

ВИЗНАЧЕННЯ ОКСИТЕТРАЦИКЛІНУ ГІДРОХЛОРИДУ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ АМПЕРОМЕТРИЧНОГО ТИТРУВАННЯ 12-МОЛІБДЕНОФОСФАТНОЮ ГЕТЕРОПОЛКІСЛОТОЮ

Ю.В. ТОВСТЕНКО, Т.В. ШКОЛЬНИКОВА, Т.М. ДЕРКАЧ, В.І. ТКАЧ

Український державний хіміко-технологічний університет, м. Дніпропетровськ.

Розроблений спосіб кількісного визначення окситетрацикліну методом амперометричного титрування, в якому 12-молібденофосфатна гетерополікислота використовується як титрант, а індикатором виступає полярографічний пристрій. Спосіб відрізняється достатньою чутливістю ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л), селективністю та експресністю.

Антибіотики як кормові добавки стимулюють окремі біохімічні процеси в організмі тварин, що призводить до поліпшення їх загального стану, прискорення росту, підвищення продуктивності, активізації захисних реакцій. Тому антибіотики використовують не тільки для лікування і профілактики багатьох інфекційних і незаразних хвороб, але і для стимулювання росту і відгодівлі тварин, підвищення їх продуктивності [1]. Близько половини виготовлених антибіотиків використовують у тваринництві. Вони здатні переходити в м'ясо, молоко, яйця птахів, інші продукти. Вміст антибіотиків в деяких харчових продуктах таких як молоко коров'яче, сметана, сир коливається в межах 10-125 мкг/кг, курячі яйця - 350-1150 мкг/кг, форель розвідна – до 2000 мкг/кг. В той же час гранично допустимі концентрації тетрациклінових антибіотиків в продуктах харчування [2] складають: м'ясо і птиця – менше 500 мкг/кг, молоко коров'яче – менше 10 мкг/кг, концентрати сироваткових білків – менше 500 мкг/кг.

Тетрациклінові антибіотики також виявилися найефективнішими препаратами при зберіганні свіжого молока. Окситетрациклін в концентрації 100 мкг/л сприяє збереженню молока до 4 діб при 30⁰С. В той же час, залишки антибіотиків у молоці можуть суттєво погіршити технологічний процес виробництва сирів та деяких інших молочних продуктів, можуть зумовити токсичну, мутагенну дію на організм людини. При пастеризації молока руйнується всього 6-28% антибіотиків [3], а граничні строки виявлення залишків тетрацикліну у тканинах тварин складають 10-20 діб [4]. Згідно з гігієнічними вимогами до якості і безпеки продовольчої сировини і харчових продуктів у продуктах тваринництва регламентується вміст ветеринарних препаратів [5]. У молоці і молочних продуктах визначають пеніцилін, стрептоміцин, левоміцетин і антибіотики тетрациклінової групи; у яйцях і яєчних продуктах - бацитрацин, стрептоміцин, левоміцетин і антибіотики тетрациклінової групи [6]. Так як вміст антибіотиків у продуктах харчування повинен бути регламентованим, актуальною аналітичною проблемою є розробка недорогих, простих та надійних методів аналізу, котрі можуть бути використані в великій мережі лабораторій харчової промисловості.

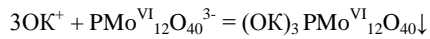
Найбільш поширеними методами ідентифікації і кількісного визначення антибіотиків є хроматографічні

методи. Використання високочутливих мікрометодів рідинної хроматографії дозволяє використовувати для аналізу мінімальні кількості проб [7]. Для виявлення на хроматограмах тетрациклінових антибіотиків використовують біологічні методи (в якості тест-мікробів використовують *Bacillus cereus*), а також хімічні та фізичні методи виявлення. Частіше при хроматографуванні тетрациклінів використовують люмінесцентні методи. При освітленні УФ-світлом тетрациклінові антибіотики, їх похідні та продукти перетворення світяться по-різному, що відрізняє їх при ідентифікації. Використання реєструючого приладу, який записує інтенсивність флуоресценції, дає можливість кількісного визначення усіх компонентів суміші [8,9]. Основним недоліком цих методів є складність та висока вартість обладнання і реагентів, а також довготривалість аналізу. Також відомими на даний час є мікробіологічні методи контролю вмісту антибіотиків. Однак, вони тривалі в часі та потребують спеціальної пробопідготовки зразків.

В той же час, використання електрохімічних методів аналізу (амперометрії та іонометрії) може бути хорошою альтернативою і дає можливість розробити нові прості та експресні способи кількісного визначення вмісту окситетрацикліну в харчових продуктах при поєднанні достатньої чутливості і селективності з простотою та невисокою вартістю обладнання.

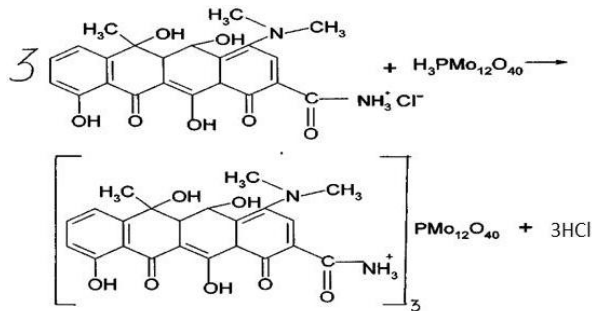
В практиці медично-біологічних досліджень широко використовуються гетерополікислоти (ГПК) структури Кеггіна такі як 12-молібденофосфатна (МФК), 12-вольфрамофосфатна (ВФК) кислоти в якості аналітичних реагентів для визначення ядів, алкалоїдів, лікарських речовин, які вміщують амінний азот (10-12). У той же час, незважаючи на видимі переваги використання гетерополіаніонів (ГПА) цих кислот в аналізі азотвміщуючих органічних речовин, відомості в науковій літературі розрізнені, відсутні поглиблені систематичні дослідження.

Використання гетерополікомплексів структури Кеггіна в амперометричному титруванні базується з однієї сторони на окислювально-відновних властивостях ГПА, їх здатності електрохімічно відновлюватися; а з іншої сторони на здатності ГПА осаджувати значну кількість неорганічних катіонів і більшість азотвміщуючих органічних катіонів (ОК), з утворенням стійких малорозчинних речовин з асоціативним характером хімічного зв'язку.

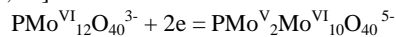


Таким чином, синергетичне сполучення реакції осадження між ГПА структури Кеггіна з азотистими органічними основами і наявність ефективного аналітичного сигналу - граничного дифузійного струму при електрохімічному відновленні ГПА, дозволяють використовувати амперометричне титрування для аналізу азотвміщуючих органічних речовин за допомогою аналітичного реагенту - ГПА структури Кеггіна.

При взаємодії органічного катіону окситетрацикліну з ГПА утворюються малорозчинні у воді осад з іоно-асоціативним характером зв'язку, зі стехіометричним відношенням окситетрациклін: ГПА = 3:1.



При катодній поляризації в межах від +0,5 до -0,5 В органічний катіон окситетрацикліну є неелектроактивною речовиною, в той час як аніон молібдофосфатної ГПК на фоні 0,1 М розчину сульфата натрія дає чітку хвилю відновлення двох атомів молібдену [10, 12]:



Величина сили граничного струму даного електродного процесу лінійно залежить від концентрації ГПК аж до $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Виходячи з того, що між визначуваною речовиною і титрантом проходить реакція утворення малорозчинної сполуки і титрант є електроактивною речовиною можливе амперометричне титрування розчинів окситетрацикліну розчином ГПК із індикацією точки еквівалентності за силою дифузійного струму електровідновлення аніону ГПК.

Методика визначення. Точну наважку органічного катіону окситетрацикліну розчиняли в 5 мл дистильованої води, (при необхідності для розчинення використовують неорганічні кислоти та основи, однак рН середовища повинно бути у межах від 3,5 до 6,0), додавали 5,0 мл 0,1 М розчину Na_2SO_4 в якості фонового електроліту. Розчин кількісно переносили в електрохімічну комірку з системою електродів: індикаторний – обертаючийся графітовий електрод; порівняння – насичений каломельний напівелемент, на яку накладали потенціал +0.10 В (виміри проводили при перемішуванні розчину).

Після встановлення значення нульового струму пробу титрували $1 \cdot 10^{-3}$ М розчином МФК порціями по 0,5мл, фіксуючи при цьому величину граничного струму ($I_{\text{ГР}}$) через 20 с після додавання чергової порції титранту. Титрування проводили до помітного стрибка $I_{\text{ГР}}$. Об'єм титранту, який пішов на титрування

розраховували за кривою амперометричного титрування (рис.1).

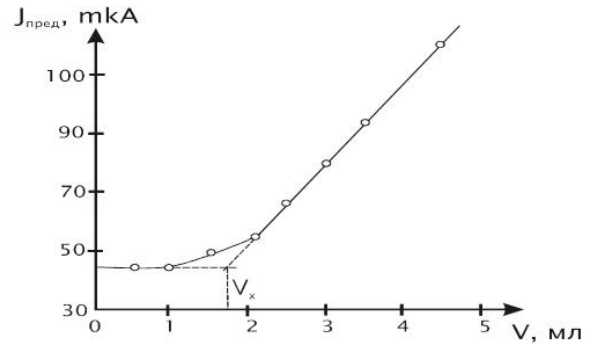


Рис.1– Крива амперометричного титрування 10^{-3} моль/л розчину окситетрацикліну розчином 12-молібдофосфатної ГПК.

$V_{\text{р-ну ОК}} = 5,0$ мл, $C_{\text{МФК}} = 10^{-3}$ моль/л, рН 4,0

Розрахунок вмісту окситетрацикліну проводили за формулою:

$$M = 3 \cdot V_{\text{ГПК}} \cdot C_{\text{ГПК}} \cdot M_{\text{отц}} / 1000$$

де $C_{\text{ГПК}}$ – молярна концентрація молібдофосфорної ГПК; $V_{\text{ГПК}}$ – об'єм титранту (ГПК), який пішов на титрування, мл; $M_{\text{отц}}$ – молекулярна маса окситетрацикліну.

Кількісне визначення окситетрацикліну методом амперометричного титрування характеризується високою чутливістю та доброю відтворюваністю результатів (таблиця 1). Мінімальна визначувана концентрація розчинів складає $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, визначуваний мінімум 30 мкг/мл. Метод дозволяє використовувати для аналізу неочищені розчини окситетрацикліну без попереднього відокремлення супутніх та заважаючих речовин. Час виконання аналізу складає 10-15 хвилин. Результати амперометричного визначення окситетрацикліну в модельних водних розчинах наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Метрологічні характеристики аналізу водного розчину окситетрацикліну методом амперометричного титрування (n=7, P=0,95)

Введено,г	Знайдено, г	Знайдено, %	Метрологічні характеристики
0,0050	0,0048	96,00	X= 98,57% S=2,91 S _x =1,13 S _r =0,03 Δ=±2,65% x±Δ=98,57±2,65%
	0,0049	98,00	
	0,0051	102,00	
	0,0049	98,00	
	0,0050	100,00	
	0,0052	104,00	
	0,0049	98,00	
	0,0049	98,00	

Усе це значно знижує імовірність появи помилок за рахунок втрати речовини в ході аналізу і скорочує час аналізу завдяки селективності, простоті і дешевизні апаратурного оформлення, високій точності визначення малих кількостей речовини у розведених, каламутних і забарвлених розчинах, біологічних рідинах в експрес-аналізі азотвмісних органічних речовин.

Була вивчена можливість використання розробленого амперметричного методу, для аналізу харчових продуктів, а саме молока.

При аналізі молока попередньо було проведено сквашування молока концентрованою хлоридною кислотою для відокремлення білка. Сквашування молока проводили наступним чином: в колбу на 100 мл вносили 50 мл молока та по краплинам добавляли розчин концентрованої хлоридної кислоти, (спочатку з'являється світло-фіолетовий відтінок, який зникає при перемішуванні) до повного осадження білка. Потім розчин фільтрували, перенесли кількісно в мірну колбу на 50 мл і доводили до мітки дистильованою водою. В отриманому розчині визначали вміст окситетрацикліну методом амперметричного титрування за наведеною вище методикою. Результати кількісного визначення окситетрацикліну в сквашеному молоці методом амперметричного титрування (3,2 % жирності) ($x \pm \Delta = 5,86 \pm 0,09$; $S_r = 0,02$ при $n = 7$, $P = 0,95$) та перевірка правильності отриманих результатів методом добавок наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Перевірка правильності амперметричного визначення окситетрацикліну в сквашеному молоці (3,2 % жирності) методом добавок ($n = 7$, $P = 0,95$)

Вміст окситетрацикліну в сквашеному молоці (3,2 % жирності), мг/кг	Добавка окситетрацикліну, мг/кг	$x \pm \Delta$	S_r
5,86	1,00	$6,87 \pm 0,11$	0,02
5,86	2,00	$7,88 \pm 0,19$	0,02
5,86	3,00	$8,91 \pm 0,20$	0,02

Отримані дані підтверджують правильність результатів визначення окситетрацикліну в сквашеному молоці (3,2 % жирності) методом амперметричного титрування та відсутність систематичної помилки.

Таким чином, розроблена експресна та високочутлива методика визначення окситетрацикліну в водних розчинах та в молочних продуктах методом амперметричного титрування, яка дозволяє проводити аналіз без складних етапів прободготовки та попереднього відокремлення заважаючи компонентів.

Перелік посилань

1. Пономарьов П.Х., Сирохман І.В. Безпека харчових продуктів та продовольчої сировини. - К.: Наук.думка, 1999. - 435с.
2. Жванко Ю.Н., Панкратов Г.В. Аналитическая химия и токсикологический контроль в общественном питании. - М.: Высшая школа - 1990 г. - 271с.
3. Домарецький В.А., Остапчук М.В., Українець А.І. Технологія харчових продуктів.- К.: НУХТ, 2003 р - 558с.
4. Рубенчик Б.Л., Костюковский Я.Л., Меламед Д.Б. Профилактика загрязнения пищевых продуктов канцерогенными веществами. - К.: Здоровья, 1983. - 160с.
5. Определение содержания хлорида натрия в маргарине кондуктометрическим методом./Улитин О.А., Косачев В.С.// Масложировая промышленность. - 1990 г. - №6, с. 17-19.
6. Методы контроля качества молока / Брусиловский Л.П., Шевловская В.П. // Сыроделие. - 2000 -№2, с. 22-25.
7. Шарилунова М.В. Хроматография в фармации и клинической биохимии. - М.: Мир, 1986. - 388 с.
8. Самсонов Г.В. Сорбционные и хроматографические методы физико-химического анализа. - М.: Мир, 1986. - 388 с.
9. Шату В.Д., Сахарова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Применение в лекарственных препаратах. - Р.: Знание, 1998. - 390 с.
10. Ткач В.И. Гетерополианионы структуры Кеггина - аналитические реагенты на азотсодержащие органические вещества. Дис. ... д.х.н., Днепропетровск, 1999. - 360 с.
11. Семеновская Е.И. Применение гетерополисоединений в анализе лекарственных препаратов, биологических материалов и в медико-биологических исследованиях //Ж. аналит. химии.- 1986.- Т.41.-№11.- С.1925-1933.
12. Ткач В.І. Гетерополианіони як аналітичні реагенти на азотвмісні органічні речовини.: Дніпропетровськ, ДДУ, 1995. - 196 с.