

О. В. Тринева, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

ФГБОУ ВО "Воронежский государственный университет", Россия, Воронеж, e-mail: trineevaov@mail.ru

Разработана экономичная и экспрессная методика идентификации и количественного определения аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). Экспериментально подобраны и теоретически обоснованы оптимальные условия хроматографирования витамина С в тонком слое сорбента с количественной интерпретацией данных ВЭТСХ. Предлагаемый способ был апробирован на лекарственном растительном сырье листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной. Методика может быть использована в контроле качества субстанции, монокомпонентных и комплексных препаратов, растительных объектов, биологически активных добавок, премиксов, изделий пищевой и косметологической промышленности.

Ключевые слова: аскорбиновая кислота; количественное определение; высокоэффективная тонкослойная хроматография.

В настоящее время известны многочисленные способы идентификации и количественного определения аскорбиновой кислоты (АК) в субстанции, одно- и многокомпонентных лекарственных формах, лекарственном растительном сырье (ЛРС), премиксах, биологически активных добавках (БАД) [1 – 33].

Широко распространены различные титриметрические методики количественного определения АК, основанные на кислотно-основных и окислительно-восстановительных свойствах витамина С, такие как алкалиметрия, йодометрия, йодатометрия, перманганатометрия, цериметрия и другие [1 – 7]. Недостатком указанных методик является невозможность их применения для определения АК в растительных объектах и многокомпонентных лекарственных формах без предварительного выделения АК. Для количественного определения АК в ЛРС используют титриметрический метод с применением в качестве титранта 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (2,6-ДХФИФН) [2, 4 – 7]. Однако этот метод имеет ряд ограничений, таких как невозможность получения достоверных результатов при исследовании окрашенных извлечений, а также завышение результатов вследствие того, что ЛРС содержит сумму веществ с восстанавливающими свойствами.

Метод кулонометрического и потенциометрического титрования описан авторами для определения суммы органических кислот, в том числе АК, в плодах шиповника, калины и рябины обыкновенной [8 – 10]. Недостатком данных способов является невозможность избирательного определения АК, так как в общий результат титрования вносят свой вклад и другие кислоты, присутствующие в значительном количестве в водных извлечениях из ЛРС.

Нашли широкое применение также спектральные методы анализа. Так известен способ фотоэлектроколориметрического количественного определения АК в ЛРС, основанном на измерении оптической плотности

окрашенного продукта реакции АК с фосфорновольфрамовой кислотой [11]. Недостатком данного метода являются громоздкость и длительность аналитических операций, нестабильность оптической плотности окрашенного продукта во времени, недостаточная чувствительность и селективность, невозможность определения АК в присутствии других биологически активных веществ (БАВ), взаимодействующих с реагентом и, как следствие, получение завышенных результатов. Спектрофотометрия в УФ-области широко используется в контроле качества субстанции и монокомпонентных препаратов АК. Недостатком способа является невозможность определения АК в растительных объектах и многокомпонентных лекарственных формах без её предварительного выделения. Метод флуориметрического определения основан на окислении АК в дегидроаскорбиновую, взаимодействии последней с *o*-фенилендиамином с образованием флуоресцирующего соединения и измерении интенсивности флуоресценции при длинах волн 350 нм возбуждающего и 430 нм излучаемого света [12]. По данным авторов [13], спектроскопия ЯМР ¹³C является надежным методом идентификации витамина С. Однако он не встречается в нормативных документах (НД) на лекарственные препараты АК, очевидно, из-за очень сложного и дорогостоящего оборудования, а также комплексного характера БАВ в составе поливитаминных комплексов и ЛРС.

Для идентификации и количественного определения АК в последнее время широко применяется метод ВЭЖХ [14 – 17], позволяющий проводить одновременное разделение, идентификацию и количественное определение компонентов в сложных смесях. Метод, однако, не всегда является предпочтительным при анализе ЛРС, содержащего комплекс БАВ, требующих частой смены дорогостоящих хроматографических колонок и растворителей особой чистоты, что значительно увеличивает стоимость одного анализа (табл. 1).

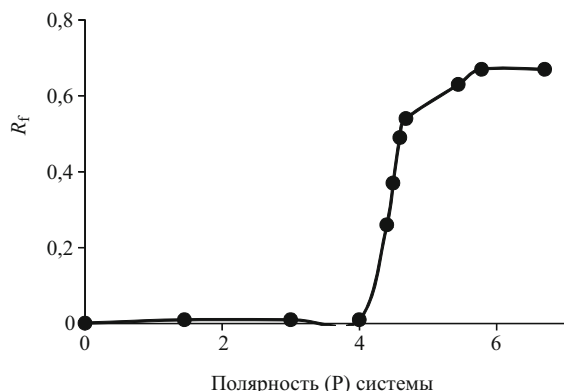


Рис. 1. Вид зависимости величины R_f АК от полярности элюента.

ТСХ, обладая всеми преимуществами хроматографических процессов, как альтернатива, в настоящее время в отечественных публикациях довольно узко используется в анализе ЛРС, в основном для установления качественного состава БАВ различных групп (в т.ч. АК и других органических кислот) [18 – 21]. Анализ зарубежных источников показал, что абсолютное большинство методик ВЭТСХ применяется только для разделения и идентификации АК или для количественного определения спектрофотометрическими способами после элюирования зон с хроматограмм [22 – 33]. Такие методики довольно трудно воспроизводимы, дают результаты с большой ошибкой определения, а также длительны и трудоемки, что не позволяет использовать их для проведения серийных анализов. Встречаются работы [28, 29, 31] по денситометрическому определению АК в зонах на хроматограммах при 254 нм или в форме гидразонов после окисления до дегидроаскорбиновой кислоты и обработки 2,4-динитрофенилгидразином, основным недостатком которых является последующее сканирование на дорогостоящих приборах CAMAG TLC Scanner III (Швейцария) или Shimadzu CS 9301PC (Япония). Поэтому раз-

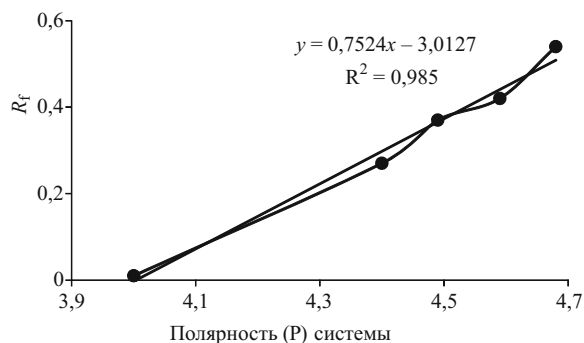


Рис. 2. Линейная зависимость величины R_f АК от значения полярности элюента.

работка подобных методик определения БАВ с применением доступных отечественных разработок и оборудования является актуальной задачей.

Целью настоящей работы являлась разработка методики идентификации и количественного определения АК методом ВЭТСХ.

Экспериментальная часть

В работе использовали 0,2 % спиртовые растворы АК (ЗАО Вектон, СПб, Россия, степень чистоты не менее 99 %), которые наносили на стартовую линию хроматографических пластин марок “Sorbfil” ПТСХ-АФ-А и ПТСХ-П-В высокоэффективные, размером 10 × 10 см (тип сорбента — силикагель СТХ-1А, СТХ-1ВЭ; зрнение 5 – 17 мкм, 8 – 12 мкм; толщина слоя 90 – 120 мкм, 80 – 100 мкм соответственно; связующее — силиказоль). В работе использовали растворители марки х.ч. (ЗАО “Вектон”, СПб, Россия). В качестве проявителя выбраны 2 реагента: 5 % спиртовый раствор фосфорномолибденовой кислоты (ФМК) и 0,2 % спиртовый раствор 2,6-ДХФИФН.

Хроматограмму равномерно обрабатывают реагентом из пульверизатора и сушат в сушильном шкафу

Таблица 1

Сравнительная характеристика методик определения АК

№ п/п	Характеристика методики	ВЭЖХ	ВЭТСХ
1	Идентификация веществ	+	+
2	Определение примесей	+	+
3	Количественное определение	+	+
4	Разделение органических кислот при совместном присутствии	+	+
5	Чувствительность	$\approx 10^{-6}$ г	$\approx 2 \cdot 10^{-6}$ до $4 \cdot 10^{-7}$ г
6	Область применения	Контроль качества индивидуальных субстанций, монокомпонентных лекарственных препаратов, содержащих АК, комплексных поливитаминных препаратов, ЛРС и БАД	
7	Средняя стоимость оборудования	Высокая (до 2 млн руб.)	Низкая (до 15 тыс. руб.)
8	Дополнительное оборудование	Возможна смена колонки в зависимости от анализируемого объекта	Не требуется (может быть использовано и для анализа других веществ методом ТСХ)
9	Продолжительность 5 анализов	20 – 30 мин	30 – 40 мин
10	Производительность	≈ 20 анализов/ч	≈ 10 анализов/ч
11	Смена разделяющей среды и растворителя	Более трудоемка и длительна, требует большого расхода растворителя	Легкость смены разделяющей среды и растворителя; небольшой расход растворителя (20 – 50 мл), продолжительность — 5 мин

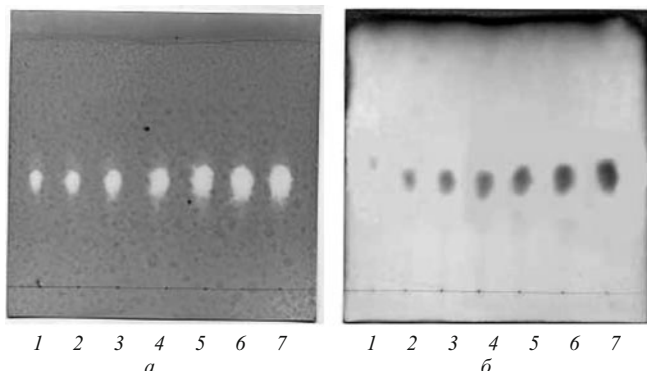


Рис. 3. Калибровочная хроматограмма с серией стандартных растворов: *а.* (0,15 – 0,45 %) АК (проявитель — 0,2 % спиртовой раствор 2,6-ДХФИФН): 1 – 3 мкг; 2 – 4 мкг; 3 – 5 мкг; 4 – 6 мкг; 5 – 7 мкг; 6 – 8 мкг; 7 – 9 мкг; *б.* (0,05 – 0,40 %) АК (проявитель — 5 % спиртовой раствор ФМК): 1 – 1 мкг; 2 – 2 мкг; 3 – 3 мкг; 4 – 4 мкг; 5 – 5 мкг; 6 – 6 мкг; 7 – 8 мкг.

при температуре 80 °С в течение 3 – 5 мин до проявления хроматографических зон. Пределы обнаружения пятен АК с помощью выбранных реагентов приведены в табл. 2.

Статистическую обработку результатов проводили по ОФС.1.1.0013.15 ГФ XIII изд. “Статистическая обработка результатов химического эксперимента” [34]. Градуировочные графики строили по методу наименьших квадратов.

Результаты и их обсуждение

Выбор подвижной фазы в ТСХ должен основываться на данных по изучению влияния полярности элюентов на хроматографическую подвижность определяемого вещества в тонком слое (рис. 1). В эксперименте изучено 16 типов элюирующих систем с различными значениями полярности (табл. 3) по Л. Снайдеру [35]. На хроматограммах для каждой элюирующей системы были рассчитаны параметры эффективности хроматографического процесса, такие как высота, эквивалентная теоретической тарелке (H); число теоретических тарелок (N) [36].

Данные табл. 3 показывают, что наибольшая эффективность хроматографического процесса, согласно значениям величин N и H , наблюдалась в системах 7,

Таблица 2
Характеристика детектирующих реагентов для определения АК методом ТСХ

№ п/п	Детектирующий реагент	Окрашивание хроматографических зон	Предел определения, г	Специфичность
1	5 % спиртовой раствор ФМК	Синее на желто-зеленом фоне	$4 \cdot 10^{-7}$	–
2	УФ-свет (254 нм)	Ярко-малиновое свечение на белом фоне	$4 \cdot 10^{-7}$	–
3	2,6-ДХФИФН, 0,2 % спиртовой раствор	Белое на розовом фоне	$2 \cdot 10^{-6}$	+
4	Бромкрезоловый зеленый 0,2 % спиртовой раствор	Не проявляет	–	–
5	Бромфеноловый синий 0,2 % спиртовой раствор	Не проявляет	–	–
6	0,01 М раствор нитрата серебра	Темно-серое на белом фоне	$1 \cdot 10^{-6}$	–

9, 12 – 15, а наименьшая — в системе 8. Системы 1 – 3 являются неэффективными. Параметры N и H взаимосвязаны между собой нелинейной обратнопропорциональной зависимостью. Оптимальные величины R_f достигнуты в системах 6, 11 – 15. Хроматографирование можно проводить в системах 12 – 15. Системы 12 – 14 предлагаются впервые. Для количественной обработки хроматограмм методом компьютерного сканирования целесообразно применять систему 12, так как лучшие значения R_f , N , H , а также качество хроматографических зон было достигнуто в данной системе (табл. 3).

Рассчитав величину полярности подвижных фаз (P'), получали зависимость значения относительной подвижности АК от полярности элюента в диапазоне от 0 до 7,0 единиц (рис. 1). Как видно из данных табл. 3 и рис. 1, для достижения оптимальных величин R_f необходимо использовать элюенты со значениями полярности в интервале 4,2 – 5,0 ед. [36].

При более детальном изучении влияния полярности системы на величину R_f был выбран интервал значений P' элюента, в котором данная зависимость приоб-

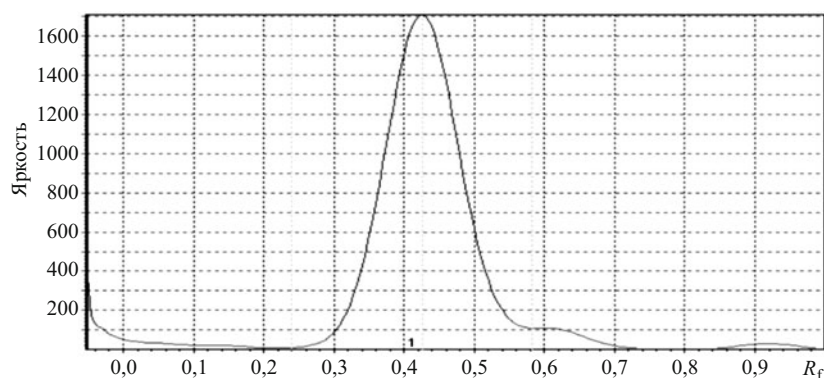


Рис. 4. Аналоговая кривая стандартного раствора АК ($c = 0,3 \%$).

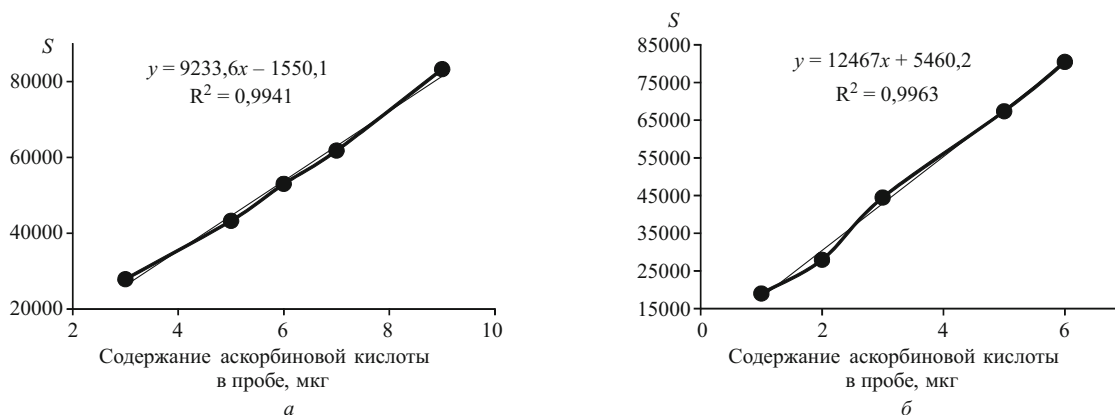


Рис. 5. Градуировочный график для определения содержания АК в области концентраций: а. (0,15 – 0,45 %), проявитель — 0,2 % спиртовой раствор 2,6-ДХФИФН; б. (0,05 – 0,30 %), проявитель — 5 % спиртовой раствор ФМК.

ретаёт линейный характер (от 4,0 до 4,7 ед. полярности). Уравнение и коэффициент корреляции приведены на рис. 2. С помощью предложенной зависимости можно подбирать различные системы для определения АК в тонком слое сорбента, чтобы величина R_f укладывалась в оптимальные значения [36]. Таким образом, интервал полярностей элюента может варьировать в достаточно узком диапазоне от 4,40 до 4,80 ед.

Таким образом, по совокупности полученных результатов были выбраны и теоретически обоснованы оптимальные условия хроматографирования АК в тонком слое сорбента: сорбент — силикагелевые пластинки марок “Sorbfil” ПТСХ-А-А или ПТСХ-П-В; элюент — этилацетат-ледяная уксусная кислота (85:15); возможные проявители — 5 % спиртовой раствор ФМК или 0,2 % спиртовой раствор 2,6-ДХФИФН; оптимальный объем пробы — 2 мкл спиртового раствора с содержанием АК 2 мг/мл; время насыщения камеры парами элюента — 20 мин; время элюирования —

35 мин; время выдерживания пластинки в термостате после проявления при $t \geq 80^\circ\text{C}$ — 3 – 5 мин.

Сразу же после проявления хроматографических зон, пластины сканируют с помощью планшетного сканера EPSON PERFECTION 2480 PHOTO (разрешение не менее 300 dpi), а полученные изображения (рис. 3, а и б) обрабатывают с помощью выложенной в открытом доступе компьютерной программы “Sorbfil Videodensitometer” (Россия). В результате получают треки в координатах R_f — интенсивность (рис. 4).

Установлены линейные зависимости между содержанием АК и площадью хроматографической зоны (рис. 5, а и б) в диапазоне изучаемых концентраций. Ошибка в определении концентрации АК будет уменьшаться с увеличением “а” в уравнении $y = ax + b$, следовательно, применение градуировочного графика для определения содержания АК, где $a = 12467$ (рис. 5, б) приводит к более точным результатам по сравнению с результатами, полученными по графику, представлен-

Таблица 3

Хроматографические параметры АК в различных элюирующих системах

№ п/п	Элюент	R_f	H, мм	N	P'
1	Хлороформ	$0,01 \pm 0,001$	0	—	4,40
2	Бензол	$0,01 \pm 0,001$	0	—	3,00
3	Этиловый эфир — гексан (1:1)	$0,01 \pm 0,001$	0	—	1,45
4	1-Бутанол — муравьиная кислота — вода (25:2,5:29,7)	$0,66 \pm 0,010$	0,463	177,11	6,70
5	1-Бутанол — муравьиная кислота — вода (5:0,5:2)	$0,63 \pm 0,010$	0,481	172,56	5,47
6	1-Бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5)	$0,57 \pm 0,020$	0,532	154,14	6,68
7	Этанол — концентрированный раствор аммиака (16:4:5)	$0,69 \pm 0,010$	0,180	400,00	—
8	1-Пропанол — раствор аммиака (6:4)	$0,92 \pm 0,020$	1,191	62,13	—
9	Этилацетат — муравьиная кислота — вода (3:1:1)	$0,63 \pm 0,010$	0,180	438,89	5,78
10	Этилацетат — уксусная кислота — муравьиная кислота — вода (100:11:11:25)	$0,67 \pm 0,010$	0,291	281,79	5,44
11	Этилацетат — уксусная кислота (80:20)	$0,54 \pm 0,010$	0,356	247,19	4,68
12	Этилацетат — уксусная кислота (85:15)	$0,42 \pm 0,010$	0,103	767,00	4,59
13	Этилацетат — уксусная кислота (90:10)	$0,37 \pm 0,010$	0,125	664,00	4,49
14	Этилацетат — уксусная кислота (95:5)	$0,26 \pm 0,010$	0,167	520,96	4,40
15	Ацетон — метанол — уксусная кислота (3:1:1)	$0,53 \pm 0,010$	0,203	443,35	5,80
16	Ацетон — толуол — муравьиная кислота (6:3:1)	$0,99 \pm 0,010$	0,522	172,41	4,63

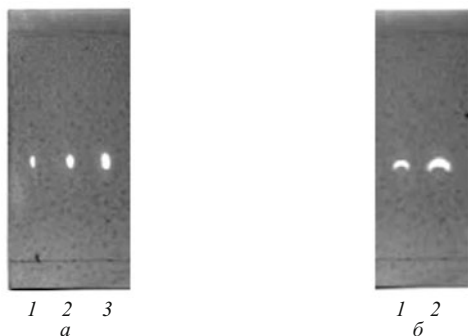


Рис. 6. Вид хроматограммы извлечения (а) из листьев крапивы двудомной: 1 – 3 мкл; 2 – 5 мкл и 3 – 10 мкл извлечения; (б) из свежих плодов облепихи крушиновидной: 1 – 10 мкл; 2 – 20 мкл извлечения. Проявитель — 0,2 % спиртовый раствор 2,6-ДХФИФН.

ному на рис. 5, а, где $a = 9233,6$. Наличие в регрессионном уравнении коэффициентов b , отличных от нуля и равных 1550,1 и 5460,2, говорит о постоянной систематической ошибке, обусловленной влиянием яркости фона пластины на оценку яркости окрашенной хроматографической зоны при обработке хроматограммы компьютерной программой “Sorbfil Videodensitometer”.

Использование 2 калибровочных кривых позволяет значительно расширить область применения разработанной методики. Калибровочная хроматограмма с серией стандартных растворов АК и построенный на ее основе график зависимости площади зоны (S) от концентрации вещества в пробе (рис. 5, б) при использовании в качестве проявителя 5 % раствора ФМК может использоваться в контроле качества субстанции и монокомпонентных лекарственных форм витамина С. Данный реагент не является специфическим для АК и на хроматограммах проявляет и другие зоны сопутствующих веществ, что снижает качество картины разделения и затрудняет обработку полученных изображений. Однако, ввиду большей чувствительности ФМК (табл. 2), возможно определять количественное содержание АК в образцах с низким его содержанием или работать с более разбавленными растворами, исключая процедуру концентрирования растворов. Ка-

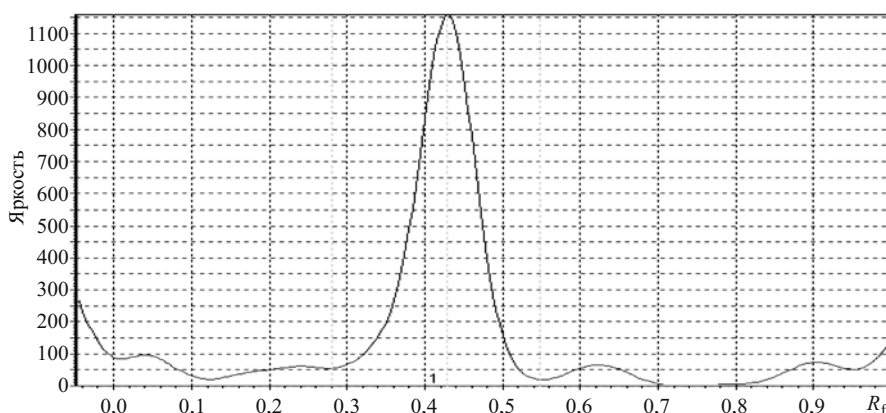


Рис. 7. Аналоговая кривая извлечения из листьев крапивы двудомной.

Таблица 4
Результаты количественного определения АК в извлечениях из ЛРС по различным методикам

№ п/п	ЛРС	Содержание АК, %	
		Методика ВЭТСХ	Методика ГФ XI
1	Листья крапивы двудомной	$0,0528 \pm 0,0145$	$0,0420 \pm 0,0032$
2	Плоды облепихи крушиновидной	$0,0468 \pm 0,0012$	$0,0641 \pm 0,0039$

либровочная хроматограмма с серией стандартных растворов АК и построенный на ее основе график зависимости площади зоны от концентрации вещества в пробе (рис. 5, а) при использовании в качестве проявителя 0,2 % спиртового раствора 2,6-ДХФИФН может использоваться в контроле качества ЛРС, многокомпонентных лекарственных препаратов, БАД, изделий пищевой, химической и косметологической промышленности. Данный реагент является специфичным для АК и на хроматограммах не проявляет другие зоны сопутствующих веществ. Это позволяет работать с водными извлечениями из ЛРС, которые содержат целый комплекс БАВ, и селективно определять содержание АК в образце.

Предлагаемый способ был апробирован на ЛРС (листья крапивы двудомной и плоды облепихи крушиновидной), которые, по данным литературы, богаты витамином С. Однако в НД на данное сырье определение АК не предусмотрено [34].

Извлечение из исследуемого ЛРС готовили по общей фармакопейной статье ГФ XIII изд. “Настои и отвары” [34]. Полученные вытяжки хроматографировали восходящим способом в условиях разработанной методики. Вид хроматограмм представлен на рис. 6. Сразу же после проявления хроматограмм пластины сканируют, а полученные изображения обрабатывают с помощью компьютерной программы “Sorbfil Videodensitometer”. Результаты количественного определения АК в извлечениях из ЛРС по описанной методике сравнили с результатами титриметрического определения по методике, изложенной в фармакопейной

Метрологическая характеристика результатов определения АК по различным методикам ($p = 95\%$; $n = 4$)

Методика	x_{cp}	S^2	S	Sx_{cp}	$t(P, t)$	Δx	Δx_{cp}	$\varepsilon_{cp}, \%$	$\varepsilon, \%$
ВЭТСХ	0,0468	0,0000006	0,00077	0,00039	3,18	0,0025	0,00123	2,62	5,24
ГФ XI	0,0641	0,0000062	0,00249	0,00125	3,18	0,0079	0,0039	6,18	12,35

статье ГФ XI “Плоды шиповника” [2] (табл. 4). В ГФ XIII изд. отсутствуют рекомендации по определению АК в ЛРС. Полученные данные свидетельствуют о сопоставимости результатов, а, значит, разработанная методика является объективной и может быть рекомендована для включения в НД. Метрологическая оценка полученных результатов (на примере плодов облепихи крушиновидной) представлена в табл. 5.

Проведена валидация разработанной методики по показателям: предел обнаружения, специфичность, эффективность, линейность и повторяемость (внутри- и межлабораторная).

Чувствительность методики устанавливали по величине обнаруживаемого минимума вещества в пятне, который визуальнo проявляется после детектирования. Предел обнаружения с помощью выбранного реагента составил $2 \cdot 10^{-6}$ г, что сопоставимо по чувствительности с определением витамина методом ВЭЖХ (табл. 1).

Специфичность определяли по величине R_f пятна контрольного трека, которое должно соответствовать R_f пятна стандартного образца ($R_f = 0,42 \pm 0,01$). На треке контрольного образца (рис. 7) визуальнo обнаруживалось пятно, которое по интенсивности окраски и величине R_f соответствовало пятну АК на треке стандартного образца (рис. 4).

Эффективность определяли по числу теоретических тарелок пятен стандартных образцов и коэффициентам асимметрии пиков на хроматограммах. Данный показатель составил 767 (табл. 3), что соответствует допустимому критерию приемлемости (не менее 500). Коэффициенты асимметрии полученных пиков (рис. 4 и 7), рассчитанные при помощи компьютерной программы “Sorbfil Videodensitometer”, представлены в табл. 6. Искажение формы пика не сильно влияет на качество разделения в ТСХ при коэффициенте асимметрии, не превышающем 2 – 2,5 [37].

При оценке линейности методики критерием приемлемости служит коэффициент корреляции (не менее 0,995). Полученная величина коэффициента корреляции 0,9941 (рис. 5) позволяет утверждать о наличии

достаточно жесткой линейной зависимости площади хроматографической зоны от концентрации [37].

Для определения внутрилабораторной повторяемости методики хроматографирование выполнено в 6 повторностях для стандартных образцов АК. Межлабораторную воспроизводимость определяли, используя хроматографические пластинки различных типов (табл. 7). Результаты, полученные при статистической обработке, достоверны при доверительной вероятности 95 %, вычисленные значения RSD не превышают критериев приемлемости — 5 %, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости (табл. 7).

Следует отметить, что в отечественной литературе представлена подобная методика [38], имеющая ряд недостатков. Использование 0,01 М водного раствора нитрата серебра в качестве детектирующего реагента, который, во-первых, неспецифичен для АК, во-вторых, обработанные им хроматограммы быстро темнеют, а слой силикагеля отделяется от подложки, что сказывается на результатах определения при несоблюдении строгих временных рамок от проявления зон до сканирования. Кроме этого, получаемые величины R_f АК ($0,75 \pm 0,01$) выходят за рамки оптимальных рекомендуемых значений [38].

Таким образом, разработана методика идентификации и количественного определения АК методом ВЭТСХ. Показана возможность теоретического подхода к выбору оптимальных условий хроматографического определения витамина С в тонком слое. Предлагаемый способ определения позволяет не только проводить идентификацию, устанавливать степень чистоты и количественное содержание АК, но и достигать на хроматограммах оптимальных значений величин R_f для данного БАВ. Методика может быть использована в контроле качества субстанции, монокомпонентных и

Таблица 7

Результаты определения повторяемости методики

Образец	Значение R_f стандартных образцов АК	
	ПТСХ-А-А	ПТСХ-П-В
1	0,41	0,41
2	0,42	0,42
3	0,43	0,42
4	0,43	0,42
5	0,43	0,44
6	0,43	0,46
x_{cp}	0,425	0,428
RSD, %	1,896	1,84
SD, %	0,806	4,3

Таблица 6
Коэффициенты асимметрии пиков на хроматограммах

№ п/п	Хроматограмма	As
1	Калибровочная хроматограмма серни стандартных растворов АК	0,80 – 0,96
2	Хроматограмма извлечения из листьев крапивы двудомной	0,83 – 0,94
3	Хроматограмма извлечения из плодов облепихи крушиновидной	1,15 – 1,16

комплексных препаратов, ЛРС, БАД, премиксов, изделий пищевой и косметологической промышленности. Новизна проведенных исследований подтверждена получением патента [39].

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР, X изд., Медицина, Москва (1968), сс. 483 – 485.
2. Государственная фармакопея, XI изд., Вып. 1, Медицина, Москва (1987), сс. 217 – 221.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации, XII изд., Часть 1, Научный центр экспертизы средств медицинского назначения, Москва (2008).
4. Химический анализ лекарственных растений, Н. И. Гринкевич, Л. Н. Сафронич (ред.), Высшая школа, Москва (1983).
5. Я. М. Перельман, Анализ лекарственных форм, Гос. изд-во мед. лит-ры, Ленинград (1961), сс. 389 – 391.
6. Экспериментальная витаминология, Ю. М. Островский (ред.), Наука и техника, Минск (1979), сс. 80 – 129.
7. А. И. Лутцева, Л. Г. Маслов, Хим.-фарм. журн., **33**(9), 30 – 35 (1999); Pharm. Chem. J., **33**(9), 490 – 498 (1999).
8. С. Г. Абдуллина, Н. М. Агапова, Р. Ш. Хазиев, С. А. Сидуллина, Фармация, № 2, 17 – 19 (2011).
9. Е. В. Сергунова, А. И. Марахова, А. С. Аврач, Фармация, № 4, 8 – 11 (2013).
10. А. И. Марахова, О. А. Супакова, Н. Н. Федоровский и др., Фармация, № 1, 24 – 27 (2013).
11. А. А. Землянухин, Л. А. Землянухин, Большой практикум по физиологии и биохимии растений: Учеб. пособие, ВГУ, Воронеж (1996).
12. И. М. Коренман, Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений, Химия, Москва (1970).
13. В. С. Карташов, Вопросы биол., мед. и фарм. химии, № 3, 44 – 46 (1998).
14. ГОСТ 24556–89. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С.
15. Д. А. Борисова, Д. М. Попов, Фармация, № 3, 22 – 24 (2013).
16. Т. С. Попова, О. Г. Потанина, Фармация, № 2, 11 – 13 (2013).
17. ГОСТ 31643–2012. Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.
18. Ю. Кирхнер, Тонкослойная хроматография, Мир, Москва (1981), сс. 402 – 407.
19. М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец, Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии, Т. 2, Мир, Москва (1980), с. 610.
20. Ю. В. Танская, О. И. Попова, Труды научно-практической конф. “Фармация из века в век”, Ч. III, Санкт-Петербург (2008), сс. 151 – 155.
21. В. В. Вершинина, В. А. Куркин, Мед. альманах, № 2, 144 – 146 (2011).
22. G. S. Chakraborty, J. Young Pharmacists, **1**(1), 82 – 85 (2009); doi:10.4103 / 0975 – 1483.51878.
23. B. Franciszek, B. Szpikowska-Sroka, M. Gałkowska, J. Planar Chromatography, **18**; DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/JPC.18.2005.5.6>
24. M. Abdel-Kader, J. Planar Chromatography, **26**(4), 336 (2013); DOI: 10.1556/JPC.26.2013.4.8.
25. E. L. Ponder, B. Fried, J. Sherma, Acta Chromatographica, **14**, 70 – 81 (2004).
26. R. Ragupathi Raja Kannan, R. Arumugam, S. Meenakshi, P. Anantharaman, Int. J. Chem. Tech. Res., **2**(3), 1526 – 1530 (2010).
27. Vallapudas Hima, S. Rubesh Kumar, N. Duganath, N. Devanna, Pharma Chem., **5**(3), 8 – 17 (2013).
28. K. M. Younes, M. A. Basha, Y. Maissa, et al., Pharma Chem., **6**(2), 111 – 121 (2014).
29. M. S. Kondawar, K. G. Kamble, D. S. Mali, Int. J. Pharm. Tech. Res., **3**(3), 1593 – 1599 (2011).
30. Soni Himesh1, Singhai A. K. 1, Sharma Sarvesh1, et al., Int. J. Cur. Pharm. Res., **4**(1), 43 – 47 (2012).
31. Z. Zloch, E. Ginter, Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., **3**, 302 – 305 (1970).
32. Suresh Gyan, Lakshmi Narain, Raisen Road, Int. J. Pharm. Pharmaceut. Sci., **4**(3), 144 – 147 (2012).
33. A. Mohammad, S. Sharma, S. A. Bhawani, Indian J. Chem. Techn., **16**, 344 – 350 (2009).
34. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд.: в 3 т., Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва (2015); режим доступа: <http://www.femb.ru/feml>.
35. О. Б. Рудаков, И. А. Востров, С. В. Федоров и др., Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии, “Водолей”, Воронеж (2004).
36. Ф. Гейсс, Основы тонкослойной хроматографии, Мир, Москва (1999).
37. М. В. Гаврилин, С. П. Сенченко, Валидация аналитических методик, ПГФА, Пятигорск (2008).
38. Е. А. Василенко, Т. Д. Мезенова, О. И. Попова, А. Б. Дмитриев, Фармация, № 1, 16 – 19 (2013).
39. Патент РФ 2581456, МКП G01N30 / 94, Способ идентификации и количественного определения аскорбиновой кислоты, О. В. Тринеева, И. И. Сафонова, А. И. Сливкин и др.; заявитель и патентообладатель: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования “Воронежский государственный университет”, № 2014141086 / 28; заявл. 10.10.2014; опубли. 20.04.2016, Бюл. изобрет., № 11 (2014).

Поступила 04.05.16

DEVELOPMENT OF METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ASCORBIC ACID BY HIGH-EFFICIENCY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

O. V. Trineeva*, E. F. Safonova, and A. I. Slivkin

Voronezh State University, Voronezh, 394006 Russia

* e-mail: trineevaov@mail.ru

An economic and rapid technique for the identification and quantitative determination of ascorbic acid is developed based on the method of high-efficiency thin-layer chromatography (HETLC). Optimum conditions for the determination of vitamin C with quantitative interpretation of HPTLC data by personal computer were established experimentally and proved theoretically. The proposed method was verified on medicinal plant raw materials (nettle leaves and sea-buckthorn fruits). The proposed TETLC technique can be used for the quality control of parent substance, monocomponent and complex preparations, plant materials, biologically active supplements, premixes, and products of food and cosmetics industries.

Keywords: ascorbic acid; quantitative determination; high-efficiency thin-layer chromatography.