

ЕЛЕКТРОХІМІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ СУМИ ДИТЕРПЕНОВИХ ГЛІКОЗИДІВ STEVIA REBAUDIANA

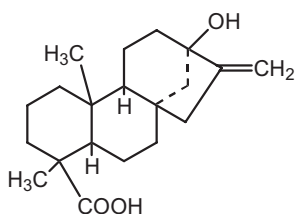
ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», м. Дніпропетровськ

Досліджена реакція взаємодії дитерпенових глікозидів стевії з гетерополіаніоном $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ методами УФ-спектроскопії та амперометричного титрування. Малорозчинні асоціати, що утворилися, були використані як електродноактивні речовини в пластифікованих мембранах іон-селективних електродів обернених до органічної катіонної частки стевіозид- Ba^{2+} . Розроблені методики визначення вмісту суми дитерпенових глікозидів в водних екстрактах *Stevia Rebaudiana* методом амперометричного титрування та прямої потенціометрії відрізняються експресністю, точністю і чутливістю.

Ключові слова: 12-молібдофосфорна кислота, амперометричне титрування, дитерпенові глікозиди, іон-селективний електрод, стевіозид, стевія.

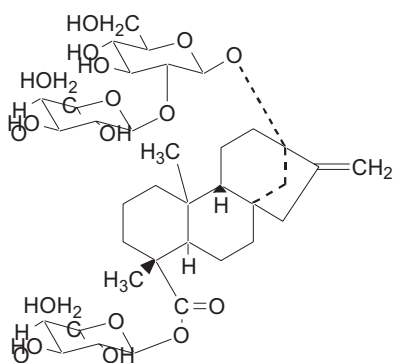
Вступ

Солодкі речовини стевії складаються з чотирьох дитерпенових глікозидів, що є похідними стевіолу (13-гідрокси, енткаурен-16,18 карбонової кислоти) [1]:

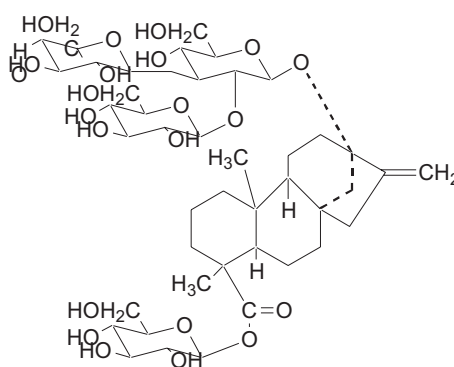


Стевіол

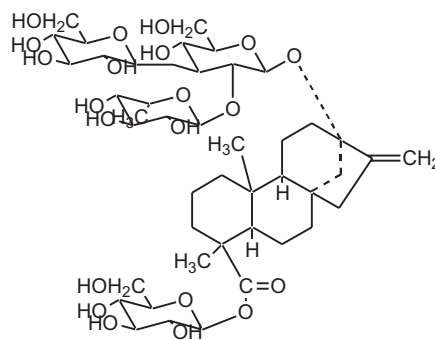
стевіозид (5–16 %), ребаудіозид А (до 4%), ребаудіозид С (до 1,4%), дулкозид А (до 1%).



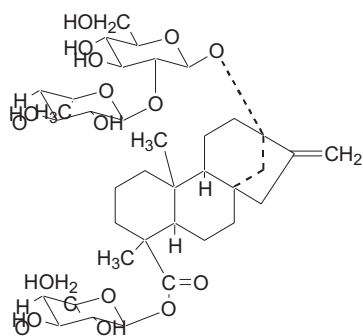
Стевіозид (м.м. 804) $\text{C}_{38}\text{H}_{60}\text{O}_{18}$



Ребаудіозид А (м.м 966) $\text{C}_{44}\text{H}_{70}\text{O}_{23} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$



Ребаудіозид С (м.м. 950) $\text{C}_{44}\text{H}_{70}\text{O}_{22} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Дулкозид А (м.м. 788) $C_{38}H_{59}O_{17}$

Основні переваги дитерпенових глікозидів стевії – солодкий смак без стороннього присмаку; практично нульова енергетична цінність; стійкість до нагрівання та дії кислот і основ; добра розчинність у воді. Глікозиди у поєднанні з іншими компонентами стевії запобігають розвитку хвороботворних бактерій та вірусів, а також мають протизапальну дію.

Стевіозид – один із основних компонентів трави *stevia rebaudiana*, а також торгівельна назва суми дитерпенових глікозидів стевії [2].

Стевіозид можна використовувати як заміник цукру для різних типів промислової продукції.

Стандартною методикою для визначення кількісного вмісту дитерпенових глікозидів є методика вискоєфективної рідинної хроматографії високого тиску [3]. Також відомі спектрофотометричні методики визначення стевіозиду з використанням атронового реактиву [4]. Дані методики мають низку певних недоліків: використання токсичних розчинників та висока вартість обладнання.

Тому, актуальною є розробка альтернативних способів кількісного визначення вмісту суми дитерпенових глікозидів стевії, які б мали необхідні аналітичні та метрологічні параметри, відрізнялися експресністю та простотою виконання.

Згідно даних наукової літератури глікозиди екстрагуються спиртом та водою. Визначено, що найкращим екстрагентом для дитерпенових глікозидів стевії є вода [2].

Експериментальна частина

Було проведено дослідження впливу кислотності екстрагенту на процес екстракції стевіозиду з сухого листа стевії методом УФ-спектроскопії. На рис. 1 приведені УФ-спектри поглинання водних екстрактів листа стевії.

Спектри поглинання реєстрували в діапазоні 200–350 нм в кварцових кюветах з товщиною шару 1 см. Як екстрагент і розчинник у всіх випадках використовували дистильовану воду. УФ-спектри досліджуваних речовин реєстрували відносно розчинника (дистильована вода).

Методика приготування екстракту стевії: до наважки ~ 1,0 г сухого листа стевії додавали 70–80 мл дистильованої води потім доводили значення рН розчинами НСl, NaOH та екстрагували на водяній бані при температурі 80–90°C протягом 30 хв. Одержаний екстракт охолодили та відфільтрували.

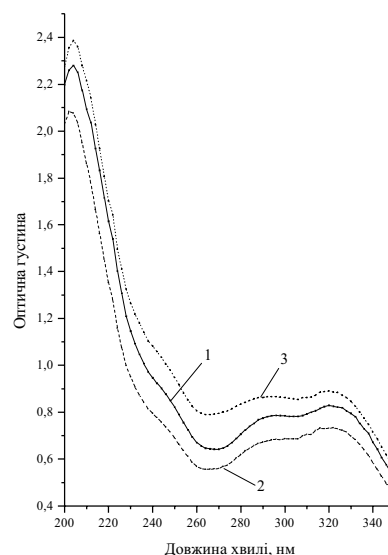


Рис. 1. УФ-спектри поглинання екстрактів сухого листа стевії: 1 – рН=3; 2 – рН=6; 3 – рН=9. $C_{St} \approx 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $l=1$ см; екстрагент, розчин порівняння – вода

Також було досліджено вплив кислотності досліджуваного розчину на властивості одержаних нейтральних екстрактів (одержаних при рН=6) (рис. 2–3).

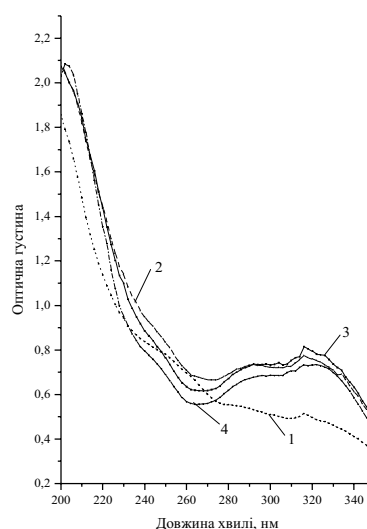


Рис. 2. УФ-спектр поглинання нейтрального екстракту листа стевії в залежності від рН: 1 – рН=2; 2 – рН=3; 3 – рН=4; 4 – рН=6. $C_{St} \approx 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $l=1$ см; екстрагент, розчин порівняння – вода

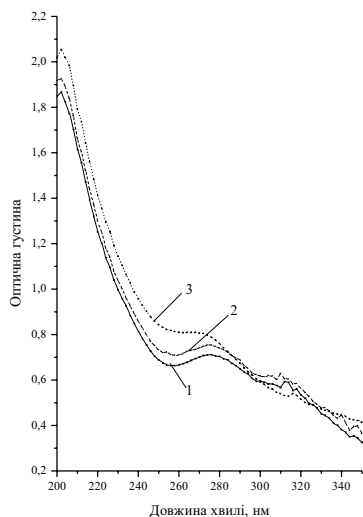


Рис. 3. УФ-спектр поглинання нейтрального екстракту листя стевії в залежності від рН: 1 – рН=7; 2 – рН=8; 3 – рН=9. $C_{St} \approx 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $l=1$ см; екстрагент, розчин порівняння – вода

Методом УФ-спектроскопії була досліджена реакція взаємодії стевіозиду з 12-молібдофосфатною гетерополікислотою (ГПК) через попереднє утворення катіонної комплексної частки стевіозид- Ba^{2+} (рис. 4). Дослідження здійснювалось при власному рН екстракту листя стевії (рН=6), оскільки смуги поглинання при даній кислотності екстракту збігаються з літературними даними з дитерпенових глікозидів.

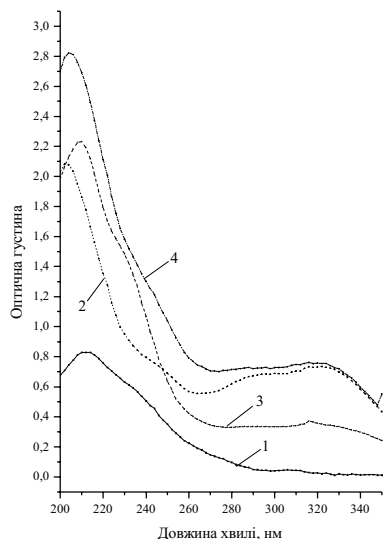


Рис. 4. УФ-спектр поглинання екстракту листя стевії, водного розчину 12-молібдофосфатної кислоти (МФК) та їх асоціату з Ba^{2+} : 1 – розчин МФК; 2 – екстракт листя стевії; 3 – асоціат $St-Ba^{2+}-MFK$; 4 – розрахована теоретична крива суміші $St-Ba^{2+}$ та МФК. $C_{MFK} = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{St} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $C_{асоціат} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, екстрагент та розчин порівняння – дистильована вода; $l=1$ см; рН=6

Також було виконано визначення складу утвореного комплексу із ГПА методом УФ-спектроскопії. Для визначення складу утвореного асоціату досить інформативним вважається метод молярних відношень. Для встановлення можливого складу асоціату стевіозид- Ba^{2+} з ГПА виконували пряме насичення водного розчину стевіозид- Ba^{2+} з концентрацією $5,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л розчином МФК, $C=1,0 \cdot 10^{-5}$ М.

Методика приготування розчинів

У 11 мірних колб об'ємом 25 мл вводили по 2,5 мл водного екстракту листя стевії з приблизною концентрацією $2,0 \cdot 10^{-5}$ М, додавали 2,5 мл розчину хлориду барію з концентрацією $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л та насичували водним розчином МФК (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0 мл) з концентрацією $1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л при рН=6,0, доводили об'єм до мітки дистильованою водою і вимірювали оптичну густину одержаних розчинів при $\lambda=230$ нм.

За результатами визначення будували криву насичення і визначали співвідношення реагуючих компонентів (рис. 5).

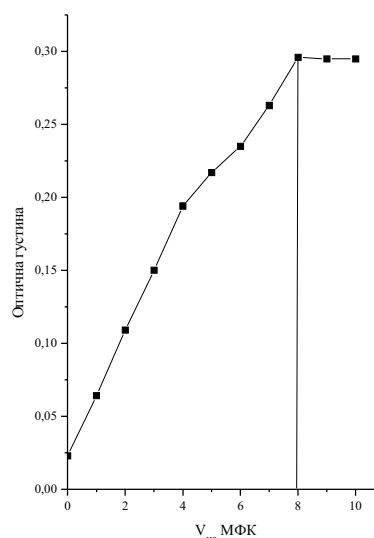
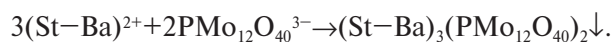


Рис. 5. Залежність поглинання системи $St-Ba^{2+}-MFK$ від концентрації МФК. $V_{St}=2,5$ мл; $C_{MFK}=1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; $C_{St} \approx 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $\lambda=230$ нм, $l=1$ см

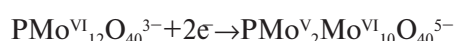
Кількісне визначення суми дитерпенових глікозидів стевії виконували методом амперометричного титрування, що базується на реакції взаємодії між дитерпеновими глікозидами та солями барію з утворенням катіонної комплексної частки та подальшою взаємодією одержаної катіонної частки з гетерополіаніоном 12-молібдофосфатної кислоти з утворенням малорозчинної сполуки іонного типу.

Реакція взаємодії між гетерополіаніонами $PMo_{12}O_{40}^{3-}$ і катіонною часткою стевіозид- Ba^{2+} ,

протікає стехіометрично у водному середовищі при $\text{pH}=6,0$ з утворенням стійкого іонного асоціату малорозчинної сполуки:



При поляризації електрода в інтервалі від $+0,5$ В до $-0,5$ В катіонна комплексна частка стевіозид- Ba^{2+} є неелектроактивною, в той час як гетерополіаніон 12-молібдофосфатної гетерополікислоти дає чітку хвилю електровідновлення двох атомів молібдену [6,7]:



Виходячи з того, що титрант є електроактивною речовиною, можливе визначення стевіозиду методом амперометричного титрування водним розчином ГПК з індикацією точки еквівалентності зі збільшення сили струму електровідновлення гетерополіаніона.

Визначення стевіозиду у нейтральному екстракті сухого листа стевії виконували наступним чином: 2,0 мл водного розчину 12-молібдофосфатної кислоти з концентрацією $1,0 \cdot 10^{-2}$ М вносили в електрохімічну комірку, додавали 4,0 мл 0,01 М розчину $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$. На електроди (катод – торцевий графітовий електрод; анод – насичений каломельний) накладали напругу $(+0,10) - (+15)$ В та через 60 с фіксували величину «нульового» струму. Титрували попередньо приготовленим водним екстрактом сухого листа стевії при власному $\text{pH}=6$ порціями по 0,2 мл. Величину сили дифузійного струму фіксували через 30 с після додавання титранту. Амперометричне титрування закінчували після встановлення постійного значення сили дифузійного струму. Точку еквівалентності визначали графічно з кривої титрування (рис. 6).

Аналогічним чином було здійснено визначення суми дитерпенових глікозидів в лужному та кислому екстрактах сухого листа стевії.

Результати здійснених інструментальних досліджень реакції взаємодії гетерополіаніона $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$ з органічною катіонною комплексною часткою $\text{St}-\text{Ba}^{2+}$ були використані для розробки іонометричної методики кількісного визначення стевіозиду. Були розроблені іон-селективні електроди (ІСЕ) з пластифікованими полівінілхлоридними мембранами на основі мембранних розчинників-пластифікаторів – дибутілфталату (ДБФ), діоктилфталату (ДОФ), де в якості електродноактивної речовини (ЕАР) використовували іонний асоціат складу $(\text{St}-\text{Ba})_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$.

Поведінка ІСЕ, оборотних до катіонної частки стевіозид- Ba^{2+} , вивчалась в різних модельних розчинах. Для побудови градувальних графіків використовували серію водних екст-

рактів сухого листа стевії з концентраціями від $1,0 \cdot 10^{-6}$ до $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

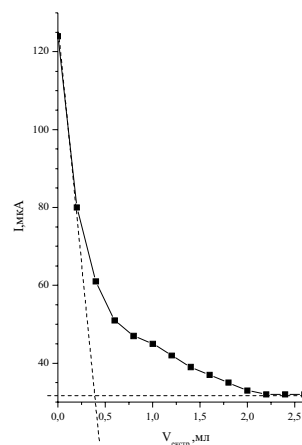


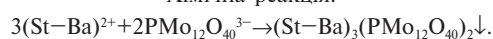
Рис. 6. Крива амперометричного титрування МФК нейтральним екстрактом дитерпенових глікозидів.

$V_{\text{МФК}}=2,0$ мл; $C_{\text{МФК}}=1,0 \cdot 10^{-2}$ М; $\text{pH}=6$.

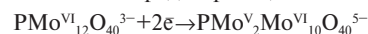
Катод: торцевий графітовий електрод.

Анод: насичений каломельний електрод.

Хімічна реакція:



Електродна реакція:



Досліджено вплив різних чинників на характеристики розроблених ІСЕ (нахил електродної функції та інтервал лінійності визначуваних концентрацій стевіозиду у розчині):

- величина pH досліджуваного розчину;
- природа розчинника-пластифікатора мембрани;
- кількісний вміст ЕАР у мембрані.

ЕАР для ІСЕ отримували за наступною методикою: до наважки $\sim 10,0$ г сухого листа стевії додавали 70–80 мл дистильованої води та екстрагували на водяній бані при температурі 80–90°C протягом 30 хв. Одержаний екстракт охолоджували та відфільтровували. До одержаного екстракту додавали розчин солі барію (0,1 моль/л) та розчин МФК з концентрацією $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Одержаний осад відфільтровували, висушували і використовували в якості ЕАР для приготування мембрани.

Іонометричне визначення стевіозиду в екстракті листа стевії виконували за наступною методикою: точну наважку сухого листа стевії $\sim 10,0$ г переносили в термостійку колбу, додавали $\sim 100,0$ мл дистильованої води та екстрагували на водяній бані 30–35 хв при температурі 90–95°C. Одержаний екстракт відфільтровували, переносили у мірну колбу на 100 мл і доводили до мітки водою. Одержаний розчин при необхідності розводили дистильованою водою та пе-

реносили в електрохімічну комірку з системою електродів: індикаторний – ІСЕ, оборотний до органічної комплексної катіонної частки стевіозид- Ba^{2+} та електрод порівняння – хлорид-срібний. За допомогою іономеру вимірювали електрорушійну силу в розчині та визначали кількісний вміст стевіозиду за градувальним графіком (рис. 7).

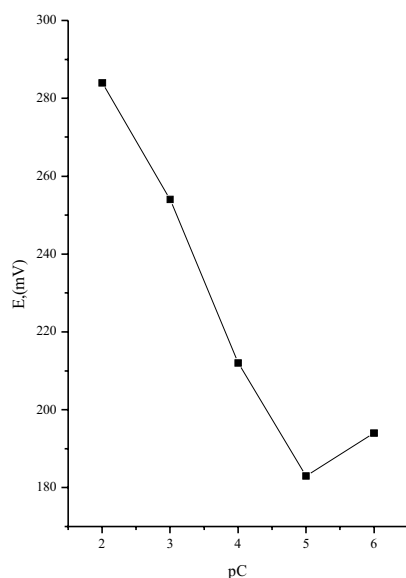


Рис. 7. Графічна залежність потенціалу іон-селективного електрода від логарифму концентрації стевіозиду $E=f(pC)$, $pH=2,0$. Катод (індикаторний електрод): розроблений іон-селективний електрод. Анод (електрод порівняння): хлорид срібний електрод

Результати дослідження та їх обговорення

Як видно з рис. 1 смуги поглинання глікозидів стевії зберігаються незалежно від умов одержання екстрактів і співпадають з літературними даними [5], однак при одержанні лужного екстракту спостерігається збільшення значень оптичної густини, що свідчить про більш повну екстракцію речовин з листя стевії.

В табл. 1 наведені результати спектрофотометричного дослідження екстракту листя стевії одержаного при $pH=6$ в залежності від кислотності.

Як свідчать отримані експериментальні дані смуги поглинання екстракту листя стевії, які відповідають смугам поглинання дитерпенових глікозидів (230–250 нм) зберігаються в інтервалі pH 2–7.

В табл. 2 наведені результати спектрофотометричного дослідження екстракту листя стевії, МФК та асоціату $\text{St}-\text{Ba}^{2+}-\text{МФК}$.

Спектральна характеристика водного розчину іонного асоціату $\text{St}-\text{Ba}^{2+}-\text{МФК}$ зберігає

смуги поглинання, що є характерними для вихідних речовин. Це свідчить про незмінність хромофорної системи в процесі реакції та підтверджує асоціативний характер взаємодії.

Таблиця 1

УФ-спектри поглинання екстракту листя стевії в залежності від pH

pH	λ_{max} , нм	Характеристика	$\epsilon_{\text{умовн.}}$
2	240	Плече (230–250)	83700
	280	Плече (275–285)	55400
	316	Слабка смуга поглинання	51400
3	240	Плече (235–250)	94900
	292	Смуга поглинання середньої сили	73400
	316	Смуга поглинання середньої сили	77500
4	240	Плече (235–250)	88600
		Смуга поглинання середньої сили	73700
	316	Смуга поглинання середньої сили	81400
6	202	Інтенсивна смуга поглинання	208400
	240	Плече (230–250)	79500
	292	Смуга поглинання середньої сили	67800
	322	Смуга поглинання середньої сили	73400
7	202	Інтенсивна смуга поглинання	186700
	236	Плече (230–240)	88800
	276	Смуга поглинання середньої сили	71100
	312	Слабка смуга поглинання	59200
8	202	Інтенсивна смуга поглинання	192600
	274	Смуга поглинання середньої сили	75400
	310	Слабка смуга поглинання	62700
9	202	Інтенсивна смуга поглинання	205500
	274	Смуга поглинання середньої сили	79800
	316	Слабка смуга поглинання	54000

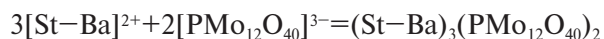
Таблиця 2

УФ-спектри поглинання екстракту листя стевії, водного розчину МФК та їх асоціату

Сполука	λ_{max} , нм	Особливості УФ-спектрів	$\epsilon_{\text{умовн.}}$
$\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$	210	Інтенсивна смуга поглинання	219200
	235	Плече	113000
	310	Слабка смуга поглинання	28000
Екстракт листя стевії	202	Інтенсивна смуга поглинання	208400
	240	Плече (230–250)	79500
	292	Смуга поглинання середньої сили	67800
	322	Смуга поглинання середньої сили	73400
Асоціат $\text{St}-\text{Ba}$ з МФК	212	Інтенсивна смуга поглинання	200000
	226	Плече (222–230)	158300
	312	Слабка смуга поглинання	42600

Як видно з отриманих експериментальних даних (рис. 4) спектральна характеристика асоціату $St-Ba^{2+}-MFK$ відрізняється від розрахованої теоретичної кривої суміші $St-Ba^{2+}$ та MFK , тобто спостерігається відхилення від закону адитивності, що підтверджує утворення нової сполуки.

Як свідчать отримані експериментальні дані (рис. 5) співвідношення реагуючих компонентів комплексу $St-Ba^{2+}:MFK$ складає 3:2, утворюється комплексна сполука складу $(St-Ba)_3(PMo_{12}O_{40})_2$.



Результати визначення суми дитерпенових глікозидів в сухому листі стевії методом амперометричного титрування наведені в табл. 3.

Таблиця 3

Метрологічні характеристики результатів визначення суми дитерпенових глікозидів методом амперометричного титрування (n=7, P=0,95)

Тип екстракту	Теоритичний вміст стевіозиду за НД, %	Знайдено стевіозиду, %	Sr
Кислотний	10,00–20,00	11,23±0,22	0,02
Лужний		14,78±0,26	0,02
Нейтральний		10,95±0,18	0,03

Перевірка правильності результатів визначення була проведена на різних аліквотних об'ємах досліджуваного розчину.

Отримані дані підтверджують правильність результатів визначення суми дитерпенових глікозидів стевії методом амперометричного титрування та відсутність систематичної помилки.

Визначення вмісту стевіозиду в промисловій продукції (рідкий екстракт «Стевіосан»)

Промислова продукція – рідкий екстракт стевії «Стевіасан» містить 10 г суми дитерпенових глікозидів в 100 г екстракту.

Результати визначення вмісту суми дитерпенових глікозидів в промисловій продукції методом амперометричного титрування надані в табл. 4.

Перевірку правильності результатів визначення стевіозиду в промисловій продукції – рідкому екстракті виконували методом додатків.

Отримані дані підтверджують правильність результатів визначення вмісту суми дитерпенових глікозидів в промисловій продукції методом амперометричного титрування та відсутність систематичної помилки.

Також було виконано визначення впливу кількісного вмісту електродноактивної речовини у мембрані. Результати наведені у табл. 6.

Основні електродні характеристики розроблених ICE з мембранами на основі отриманих

ЕАР в залежності від природи мембранного розчинника-пластифікатора та рН наведені в табл. 5.

Таблиця 4

Метрологічні характеристики результатів визначення суми дитерпенових глікозидів методом амперометричного титрування (n=7, P=0,95)

Досліджуваний зразок	Теоретичний вміст стевіозиду, %	Знайдено стевіозиду, %	Sr
Рідкий екстракт	10,00	9,88 ± 0,11	0,03

Таблиця 5

Залежність електродних характеристик ICE від рН розчину

pH	Розчинник	S, мВ	Інтервал лінійності, моль/л	C_{min} , моль/л
2	ДОФ	33,5	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$8,0 \cdot 10^{-6}$
	ДБФ	33,6	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$5,0 \cdot 10^{-6}$
3	ДОФ	30,5	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$5,0 \cdot 10^{-6}$
	ДБФ	32,3	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$
4	ДОФ	29,8	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-6}$
	ДБФ	30,5	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$
5	ДОФ	27,5	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$6,0 \cdot 10^{-6}$
	ДБФ	29,4	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$
6	ДОФ	27,0	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$5,0 \cdot 10^{-5}$
	ДБФ	25,8	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-5}$
7	ДОФ	19,7	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$3,0 \cdot 10^{-5}$
	ДБФ	20,8	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$5,0 \cdot 10^{-5}$
8	ДОФ	18,3	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$3,0 \cdot 10^{-5}$
	ДБФ	20,3	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$8,0 \cdot 10^{-5}$
9	ДОФ	14,2	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$5,0 \cdot 10^{-5}$
	ДБФ	22,0	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$8,0 \cdot 10^{-5}$

Таблиця 6

Залежність електродних характеристик розроблених ICE від вмісту ЕАР в мембрані

Розчинник	Вміст ЕАР в мембрані	S, мВ	Інтервал лінійності, моль/л	C_{min} , моль/л
ДБФ	m=0,05	32,3±1,0	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$
	m=0,01	32,0±0,9		
ДОФ	m=0,05	30,5±0,9	$1,0 \cdot 10^{-2} - 1,0 \cdot 10^{-5}$	$5,0 \cdot 10^{-6}$
	m=0,01	29,8±0,8		

Як видно з експериментальних даних вміст ЕАР суттєво не впливає на характеристики мембрани ICE.

Аналіз отриманих експериментальних даних показав, що оптимальні електродні характеристики має ICE з наступними параметрами: – Кількісний вміст ЕАР у мембрані ICE

дорівнює 0,01 г;

- Використання як розчинника-пластифікатора – дибутилфталату;
- рН=2–5.

Час відгуку електродів складає 40–50 с, інтервал лінійності залежності $E=f(pC)$ – від $1,0 \cdot 10^{-5}$ до $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л з кутовим нахилом $S=30-33$, близьким до Нернстівського значення для двозарядних катіонів.

Важливою електродною функцією ІСЕ є його селективність до потенціалвизначуваного іона на фоні можливого ряду заважаючих іонів.

В основу методів визначення коефіцієнтів селективності ІСЕ покладене рівняння для мембранного потенціалу електрода, який знаходиться у змішаному розчині:

$$E = E^0 + \frac{S}{z_i} \lg \left[a_i + \sum K_{i/j}^{pot} \cdot a_j^{z_i/z_j} \right],$$

де S – нахил калібрувального графіка ІСЕ; z_i і z_j – заряди основного та заважаючого іонів; $K_{i/j}^{pot}$ – потенціометричний коефіцієнт селективності, величина якого показує ступінь впливу заважаючого іона j на потенціал електрода, що визначається іоном i .

Коефіцієнти селективності ІСЕ на стевіозид визначені методом змішаних розчинів, який базується на вимірюванні потенціалів у змішаних розчинах зі сталим вмістом заважаючого іона j і змінною концентрацією визначуваного іона i .

Коефіцієнти селективності ІСЕ на глікозиди стевії відносно глюкози та сахарози наведені в табл. 7.

Таблиця 7

Потенціометричні коефіцієнти селективності $K_{i/j}$ ІСЕ, оборотних до стевіозиду (i – визначуваний катіон, j – заважаючий катіон)

Заважаючий іон	$K_{i/j}$	Надлишок заважаючого іона, кратність
Глюкоза	0,023	~43
Сахароза	0,023	~43

Результати кількісного визначення стевіозиду в екстракті листя стевії іонометричним методом з використанням розроблених ІСЕ ($n=7$, $P=0,95$) характеризуються чутливістю ($1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л) та доброю відтворюваністю результатів.

Розроблена методика кількісного визначення стевіозиду методом прямої потенціометрії була апробована на промисловій продукції – рідкому екстракті стевії «Стевіосан». Результати визначення дитерпенових глікозидів стевії в промисловій продукції порівняли з результатами їх

визначення методом амперометричного титрування (табл. 8).

Таблиця 8

Метрологічні характеристики результатів визначення суми дитерпенових глікозидів методом амперометричного титрування та прямої потенціометрії в промисловій продукції ($n=7$, $P=0,95$)

Методика	Теоретичний вміст стевіозиду, %	Знайдено стевіозиду, %	Sr
Амперометричне титрування	10,00	9,88±0,11	0,03
Пряма потенціометрія		9,95±0,08	0,02

Правильність результатів прямого потенціометричного визначення стевіозиду у екстракті стевії оцінювали методом добавок. Отримані експериментальні дані підтверджують правильність результатів визначення вмісту стевіозиду в промисловій продукції та відсутність систематичної помилки.

Висновки

Досліджена реакція взаємодії дитерпенових глікозидів стевії з гетерополіаніоном $PMo_{12}O_{40}^{3-}$ методами УФ-спектроскопії та амперометричного титрування. Малорозчинні асоціати, що утворилися, були використані як електродноактивні речовини в пластифікованих мембранах іон-селективних електродів обернених до органічної катіонної частки стевіозид- Ba^{2+} . Розроблені експресні та чутливі методики визначення стевіозиду в водних екстрактах сухого листя стевії та промисловій продукції методами амперометричного титрування та прямої потенціометрії, які дозволяють виконувати аналіз без складних етапів пробопідготовки та попереднього відокремлення заважаючих компонентів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Richard C. Kraska, Robert S. McQuate, Robert W. Kapp. Glucosylated steviol glycosides steviten rich // GRAS Assessment – Daeryung Co., Ltd. Republic of South Korea. – 2012. – 61 p.
2. Разработка эффективного способа выделения суммы дитерпеновых гликозидов из Stevia Rebaudiana Bertoni / И.Ю. Ситничук, Е.Н. Стрижева, А.А. Ефремов, Г.Г. Первышина // Химия растительного сырья. – 2002. – № 3. – С.73-75.
3. Ванидзе М.Р., Каландия А.Г., Чануквадзе Х.Р. Идентификация и количественное определение дитерпеновых гликозидов в растении стевия (Stevia Rebaudiana Bertoni) // Химия растительного сырья. – 2009. – № 4. – С.155-158.
4. Ляховкин А.Г., Николаев А.П., Учитель В.Б. Стевия – медовая трава: Растение лекарственное и пищевое в вашем доме. – СПб.: ЗАО «Весь», 1999. – 96 с.

5. *Технология* получения сухого очищенного экстракта из листьев стевии / С.А. Кедик, Е.И. Ярцев, И.Е. Станисhevская, С.В. Федоров // *Химия и технология лекарственных препаратов и биологически активных веществ*. – 2008. – № 3. – С.79-83.

6. *Ткач В.І.* Гетерополіаніони як аналітичні реагенти на азотвміщуючі органічні речовини. – Дніпропетровськ: ДДУ, 1995. – 196 с.

7. *Використання* гетерополіаніонів структури Кеггіна в аналізі органічних сполук / В.І. Ткач, Н.І. Карандеева, Л.П. Циганок, А.Б. Вишнікін. – Дніпропетровськ: УДХТУ, 2002. – 184 с.

Надійшла до редакції 04.11.2014

ELECTROCHEMICAL DETERMINATION OF THE AMOUNT OF DITERPENE GLYCOSIDES OF *STEVIA REBAUDIANA*

N.V. Lutsenko, M.O. Mironyak, V.I. Tkach

Ukrainian State University of Chemical Technology, Dnepropetrovsk, Ukraine

*The reaction of the interaction of diterpene steviol glycosides with heteropolyanion $PMo_{12}O_{40}^{3-}$ is investigated in this communication by UV spectroscopy and amperometric titration. The slightly soluble associate which has been formed was used as an electrode active substance in the improved membranes of ionselective electrodes, convertible to organic cationic part stevioside- Ba^{2+} . The methods of amperometric titration and direct potentiometric determination of the amount of diterpene glycosides in aqueous *Stevia Rebaudiana* extracts are offered, they are highly sensitive, selective and accurate.*

Keywords: 12-molybdophosphoric acid; amperometric ti-

tration; diterpene glycosides; ion-selective electrode; stevioside; stevia.

REFERENCES

1. Kraska R.C., McQuate R.S., Kapp R.W., *Glucosylated steviol glycosides steviten rich*. GRAS Assessment – Daepyoung Co., Ltd. Republic of Korea, 2012. 61 p.

2. Sitnichuk I.Yu., Strizheva E.N., Efremov A.A., Pervyshina G.G. Razrabotka jeffektivnogo sposoba vydelenija summy diterpenovyh glikozidov iz *Stevia Rebaudiana* Bertoni [Development of the effective method of selection of the sum of diterpene glycosides from *Stevia Rebaudiana* Bertoni]. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*, 2002, no. 3, pp. 73-75. (in Russian).

3. Vanidze M.R., Kalandiya A.G., Chanukvadze Kh.R. Identifikacija i kolichestvennoe opredelenie diterpenovyh glikozidov v rastvenii stevija (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) [Authentication and quantitative determination of diterpene glycosides in *Stevia Rebaudiana* Bertoni]. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*, 2009, no. 4, pp. 155-158. (in Russian).

4. Lyakhovkin A.G., Nikolaev A.P., Uchitel' V.B. *Stevija – medovaja trava: Rastenie lekarstvennoe i pishhevoe v vashem dome* [Steviya is a honey grass: A plant is medicinal and food in your house]. IG Ves, St. Petersburg, 1999. 96 p. (in Russian).

5. Kedik P.I., Yarcev E.I., Stanishevskaya I.E., Fedorov S.V. Tehnologija poluchenija suhogo ochishhennogo jekstrakta iz list'ev stevii [Technology of the production of the dry cleared extract from the leaves of stevia]. *Khimija i tehnologija lekarstvennyh preparatov i biologicheski aktivnykh veshchestv*, 2008, vol. 3, pp. 79-83. (in Russian).

6. Tkach V.I., *Geteropolianioni jak analitichni reagenti na azotvishhujuchi organichni rehovini* [Geteropolianions as analytical reagents on nitrogenated organic matters]. DDU, Dnepropetrovsk, 1995. 196 p. (in Ukrainian).

7. Tkach V.I., Karandeeva N. I., Tsiganok L.P., Vishnikin A.B., *Vikoristannja geteropolianioniv strukturi Keggina v analizi organichnih spoluk* [Use of heteropolianions Keggina structure in the analysis of organic compounds]. UDHTU, Dnepropetrovsk, 2002. 184 p. (in Ukrainian).