

Для екстракції ліпофільних речовин (хлорофілів і каротиноїдів) використовували гексан. Сік кропиви поміщали у ділильну лійку, додавали гексан та збовтували. Одержаний гексановий екстракт фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка».

Кількісне визначення БАР в отриманому гексановому екстракті проводили спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Specord 200. При вивченні спектральних характеристик витягів, отриманих з використанням гексану, спостерігали поглинання в області (430-480нм) - характерне для каротиноїдів та (640-670 нм) - характерне для хлорофіла. Тому метою даної роботи є розробка та стандартизація соку кропиви за вмістом суми хлорофілів та каротиноїдів.

Визначення кількісного вмісту суми хлорофілів проводили за довжиною хвилі 663 ± 5 нм у перерахунку на питомий показник поглинання хлорофілу (944,5). Визначення кількісного вмісту суми каротиноїдів проводили за довжиною хвилі 442 ± 2 нм у перерахунку на питомий показник поглинання віолоксантину (2500). За одержаними спектрами кількісний середній вміст хлорофілів становив 3 мг% та каротиноїдів – 2 мг%.

Отже, методики ідентифікації та кількісного визначення хлорофілів і каротиноїдів із ліпофільної фракції соку кропиви запропоновано до проекту нормативної документації на фітосубстанцію.

ВИЗНАЧЕННЯ КОФЕЇНУ У КАВІ МЕТОДОМ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ

Бондаренко Н.Ю., Блажесвський М.Є.

Кафедра фізичної та колоїдної хімії

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

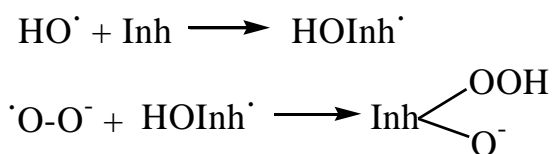
tropikana2003@ukr.net

Кофеїн (1,3,7-триметилксантин) (**К**) належить до групи пуринових алкалоїдів похідних ксантину. Препарати, які містять кофеїн, застосовують в медицині при різних захворюваннях та отруєннях, які супроводжуються пригніченням функцій центральної нервової та серцево-судинної систем, при спазмах судин головного мозку, для підвищення психічної та фізичної працездатності. Крім лікарських препаратів, кофеїн є складовою частиною продуктів харчування (наприклад: чорний, зелений чай, кава, какао, кола та інші), а також енергетичних напоїв для спортсменів.

Для кількісного визначення **К** у теперішній час здебільшого застосовують різноманітні фізико-хімічні методи аналізу, а саме спектроскопічні методи, капілярний електрофорез та, як домінуючий метод - високоефективну рідинну хроматографію.

Нами досліджена можливість здійснення кількісного визначення **K** у каві методом хемілюмінесценції за ефектом інгібування аналітичної системи H_2L (люмінол) – H_2O_2 – *Hb* (гемоглобін). Для дослідження використовували субстанцію **K**, яка відповідає фармакопейним вимогам та каву сорту «Арабіка» (у зернах).

При змішуванні лужних розчинів H_2O_2 та H_2L в присутності каталітичної кількості *Hb* спостерігається хемілюмінесценція, обумовлена виникненням аніону амінофталевої кислоти у електронно-збудженому стані. Ключовою частинкою у послідовності реакцій, які призводять до виникнення хемілюмінесценції через утворення трансанулярного пероксиду люмінолу при розкладанні якого й утворюється емітер світіння – 3-амінофталаат, є аніон-радикал $\cdot O-O^-$. В літературі наявні вказівки на інгібування хемілюмінесценції під час окиснення H_2L акцепторами $\cdot O-O^-$ радикалу. З іншого боку, під час каталітичного розкладання H_2O_2 , як правило, утворюються радикали $HO\cdot$. Вельми ймовірно, що явище інгібування обумовлене координацією радикалів $HO\cdot$ з подвійним зв'язком $C=N$ імідазольного кільця кофеїну, а відтак рекомбінацією новоутвореного радикалу $HOInh\cdot$ з надоксид-радикалом $\cdot O-O^-$ відповідно:



Вивчений вплив порядку змішування розчинів H_2L , натрій гідроксиду, H_2O_2 , **K** й *Hb* та їх концентрацій на інтенсивність виникаючої хемілюмінесценції. У результаті проведених досліджень було встановлено, що оптимальним є порядок змішування, коли останнім додається розчин *Hb*. Наявність **K** у системі $H_2L - H_2O_2 - Hb$ призводить до зменшення максимальної інтенсивності хемілюмінесценції, що свідчить про інгібування хемілюмінесцентної реакції. Цей ефект зростає при збільшенні концентрації інгібітора процесу. Достатньо чітка і репродуктивна концентраційна залежність ($\Delta I = 2,83c + 1,06$; де c – концентрація розчину кофеїну в моль \cdot л $^{-1}$; $\Delta I = I_0 - I_{кл}$, де I_0 – інтенсивність хемілюмінесценції за відсутності **K**, $I_{кл}$ – інтенсивність хемілюмінесценції в присутності **K**) ($r = 0,99$) максимальної інтенсивності хемілюмінесценції в присутності **K** дозволила розробити методику його хемілюмінесцентного визначення. За допомогою спеціальних дослідів було встановлено, що інші пуринові сполуки, зокрема такі як теобромін та теофілін у співмірних кількостях по відношенню до кофеїну не виявляли інгібіторної активності на хемілюмінесценцію в досліджуваній системі. Також не спостерігалось синергічного ефекту чи будь-якого іншого впливу на параметри хемілюмінесценції досліджуваної системи в

присутності сумішей кофеїну з теоброміном або теофіліном. Для аналізу складних об'єктів, наприклад, для визначення K у каві, доцільно користуватися методом додатків. Оптимальними концентраціями реактивів у даній хемілюмінесцентній системі є: $c(\text{NaOH}) = 0,05 \text{ M}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0,075 \text{ M}$, $c(\text{H}_2\text{L}) = 10^{-4} \text{ M}$, $C(\text{Hb}) = 3,75 \cdot 10^{-2} \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$.

Методика кількісного визначення кофеїну у зернах кави (методом додатків).

4,0000 г дрібномеленої кави суспендували у 100 мл двічі дистильованої води при 368-372 К. Перемішували протягом 10 хв, фільтрували через паперовий фільтр (“червона стрічка”), фільтрат розбавляли двічі дистильованою водою у 100 разів.

Приготування розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) кофеїну 10,4 мкг·мл⁻¹

У мірній колбі на 100 мл розчиняли 0,1137 г кофеїну моногідрату, що відповідає 0,1040 г кофеїну основи безводної, у 80 мл двічі дистильованої води при 368 – 372 К, охолоджували до 293 К та доводили об'єм розчину до позначки при 293 К. Одержаний розчин розбавляли двічі дистильованою водою точно у 100 разів.

У кварцову кювету хемілюмінометра послідовно приливали 1,0 мл $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ розчину H_2L , 5,0 мл 0,1 М розчину натрій гідроксиду, $(10 - x)$ мл двічі дистильованої води, де x – сумарний об'єм усіх розчинів-компонентів, крім води, 0,5 мл 5% розчину H_2O_2 , 1,0 мл розчину фільтрату. Одержану суміш перемішували і встановлювали кювету у світлозахисну камеру. Відкривали шторку і вливали за допомогою піпеткового дозатора 0,5 мл розчину Hb з концентрацією 1 мкг·мл⁻¹. Паралельно аналогічно проводили визначення кофеїну в суміші фільтрату з додатком 1,00 мл РСЗ кофеїну.

При визначенні кофеїну у зернах кави «Арабіка» $RSD \leq 2,5 \%$. Теофілін та теобромін, які можуть бути присутніми у складі зерен кави, як супутні речовини, не заважають аналізу.

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ
МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОННОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА**

Генералова Ю. Э., Алексеева Г. М.

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия

Санкт-Петербург, Россия

yulya@anchem.pro

Целью работы являлось разработка унифицированной методики определения аскорбиновой кислоты (АК) в биологически активных добавках методом капиллярного электрофореза.