

топография и васкуляризация полового аппарата самок норок : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 16.00.02 / И. Ф. Тихонов ; Московская ветеринарная академия. – Москва, 1965. – 24 с. 10. Федорова, О. И. Преобразование морфологических признаков норок американских (*Neovison vison Schreber, 1777*), хорьков (*Mustela putorius L., 1758*) и сурков степных (*Marmota bobak Mull., 1776*) в процессе domestikации и селекции / О. И. Федорова, Е. М. Колдаева // Кролиководство и звероводство. – 2018. – № 3. – С. 19–26.

Поступила в редакцию 06.03.2020 г.

УДК 543.45

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА РЕФРАКТОМЕТРИИ ПРИ АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ КАЛИЯ ХЛОРИДА

Холод В.М., Пипкина Т.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Проведена сравнительная оценка метода аргентометрии (метод Мора) и метода рефрактометрии для целей количественного определения растворов калия хлорида, используемых в качестве лекарственных средств. Метод рефрактометрии является более точным, воспроизводимым и экспрессивным и может быть использован в качестве фармакопейного для указанных целей. **Ключевые слова:** рефрактометрия, лекарственные препараты, калия хлорид.

USE OF REFRACTOMETRY METHOD IN ANALYSIS OF POTASSIUM CHLORIDE PREPARATIONS

Cholod V.M., Pipkina T.V.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus.

A comparative assessment of the argentometry method (Mohr's method) and the refractometry method was carried out in order to quantify the potassium chloride used as a preparation. The refractometry method is more accurate, producible, expressive and can be used as a pharmacopeia for these purposes. **Keywords:** refractometry, preparations, potassium chloride.

Введение. Все лекарственные средства, используемые в практике, независимо от того, идет речь о медицине или ветеринарии, в качестве обязательного условия их применения должны иметь официально утвержденные (фармакопейные) методы определения их качественного и количественного состава. Эти методы изложены в ГФ РБ или фармакопейных статьях, посвященных описанию определенного лекарственного препарата. Для этих целей используются как химические, так физические и физико-химические методы [6]. При этом тенденции развития аналитической химии таковы, что все в большей степени используются физические и физико-химические методы, как более чувствительные воспроизводимые и экспрессивные. Однако в настоящее время в качестве фармакопейных достаточно широко используются и химические методы, особенно титриметрические, которые на сегодняшний день удовлетворяют фармакологическим требованиям. Это не останавливает поиск более подходящих для анализа лекарственных препаратов физических и физико-химических методов анализа. К числу таких методов относится и метод рефрактометрии, имеющий, как и всякий метод, свои достоинства и недостатки. К числу достоинств относится высокая чувствительность и простая техника выполнения, он не требует дорогостоящей аппаратуры и сложных расчетов, недостатки - влияние сопутствующих веществ, которые могут содержаться в лекарственных препаратах и в сильной степени влиять на результаты определения [4, 5, 6].

В фармацевтическом анализе он используется для установления подлинности и чистоты, контроля качества некоторых лекарственных средств, а также для определения концентрации анализируемого вещества в растворе. Метод рефрактометрии широко используется для однокомпонентных (по растворенному веществу) растворов. Измерение показателя преломления, лежащего в основе этого метода, является технически простой операцией, его можно проводить с высокой точностью и небольшим количеством вещества за короткое время. Для анализа сложных многокомпонентных растворов он менее пригоден, так как на показатель преломления в большей или меньшей степени будут влиять различные вещества, и, в силу аддитивности, результат будет зависеть от наличия всех компонентов [3].

Поэтому наилучшие результаты он дает при анализе растворов чистых веществ, а при исследовании жидкостей сложного состава он может быть использован, если есть возможность учесть влияние различных веществ или использоваться как полуколичественный метод.

К числу лекарственных средств, представляющих собой растворы неорганических и органических химических веществ, относятся растворы натрия хлорида, кальция хлорида, глюкозы и др. К их числу относятся и растворы калия хлорида.

Соли калия используются как лекарственные вещества минерального происхождения и входят в состав ряда лекарственных препаратов. Калий (ионы K^+) относится к числу жизненно необходимых биоэлементов. Он участвует в поддержании кислотно-щелочного равновесия и осмотического давления. Ионы K^+ с ионами Na^+ участвуют в работе Na^+/K^+ ионного насоса, поддерживая необходимый мембранный потенциал, обеспечивая проведение нервного импульса, сокращение мышц, проникновение биологически активных веществ через клеточные мембраны. В небольших концентрациях калий снижает частоту и амплитуду сердечных сокращений, уменьшает проводимость, автоматизм и возбудимость миокарда, расширяет коронарные сосуды. В высоких дозах калий вызывает остановку сердца в фазе диастолы. Увеличение концентрации калия в крови снижает риск развития токсического действия сердечных гликозидов. Нарушение баланса калия и магния в пастбищной растительности приводит у жвачных животных к тяжелому нервному заболеванию - травяной пастбищной тетании.

Калия хлорид при внутривенном применении устраняет гипокалиемию и гипохлоремию в организме животных, нормализует водно-электролитный обмен, улучшает сердечную деятельность и, выходясь через почки, способствует диурезу. Калия хлорид используют как составную часть многих питательных и кровезаменяющих растворов при токсической диспепсии, гастроэнтеритах, нарушениях водно-солевого обмена и интоксикациях. Он входит в состав комплексных препаратов, таких как регидрон, кардиоплегические растворы и др.

Материалы и методы исследований. В Государственной Фармакопее РБ для количественного определения концентрации растворов калия хлорида приведен метод аргентометрии, основанный на титровании анализируемого раствора раствором $AgNO_3$ (метод Мора).

Для анализа были приготовлены растворы калия хлорида концентрации 1%, 3%, 5%, 7%, 9%, 11%, 13%, 15%, охватывающие зону фармакопейных препаратов и ограничивающие ее нижнюю и верхнюю границу (4%, 5%, 7,5%). Определение содержания калия хлорида проводилось с использованием 0,1М раствора $AgNO_3$ и индикатора калия хромата Р. Концентрация калия хлорида рассчитывалась по затраченному объему раствора нитрата серебра из расчета, что 1 мл 0,1М раствора $AgNO_3$ соответствует 7,46 мг KCl [1, 2].

Рефрактометрическое определение концентрации калия хлорида проводилось по показателю преломления раствора с использованием рефрактометра типа Аббе. Перевод показателя преломления в процентную концентрацию проводили по формуле 1:

$$w\% = \frac{n - n_0}{F}, \quad (1)$$

где n - показатель преломления раствора KCl ;

n_0 - показатель преломления растворителя (для воды 1,333);

F - аналитический фактор, рассчитываемый по показателю преломления 15% раствора KCl (в 10-кратной повторности).

Расчет концентрации калия хлорида вели с использованием удельного аналитического фактора ($F\%$) – величина прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1% (формула 2).

$$F = \frac{n - n_0}{w_{15}} = \frac{1,3529 - 1,333}{15} = 0,0132, \quad (2)$$

где w_{15} - процентная концентрация исследуемого раствора (15%);

n - показатель преломления исследуемого раствора;

n_0 - показатель преломления воды.

Относительная ошибка определения рассчитывалась по формуле 3:

$$b = \frac{\Delta C}{C} 100\%, \quad (3)$$

где C - абсолютная ошибка определения (разность между результатом определения и действительным значением определенной величины);

C - действительное значение определяемой величины.

Оценку аналитической пригодности метода определяли по среднему квадратичному отклонению (s) при определении показателя преломления 15% раствора в 10-кратной повторности по формуле 4:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}, \quad (4)$$

где S - среднее квадратичное отклонение;

x_i - результат единичного определения;

\bar{x} - среднее значение определяемой величины;

n - число определений.

Результаты исследований. В таблице 1 представлены результаты исследования 1-15% растворов калия хлорида методом аргентометрии [2] и методом рефрактометрии.

Таблица 1 – Сравнительная оценка методов аргентометрии и рефрактометрии

Метод аргентометрии				Метод рефрактометрии			
Действительная концентрация, W%	Объем 0,1м раствора AgNO ₃	Результат определения, W ¹ %	Относительная ошибка b, %	Показатель преломления раствора, n	С учетом показателя преломления воды, (n-n ₀)	Результат определения, W ² %	Относительная ошибка, b%
1	6,6	1,27	27	1,3343	0,0013	0,98	2
3	19,5	2,84	5,3	1,3370	0,004	3,03	1
5	31,8	5,21	4,2	1,3394	0,0064	4,8	0,4
7	45,2	6,94	0,85	1,3417	0,0087	6,6	5,7
9	57,3	9,12	1,3	1,3442	0,0112	8,48	5,7
11	73,8	11,02	0,18	1,3469	0,0139	10,5	4,5
13	84,5	13,12	0,92	1,3500	0,017	12,8	1,5
15	94,7	14,97	0,2	1,3530	0,02	15,15	1
Средняя по группе			5				2,7

Сравнительный анализ метода рефрактометрии и аргентометрии показывает, что метод рефрактометрии является более точным. Средняя относительная ошибка составляет в этом методе 2,7%, в то время как средняя относительная ошибка метода аргентометрии почти в 2 раза больше (5%).

Более точные результаты метода рефрактометрии обусловлены тем, что в нем исключен целый ряд факторов, который вызывает ошибки в методе аргентометрии. В методе аргентометрии возможна индикаторная ошибка, которая имеет место даже при правильно подобранном индикаторе, так как показатель титрования индикатора, пусть незначительно, но будет отличаться от показателя точки эквивалентности. При неправильно подобранном индикаторе это вообще может свести на нет результаты количественного определения. Фиксирование конечной точки титрования всегда субъективно (визуальная оценка интенсивности окраски). Приготовление растворов нужных концентраций в методе аргентометрии тоже сопряжено с возможностью возникновения случайных ошибок (точность взвешивания, чистота химических реагентов, калибровка мерной посуды). Всех этих факторов, способствующих возникновению ошибок определения, лишен метод рефрактометрии.

Возможность возникновения ошибки здесь также может быть связана с визуальной оценкой показания шкалы рефрактометра. Но оценить показания шкалы все-таки легче, чем «на глаз» определить интенсивность окраски. Конечно, возможна приборная ошибка, если определение проводится на неисправном оборудовании. Но она должна быть исключена, т.к. определение должно проводиться только на проверенном приборе. Неоспоримым достоинством метода рефрактометрии является небольшое количество времени, затрачиваемого на одно определение (экспрессивность). Это немаловажное преимущество, особенно в тех случаях, когда исследования поставлены «на поток». Кроме того, в случае необходимости можно быстро провести исследование в нескольких повторностях.

Для оценки пригодности метода была использована величина стандартного отклонения (S) и фактор «двух стандартных отклонений» ($\bar{x} \pm 2S$). Если при определении концентрации раствора в 10 и более повторностях ни одно из определений не выходит за пределы $\bar{x} \pm 2S$, то метод считается пригодным для предложенных аналитических определений. Результаты этих определений представлены в таблице 2. Доверительная вероятность – вероятность того, что полученный результат лежит в пределах определенного интервала значений. Использование удвоенной средней квадратичной ошибки (2S) свидетельствует о том, что определяемая величина с вероятностью 95% ($P < 0,05$) лежит в пределах доверительного интервала 14,74-15,26. Как видно из таблицы 2, все результаты определения укладываются в этот интервал, что свидетельствует о пригодности метода для данных аналитических исследований.

Таблица 2 – Статистическая оценка метода рефрактометрии

Действительное содержание, W ₀ %	Результат рефрактометрического определения, W ₁ %	Воспроизводимость, W ₁ %-W ₀ %	Относительная ошибка, b%	Доверительная вероятность $\bar{x} \pm 2S$	Допустимые пределы колебаний
15,0	15,07	0,07	0,46	15±0,26	14,74-15,26
15,0	14,9	-0,1	-0,6		
15,0	15,15	0,15	0,01		
15,0	14,9	-0,1	-0,6		

Действительное содержание, W ₀ %	Результат рефрактометрического определения, W ₁ %	Воспроизводимость, W ₁ %-W ₀ %	Относительная ошибка, b%	Доверительная вероятность x±2S	Допустимые пределы колебаний
15,0	15,00;	0,00	0,00	15±0,26	14,74-15,26
15,0	15,2	0,2	1,3		
15,0	15,25	0,25	1,6		
15,0	15,25	0,25	1,6		
15,0	15,15	0,15	0,01		
15,0	14,9	-0,1	-0,6		

Для оценки метода используется такой параметр, как воспроизводимость, под которым понимают, насколько отдельные единичные определения близки друг к другу. Для оценки воспроизводимости проводят несколько определений одного и того же объекта, определяя, насколько параллельные пробы различаются между собой. Как видно из таблицы 2, относительная ошибка при 10-кратном исследовании 15% раствора калия хлорида составила 0,00-1,6%, что говорит о хорошей воспроизводимости метода.

Для пересчета показателей преломления в значения концентрации используется также «табличный» метод, когда составляется таблица в координатах «показатель преломления - концентрация вещества», что позволяет, не производя расчетов, сразу перейти от показателя преломления к концентрации. Используя метод экстраполяции, мы составили такую таблицу охватывающую диапазон концентрации до 30% (таблица 3), которая позволяет непосредственно перейти от показания рефрактометра концентрации раствора калия хлорида.

Таблица 3 - Пересчет показателя преломления в процентную концентрацию

Показатель преломления, n	Концентрация калия хлорида, W%	Показатель преломления, n	Концентрация калия хлорида, W%
1,3343	1	1.3543	16
1,3356	2	1.3556	17
1,3370	3	1.3569	18
1,3383	4	1.3582	19
1,3394	5	1.3595	20
1,3407	6	1.3608	21
1,3417	7	1.3621	22
1,3430	8	1.3634	23
1,3442	9	1.3647	24
1,3455	10	1.3660	25
1,3469	11	1.3673	26
1,3482	12	1.3686	27
1,3500	13	1.3699	28
1,3513	14	1.3712	29
1,3530	15	1.3725	30

Этот способ хорошо себя оправдывает при работе с растворами чистых веществ (глюкоза, сахара, натрия хлорид и др.). В некоторых случаях он используется при определении многокомпонентных растворов (рефрактометрическое определение белка в сыворотке крови). Но в этом случае результаты будут менее достоверными, так как на результат определения будут оказывать влияние различные вещества неорганической и органической природы, находящиеся в сыворотке крови.

Заключение. Метод рефрактометрии может быть использован в качестве фармакопейного при исследовании растворов калия хлорида. Основным его достоинством является быстрота выполнения и более высокая точность. Он не требует длительной предварительной подготовки, связанной с приготовлением реактивов строго определенной концентрации, технически прост и отвечает требованиям, предъявляемым к аналитическим методам. Средняя относительная ошибка примерно в 2 раза меньше ошибки при использовании метода аргентометрии. Перевод показателей результатов определения в значения концентрации с использованием таблиц упрощает расчет. Особенно перспективно его использование в случае необходимости проведения массовых однотипных анализов.

Литература. 1. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II) : разработана на основе Европейской Фармакопеи : в 2 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; ред. А. А. Шеряков. – Молодечно : Победа, 2012. – 1220 с. 2 Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II) : разработана на основе Европейской Фармакопеи : в 2 т. Т. 2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / Центр экспертиз

и испытаний в здравоохранении ; ред. С. И. Марченко. – Молодечно : Победа, 2016. – 1368 с. 3. Фармацевтический анализ лекарственных средств / под ред. В. А. Шаповаловой. – Харьков : Рубикон, 1995. – 400 с. 4. Глоба, И. И. Хромографические и спектральные методы анализа : учебное пособие для студентов вузов по специальности «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции» и химико-технологической специальности / И. И. Глоба, С. А. Ламоткин. – Минск : БГТУ, 2008. – 349 с. 5. Глоба, И. И. Оптические методы и приборы контроля качества промышленных и продовольственных товаров. Лабораторный практикум : учебно-методическое пособие для студентов учреждений высшего образования по специальности 1-54 01 03 «Физико-химические методы и приборы контроля качества продукции» / И. И. Глоба, А. А. Гаиновский. – Минск : БГТУ, 2012. – 249 с. 6. Глоба, И. И. Оптические методы и приборы контроля качества товаров. Лабораторный практикум / И. И. Глоба. – Минск : БГТУ, 2003. 7. Дегтярев, Е. В. Анализ лекарственных средств в исследованиях, производстве и контроле качества / Е. В. Дегтярев // Российский химический журнал. – 2002. – Т. XLVI, № 4.

Поступила в редакцию 23.04.2020 г.

УДК 619:616.34-002:615.246:636.2.053

ПОЛИСУБСТРАТНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ МЕМБРАННОМ ГИДРОЛИЗЕ БЕЛКОВ И УГЛЕВОДОВ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*Щербakov Г.Г., **Напреенко А.В., **Ковалёнок Ю.К.

*Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

При мембранном пищеварении происходит одновременная переработка основных субстратов, при этом компоненты диеты избирательно воздействуют на гидролиз субстратов из других групп нутриентов. Экспериментально показано, что взаимодействие между модификаторами и субстратами происходит по принципу торможения или стимулирования гидролиза. При этом расщепление дипептидов максимально тормозится в присутствии жиров в среднем в 70% ($p < 0,01$), дисахариды (сахароза) вызывают незначимую ($p > 0,05$), но постоянную стимуляцию гидролиза глицил-L-лейцина. Максимальный ингибирующий эффект на гидролиз исследуемых субстратов отмечен преимущественно у трибутирина (более 80%). Отмечено, что модификаторы являются более активными регуляторами гидролиза, чем их производные; большинство взаимодействий между субстратами осуществляется на уровне ферментативных молекул и в меньшей степени - мембран клеток. **Ключевые слова:** мембранное пищеварение, гидролиз, крысы, субстраты, модификаторы.

POLYSUBSTRATE PROCESSES IN MEMBRANE HYDROLYSIS OF PROTEINS AND CARBOHYDRATES IN MAMMALS

*Shcherbakov G.G., **Napreenka A.V., **Kavalionak Y.K.

*Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

In membrane digestion, the main substrates are simultaneously processed, while the components of the diet selectively affect the hydrolysis of substrates from other groups of nutrients. It is shown experimentally that the interaction between modifiers and substrates occurs on the principle of inhibition or stimulation of hydrolysis. In this case, the cleavage of dipeptides is maximally inhibited in the presence of fats by an average of 70% ($p < 0,01$), disaccharides (sucrose) cause insignificant ($p > 0,05$), but constant stimulation of hydrolysis of glycy-L-leucine. The maximum inhibitory effect on the hydrolysis of the studied substrates was noted mainly for tributyrin (more than 80%). It is noted that modifiers are more active hydrolysis regulators than their derivatives; most interactions between substrates are carried out at the level of enzymatic molecules and, to a lesser extent, cell membranes. **Keywords:** membrane digestion, hydrolysis, rats, substrates, modifiers.

Введение. Эмпирический и научный анализы предусматривают в своей основе создание моделей, позволяющих интегрировать сущность естественных процессов. Биология пищеварения продолжает оставаться актуальной областью научных школ разных стран мира [4, 5, 6, 7]. Научным наследием сформирован существенный задел современного понимания биологии полостного и мембранного пищеварения, существующих механизмов транспорта нутриентов диеты из полости кишки во внутреннюю среду организма и т.д. Вместе с тем, до настоящего времени среди ученых не выработана единая парадигма о гидролизе многокомпонентной диеты. При этом широко представлены взгляды от существования изолированных энзиматических путей расщепления каждого субстрата [2, 3, 4] до сообщений [1] о сложных полисубстратных взаимодействиях. Сторонники теории прямых гидролитических путей утверждают, что переработка алиментарных субстратов осуществляется большим числом специфических ферментов (гидролаз), функционирующих в пищеварительном тракте вне связи друг с другом. Оппоненты данной точки зрения находят механизмы гидролиза компонентов диеты мультифакторными, стратификация которых может определяться весьма обширными и разнонаправленными векторами.