом методе титрования органических кислот в плодах брусники не разнятся, проведена валидация разработанной кондуктометрической методики.

**Недостатки работы.** Принципиальных замечаний к работе нет. В работе встречаются отдельные ошибки технического характера, не влияющие на общую оценку работы.

**Общий вывод и оценка работы.** По объему проведенных исследований, актуальности, практическому значению, содержанию и оформлению квалификационная работа Бутуил БАДРЕДДИНА отвечает требованиям магистерского уровня и может быть рекомендована к защите в Экзаменационной комиссии НФаУ.

Рецензент \_\_\_\_\_

профессор Николай ГОЛИК

11 апреля 2023 г.



**ПРОТОКОЛ № 10**  
**засідання кафедри фармацевтичної хімії**  
**Національного фармацевтичного університету**  
**від 21 квітня 2023 р.**

**ПРИСУТНІ:**

Георгіянц В. А. зав.каф., проф., Власов С. В. проф., Сидоренко Л. В. проф.,  
Бевз Н. Ю. доц., Абу Шарк А.І. доц., Гарна Н. В. доц., Грудько В. О. доц.,  
Головченко О. С. доц., Горохова О. В. доц., Гриненко В.В. доц., Колісник О.В.  
доц., Северіна Г.І. доц., Михайленко О.О. доц., Григорів Г.В. асис.

**ПОРЯДОК ДЕННИЙ:** заслухати звіти про стан виконання кваліфікаційних робіт.

**СЛУХАЛИ:** доповідь здобувача вищої освіти Бутуїл БАДРЕДДІНА факультету з підготовки іноземних громадян на тему: «Розробка і валідація і валідація кількісного визначення суми вільних органічних кислот у плодах брусниці», керівник доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії, к.фарм.н. Олена КОЛІСНИК.

**УХВАЛИЛИ:** рекомендувати кваліфікаційну роботу Бутуїл БАДРЕДДІНА до офіційного захисту в ЕК.

**Голова**

Зав. кафедри, доктор фарм. наук, проф. \_\_\_\_\_ Вікторія ГЕОРГІЯНЦ  
(підпис)

**Секретар**

канд. фарм. наук, доц. \_\_\_\_\_ Олена КОЛІСНИК

## НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

### ПОДАННЯ ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Бутуїл БАДРЕДДІН до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему «Разработка и валидация количественного определения суммы свободных органических кислот в плодах брусники».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету \_\_\_\_\_ /Світлана КАЛАЙЧЕВА/

#### Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Бутуїл БАДРЕДДІН виконав роботу на сучасному рівні. За період виконання кваліфікаційної роботи проявив високий рівень теоретичної підготовки. Протягом виконання кваліфікаційної роботи продемонстрував вміння працювати з науковою літературою, знання методів визначення якісного складу та кількісного вмісту БАР в плодах брусниці. Кваліфікаційна робота викладена послідовно, грамотно, висновки сформульовані коректно і цілком логічно витікають зі змісту роботи. Кваліфікаційна робота Бутуїл БАДРЕДДІНА може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_

Олена КОЛІСНИК

«05» квітня 2023 р

#### Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Бутуїл БАДРЕДДІН допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри  
фармацевтичної хімії

\_\_\_\_\_

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

«21» квітня 2023 р.

Квалификационную работу защищено

В Экзаменационной комиссии

«\_\_» июня \_\_\_\_\_ 2023 г.

С оценкой \_\_\_\_\_

Председатель Экзаменационной комиссии,  
доктор фармацевтических наук, профессор

\_\_\_\_\_