

УДК 543.053

## Потенціометричне визначення окситетрацикліну гідрохлориду в молочних продуктах

Товстенко Ю.В., Деркач Т.М., Волнянська О.В., Ткач В.І.

Державний вищий навчальний заклад «Український державний хіміко-технологічний університет», м. Дніпропетровськ

*Розроблені експресні та високочутливі методики визначення окситетрацикліну в субстанції та в молочних продуктах методом амперометричного титрування та методом прямої потенціометрії з використанням розробленого ІСЕ.*

**Ключові слова:** окситетрациклін, молочні продукти, пряма потенціометрія, амперметричне титрування

Антибіотики знайшли широке застосування в медицині для боротьби з багатьма інфекційними хворобами [1]. Антибіотики також застосовуються у ветеринарії, для лікування й профілактики інфекційних захворювань тварин, у рослинництві для профілактики бактеріальних і грибкових захворювань рослин; у харчовій промисловості при консервуванні різних харчових продуктів і ін. [2,3]. Близько половини виготовлених антибіотиків використовують у тваринництві. Таким чином, продовольчі товари можуть містити різноманітні антибактеріальні речовини [4,5]. 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 [6-7] складають: м'ясо і птиця – менше 500 мкг/кг, молоко коров'яче – менше 10 мкг/кг.

Найбільш поширеними методами ідентифікації і кількісного визначення антибіотиків є хроматографічні методи. Використання високочутливих мікрометодів рідинної хроматографії дозволяє використовувати для аналізу мінімальні кількості проб [8]. Для виявлення на хроматограмах тетрациклінових антибіотиків використовують біологічні методи, а також хімічні та фізичні методи виявлення. Частіше при хроматографуванні тетрациклінів використовують люмінесцентні методи [9, 10]. Основним недоліком цих методів є складність та висока вартість обладнання і реагентів, а також довготривалість аналізу. Виходячи з цього, необхідно використання простих, експресних, недорогих, надійних та чутливих методів аналізу, які б забезпечували кількісний контроль вмісту

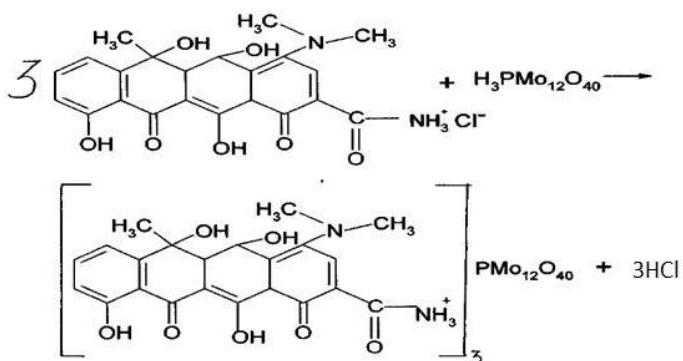
тетрациклінових антибіотиків в лікарських засобах, харчових продуктах і визначали їх якість.

Використання електрохімічних методів аналізу (амперометрії та іонометрії) може бути альтернативою і дає можливість розробити нові прості та експресні способи кількісного визначення вмісту антибіотиків в харчових продуктах при поєднанні достатньої чутливості і селективності з простотою та невисокою вартістю обладнання. Тому, розробка методик визначення вмісту антибіотиків в молочних продуктах електрохімічними методами є актуальною задачею.

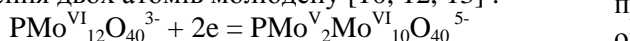
В даній роботі проведено аналітичний моніторинг кількісного визначення вмісту окситетрацикліну в молочних продуктах методом амперометричного титрування та іонометричним методом за допомогою іонселективного електроду, чутливого до органічного катіону окситетрацикліну. Значно полегшує вирішення цієї задачі використання як аналітичних реагентів гетерополіаніонів (ГПА) структури Кеггіна, різноманітні хімічні властивості яких вигідно відрізняють їх від традиційних органічних протиіонів електродноактивних речовин (ЕАР) при розробці іонселективних електродів (ІСЕ). Вивчення реакції взаємодії ГПА з органічними катіонами (ОК) нітрогеновмісних сполук дає змогу використовувати дану реакцію як аналітичну в амперометричному титруванні, а малорозчинний продукт цієї реакції з іонно-асоціативним характером зв'язку між ГПА і ОК – як ЕАР при розробці ІСЕ, оборотних до визначуваного органічного катіона.

При взаємодії органічного катіону окситетрацикліну та його похідних форм з ГПА утворюються малорозчинні у воді осади з іонно-асоціативним характером зв'язку, зі стехіометричним відношенням окситетрациклін:

ГПА = 3 : 1, що підтверджено методом амперометричного титрування:



При катодній поляризації в межах від +0,5 до – 0,5 В органічний катіон окситетрацикліну є неелектроактивною речовиною, в той час як гетерополіаніон молібдофосфатної ГПК на фоні 0,1 М розчину сульфата натрія дає чітку хвилю відновлення двох атомів молібдену [10, 12, 13]:



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.

Співвідношення реагуючих компонентів при взаємодії окситетрацикліну (ОТЦ) з МФК за результатами амперометричного титрування ( $n=5, P=0,95$ ) складають  $(3,1 \pm 0,2) : (1,0 \pm 0,2)$ . Виходячи з результатів амперометричного титрування можна зробити висновки про утворення малорозчинних у воді іонних асоціатів із загальною формулою формулу  $(\text{ОТЦ})_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ .

Отримані сполуки асоціативного характеру зв'язку між ОК та ГПА погано розчинні у воді та добре розчинні в органічних розчинниках і тому можуть бути використані для розробки ІСЕ, оборотних до похідних окситетрацикліну. Відомо, що чутливість та селективність ІСЕ визначається іонним добутком (ІД) розчинності асоціатів, які використовуються як електродноактивні компоненти мембран. Тому було визначено значення іонних добутків синтезованих асоціатів методом амперометричного титрування:

$$\text{ІД}[(\text{ОТЦ})_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}] = [\text{ОТЦ}^+]^3 [\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}] = 2,3 \cdot 10^{-26}$$

Кількісне визначення окситетрацикліну в субстанції методом амперометричного титрування ( $n=7, P=0,95$ ) характеризується високою

чутливістю та доброю відтворюваністю результатів ( $x \pm \Delta = 98,57 \pm 2,65\%$ ,  $S_r = 0,03$ ) і ( $x \pm \Delta = 98,77 \pm 2,46\%$ ,  $S_r = 0,03$ ) відповідно. 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. Була вивчена можливість використання розробленого методу, для аналізу харчових продуктів, а саме молока (3,2 % жирності) на вміст окситетрацикліну. При аналізі молока попередньо було проведено сквашування молока концентрованою хлоридною кислотою для відокремлення білка. Результати кількісного визначення окситетрацикліну методом амперометричного титрування ( $x \pm \Delta = 5,86 \pm 0,09$ ;  $S_r = 0,02$  при  $n = 7, P = 0,95$ ) підтверджують правильність результатів визначення окситетрацикліну в сквашеному молоці (3,2 % жирності) методом амперометричного титрування та відсутність систематичної помилки.

Нами також розроблені іонселективні електроди (ІСЕ), чутливі до органічного катіону ОТЦ з пластифікованою полівінілхлоридною мембраною, в котрій як електродноактивною речовиною (ЕАР) використано іонний асоціат  $(\text{ОТЦ})_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ .

Визначені електродні характеристики розроблених ІСЕ та оптимальні параметри електродів: маса ЕАР  $(\text{ОТЦ})_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$  для виготовлення мембран коливалась в межах 0,001 - 0,005 г, товщина мембрани - 0,5 мм. Аналіз електродних характеристик розроблених ІСЕ проводили при рН в межах 1,5-7,5. Так як молоко має слабо кисле середовище (рН 6,6), а окситетрациклін є стійким в слабокислому та нейтральному середовищах, а також легко руйнується в розчинах кислот і лугів, то дослідження електродних характеристик розроблених ІСЕ та іонометричне визначення окситетрацикліну в молочних продуктах проводили при рН 7,0. Час відгуку електродів складав 40-45 с, інтервал лінійності залежності  $E=f(pC)$  – від  $10^{-5}$  до  $10^{-2}$  моль/л з кутовим нахилом  $S=55-59$  мВ/рС, близьким до Нернстівського значення.

Результати кількісного визначення окситетрацикліну в субстанції іонометричним методом з використанням розроблених ІСЕ складають ( $x \pm \delta$ ) =  $5,05 \pm 0,05$  та  $S_r = 0,02$ ;  $S_x = 0,05$  при ( $n=7, P=0,95$ ) і характеризується високою чутливістю ( $10^{-5}$  моль/л) та доброю відтворюваністю результатів.

Була вивчена можливість використання розробленого іонселективного електроду з електродноактивною речовиною на основі органічного катіону окситетрацикліну та гетерополіаніону 12 – молібдофосфатної гетерополікислоти в аналізі молочної продукції. Під час апробації виготовлених ІСЕ для аналізу молочних продуктів виявилось, що після прямого контакту з молоком характеристики електродів погіршуються. Тому була змінена методика прободготовки молока для іонометричного аналізу. Для запобігання погіршення характеристик електродів після контакту з молочними продуктами запропоновано застосування суміші розчинів ацетатної кислоти та натрій ацетату для відокремлення білків замість концентрованої хлоридної кислоти. Результати кількісного визначення окситетрацикліну в сквашеному молоці іонометричним методом ( $x \pm \Delta = 5,88 \pm 0,07$ ;  $S_r = 0,02$  при  $n = 7$ ,  $P = 0,95$ ) також характеризується високою чутливістю ( $10^{-5}$  моль/л) та доброю відтворюваністю результатів. Виходячи з відомих літературних даних [6-7], окситетрациклін в концентрації 100 мкг/кг сприяє збереженню молока до 4 діб при 30°C. Отже, визначений вміст окситетрацикліну в молоці амперометричним та іонометричним методами перевищує допустимий вміст окситетрацикліну в 5-6 разів.

Таким чином, розроблені експресні та високочутливі методики визначення окситетрацикліну в субстанції та в молочних продуктах методом амперометричного титрування та методом прямої потенціометрії з використанням розробленого ІСЕ.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Лекарственные препараты. / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. – Д.: НПП «Морион Лтд», 1997. – 1030 с.
2. Білоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Взаємодія лікарських препаратів з їжею. // Фармацевтичний журнал. – 2002. - №6. – С. 42-45.
3. Чекман І.С. Клініко-фармакологічні властивості антибіотиків // Сучасні інфекції. – 2001. - №2. – С.76-89.
4. Рубенчик Б.Л., Костюковский Я.Л., Меламед Д.Б. Профилактика загрязнения пищевых продуктов канцерогенными веществами. – К.: Здоров'я, 1983. – 160 с.
5. Габович Р.Д., Припутина Л.С. Гигиенические основы охраны продуктов питания от вредных химических веществ. - К.: Здоров'я, 1987. – 248 с.
6. Фармацевтическая химия. /Под. ред. А.П. Арзамасцева. – 2-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2005. – 640с..
7. Жванко Ю.Н., Панкратов Г.В. Аналитическая химия и технокимический контроль в общественном питании. – М.: Высшая школа – 1990 г. – 271с.7.
8. Шарилунова М.В. Хроматография в фармации и клинической биохимии. – М.: Мир, 1986. – 388 с.
9. Казичина Л.А., Куплецкая Н.В. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектрологии в органической химии.–М.: МГУ, 1979.–240 с.
10. Шату В.Д., Сахарова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Применение в лекарственных препаратах. – Р.: Зинатне, 1998. – 390 с.
11. Ткач В.І. Гетерополіаніони як аналітичні реагенти на азотвміщуючі органічні речовини. – Дніпропетровськ: ДДУ, 1995. – 196с.
12. Никитина Е.А. Гетерополисоединения. - М.: Госхимиздат, 1962. - 305с.
13. Никольский Б.П., Матерова Е.А. Ионселективные электроды. – Л.: Химия, 1980. – 240с.
14. Семеновская Е.И. Применение гетерополисоединений в анализе лекарственных препаратов, биологических материалов и в медикобиологических исследованиях //Ж.аналит. химии.- 1986.- Т.41.-N11.- С.1925-1933.