

4. Аксень, Э.М. Моделирование равновесного состояния экономики / Э.М. Аксень // Весн. Беларус. дзярж. экан. ун-та. — 2006. — № 6. — С. 37–43.

5. Гихман, И.И. Введение в теорию случайных процессов / И.И. Гихман, А.В. Скороход. — М.: Наука, 1977.

6. Пугачев, В.С. Теория стохастических систем / В.С. Пугачев, И.Н. Синецын. — М.: Логос, 2000.

Н.П. МАТВЕЙКО, А.М. БРАЙКОВА, А.С. САВКИНА

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ВИТАМИННЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕТОДОМ ИНВЕРСИОННОЙ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ

В настоящее время в нашей стране реализуется большое количество поли- и мультивитаминных препаратов, в составе которых содержится витамин В₂ (рибофлавин).

Рибофлавин широко распространен в природе. Он входит в состав растительных и животных клеток (рис. 1).

Ряд микроорганизмов и растений обладают способностью к биосинтезу рибофлавина. Животные и человек синтезировать его не могут. Вместе с тем для нормальной жизнедеятельности человека он крайне необходим. При дефиците витамина В₂ происходит нарушение функционирования нервной и сердечно-сосудистой систем, органов пищеварения, наблюдается поражение глаз, кожи и слизистой оболочки, особенно желудочно-кишечного тракта, появляется мышечная слабость, а у детей, кроме того, отмечается задержка роста.

Витамин В₂ поступает в организм человека преимущественно с пищей. Значительные количества этого витамина содержатся в зерновых культурах, мясных и молочных продуктах. Богатым источником рибофлавина являются дрожжевые грибки, особенно пивные дрожжи.

Определение рибофлавина очень важно для оценки качества пищевых продуктов и идентификации действующих веществ в лекарственных формах витаминов группы В. С каждым годом улучшается рецептура детского питания, расширяется ассортимент и увеличивается производство поливитаминных пре-

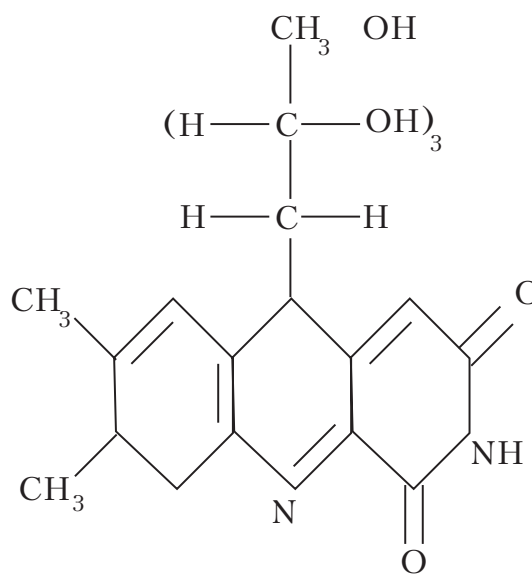


Рис. 1. Структурная формула рибофлавина

Николай Петрович МАТВЕЙКО, доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой физикохимии материалов Белорусского государственного экономического университета;
Алла Мечиславовна БРАЙКОВА, кандидат химических наук, доцент кафедры физикохимии материалов Белорусского государственного экономического университета;
Анна Сергеевна САВКИНА, химик лаборатории НП ЗАО "Малкут".

паратов и продуктов питания. Все это требует совершенствования методов определения микроколичеств рибофлавина в различных объектах.

Известен ряд методов, которые могут быть использованы для определения рибофлавина. Одними из наиболее распространенных являются колориметрический и электрофотокolorиметрический методы, основанные на цветных реакциях, характерных для специфических группировок, входящих в витамин [1]. Однако чувствительность этих методов невелика и составляет $10 - 100 \text{ мг/дм}^3$.

Витамин B_2 определяют также флюорометрическим методом, основанным на использовании способности рибофлавина при облучении в щелочной среде переходить в люмифлавин. Измерение интенсивности флюоресценции последнего проводят после извлечения его из раствора хлороформом [2; 3].

Возможно определение рибофлавина прямой флюорометрией, основанной на способности рибофлавина восстанавливаться в нефлюоресцирующее соединение под действием гидросульфита натрия и измерении интенсивности флюоресценции до и после восстановления рибофлавина. Чувствительность методов составляет $0,08 - 0,2 \text{ мг/дм}^3$. Однако широкого применения эти методы не получили поскольку недостаточно селективны, трудоемки, требуют больших затрат времени, дорогостоящих реактивов и ферментов [2; 3].

В премиксах рибофлавин определяют на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором с использованием обращенно-фазного режима элюирования после экстракции витамина B_2 из навески раствором соляной кислоты [4]. Метод имеет хорошую чувствительность, но требует значительных затрат времени и дорогостоящего оборудования.

Одним из наиболее перспективных методов определения витамина B_2 является метод инверсионной вольтамперометрии, основанный на электрохимическом накоплении определяемого вещества на вращающемся твердом индикаторном электроде с последующим его растворением и регистрацией вольтамперных кривых. Этот простой, экспрессивный, селективный метод, не требующий применения дефицитных ферментов и реактивов.

В работах [5; 6] описана методика инверсионно-вольтамперометрического определения витамина B_2 . В качестве индикаторных применяли три типа углеродных электродов — графитовый (Г), пропитанный полиэтиленом с парафином в вакууме или эпоксидной смолой, пирографитовый (ПГ) и стеклоуглеродный (СУ). Показано, что условия выполнения анализа в значительной степени зависят от типа индикаторного электрода, поскольку величина потенциала окисления витамина B_2 определяется строением, структурой и степенью адсорбируемости на гексагонах углеграфитовых материалов, имеющих π -зонную структуру. По легкости окисления витамина электроды располагаются в ряд: Г $0,28 - 0,37 \text{ В}$; СУ $0,20 - 0,27 \text{ В}$; ПГ $0,18 - 0,25 \text{ В}$. На электродах ПГ и СУ содержание витамина оценивали по высоте анодного пика, регистрируемого в диапазоне потенциалов от $-0,18$ до $-0,30 \text{ В}$ при скорости развертки потенциала $10 - 20 \text{ мВ/с}$ на фоне $0,2 \text{ М}$ раствора хлорида калия с рН $2 - 4$. Концентрирование витамина B_2 проводили при потенциалах $-0,5 - -0,6 \text{ В}$ в течение $60 - 120 \text{ с}$. Предел обнаружения витамина B_2 $1 \cdot 10^{-5} \text{ мг/дм}^3$.

Интересно было провести исследование по определению оптимальных условий выполнения анализа поливитаминных препаратов на содержание в них рибофлавина с применением анализатора вольтамперометрического марки АВА-2, сопряженного с компьютером и оснащенного углесталловым индикаторным электродом. В качестве электрода сравнения применяли хлоридсеребряный полужелез, в качестве вспомогательного электрода — платиновую проволоку.

Определение содержания витамина B_2 методом инверсионной вольтамперометрии требует оптимизации состава и концентрации фонового электролита, потенциала и продолжительности накопления определяемого вещества, скорости развертки потенциала при регистрации вольтамперной кривой.

Для выбора состава фонового электролита были проведены исследования с использованием 0,2 М водного раствора KCl, как это предложено в работах [5; 6], с различным значением рН, которое изменяли в интервале 1–8 введением соответствующего количества HCl. Установлено, что в качестве фонового электролита целесообразно использовать 0,2 М раствор KCl с рН 2–4. В таких растворах фиксируется один максимум тока окисления витамина В₂, а результаты анализа характеризуются хорошей точностью и воспроизводимостью. Более низкие значения рН (рН < 2) и более высокие (рН > 4) нежелательны, так как регистрируемый аналитический сигнал плохо воспроизводится, что снижает точность и чувствительность определения рибофлавина.

Выбор потенциала накопления при определении рибофлавина с использованием углеситаллового электрода осуществляли на основании анализа анодных вольтамперных кривых, зарегистрированных при скорости развертки потенциала 100 мВ/с после накопления вещества при потенциалах -450, -500, -550, -600, -650 и -700 мВ. Содержание рибофлавина в ячейке составляло 2 мг/дм³. Время накопления — 60 с. Регенерацию электрода проводили при потенциале +50 мВ в течение 20 с. Результаты представлены на рис. 2.

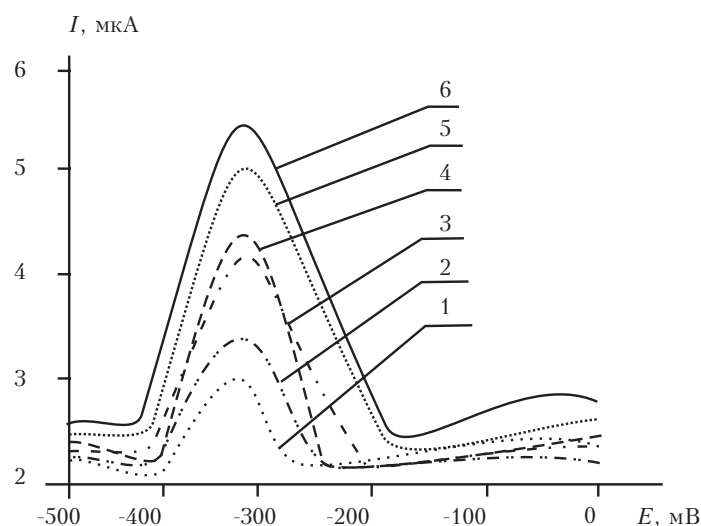


Рис. 2. Анодные вольтамперные кривые углеситаллового электрода, полученные при потенциалах накопления E , мВ: 1 — -450; 2 — -500; 3 — -550; 4 — -600; 5 — -650; 6 — -700. Время накопления 60 с. Содержание рибофлавина 2 мг/дм³.

На всех вольтамперных кривых в области потенциалов от -400 до -200 мВ наблюдается один четко выраженный максимум тока окисления рибофлавина (I , мкА). Наиболее интенсивные пики получены при потенциалах накопления -550, -600, -650 и -700 мВ. Причем относительная погрешность определения составила соответственно, %: 9,7; 2,4; 4,5; 12,5. Это значит, что накопление витамина В₂ при его инверсионно-вольтамперном определении с применением углеситаллового электрода следует проводить в интервале потенциалов -550 — -650 мВ.

Одним из основных параметров, влияющих на результаты анализа, является скорость развертки потенциала. Выбор оптимальной скорости развертки потенциала осуществляли на основании анализа вольтамперных кривых, зарегистрированных при различных значениях скорости развертки. Содержание рибофлавина во всех случаях составляло 10 мг/дм³. Накопление определяемого компонента проводили при потенциале -600 мВ. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Определение содержания рибофлавина при различной скорости развертки потенциала

| Скорость развертки потенциала ω , мВ/с | Найдено рибофлавина, мкг/дм ³ | Интенсивность пика I , мкА | Относительная погрешность определения, % |
|---|--|------------------------------|--|
| 20 | 7 830 | 0,3 | 21,7 |
| 50 | 8 661 | 0,6 | 13,4 |
| 100 | 9 343 | 1,2 | 6,6 |
| 150 | 9 138 | 1,3 | 7,6 |
| 200 | 9 099 | 1,4 | 7,1 |
| 250 | 9 304 | 1,5 | 7,0 |
| 300 | 9 193 | 1,7 | 7,8 |
| 400 | 9 582 | 2,3 | 9,2 |
| 500 | 8 872 | 2,4 | 11,4 |
| 600 | 8 653 | 2,6 | 13,5 |

Видно, что с увеличением скорости развертки потенциала возрастает интенсивность пика окисления рибофлавина. Однако относительная погрешность определения рибофлавина при высокой скорости развертки потенциала (500, 600 мВ/с) составляет более 11 %, что почти в 2 раза превышает погрешность при использовании скорости развертки 100 – 400 мВ/с. Уменьшение скорости развертки потенциала также приводит к возрастанию относительной погрешности (13–22 %). Кроме того, при малой скорости развертки потенциала (50 и 20 мВ/с) интенсивность пика незначительна, что затрудняет определение рибофлавина. Таким образом, регистрацию вольтамперной кривой целесообразно проводить при скорости развертки потенциала 100–400 мВ/с.

Известно, что время накопления зависит от концентрации определяемого компонента в растворе. Чем выше концентрация, тем меньше время накопления, и наоборот, чем ниже концентрация, тем больше время накопления. Однако для каждого определяемого компонента оптимальное время накопления различно. В этой связи интересно исследовать влияние времени накопления при инверсионно-вольтамперметрическом определении витамина В₂. С этой целью были зарегистрированы анодные вольтамперные кривые при времени накопления, с: 30, 60, 90, 120, 150. Концентрация витамина В₂ составляла 2 мг/дм³, скорость развертки потенциала – 100 мВ/с. Установлено, что при накоплении вещества в течение 60–120 с вольтамперные кривые имеют один хорошо выраженный максимум тока окисления рибофлавина.

Уменьшение времени накопления (<60 с) приводит к существенному уменьшению величины предельного диффузионного тока, в результате чего снижается чувствительность определения витамина В₂. С увеличением времени накопления (>120 с) возрастает относительная погрешность определения до 20 %, при этом значительно снижается экспрессность анализа.

Аналогичным образом влияет время накопления при других концентрациях рибофлавина в растворе.

С применением установленных условий выполнено инверсионно-вольтамперметрическое определение рибофлавина в витаминных комплексах. Концентрирование проводили при потенциале -600 мВ, скорость развертки потенциала составляла 100 мВ/с. Предварительно 4 г водорастворимого витаминного комплекса растворяли в 50 мл дистиллированной воды до полного прекращения выделения газа. Затем отбирали 6 мл приготовленного раствора и добавляли 4 мл фонового электролита (0,2 моль/дм³ КСl). В полученную смесь по каплям вводили 10 М раствор соляной кислоты до тех пор, пока не устанавливался рН 3–4. Содержание рибофлавина определяли методом добавок. Результаты анализа проб различных витаминных комплексов представлены в табл. 2.

Таблица 2. Определение содержания рибофлавина в одной таблетке различных витаминных комплексов

| Витаминный комплекс | Концентрация рибофлавина в ячейке, мг/дм ³ | Содержание рибофлавина, указанное на упаковке, мг/1 таблет. | Содержание рибофлавина, установленное экспериментально, мг/ 1 таблет. |
|-------------------------|---|---|---|
| “Витус лайт” | 21,2 | 2,0 | 1,8±0,12 |
| “Витус гравитус” | 24,2 | 2,0 | 2,0±0,13 |
| “Вибовит юниор” | 13,8 | 1,2 | 1,2±0,08 |
| “Витус М” | 21,7 | 2,0 | 1,8±0,12 |
| “Виталис мультивитамин” | 17,8 | 2,0 | 1,5±0,10 |
| “Крюгер мультивитамин” | 15,5 | 1,6 | 1,3±0,09 |
| “Витус йод” | 13,9 | 2,0 | 1,2±0,07 |
| “Витус интеллект” | 17,2 | 2,0 | 1,5±0,09 |

Видно, что содержание витамина В₂, установленное методом инверсионной вольтамперометрии, практически соответствует содержанию, указанному на упаковке. Исключение составляют витаминные комплексы “Виталис мультивитамин”, “Витус йод”, “Витус интеллект”, для которых экспериментально установленное содержание витамина на 25–40 % меньше, указанного на упаковке, что подтверждает необходимость контроля витаминов.

Было изучено также распределение витамина В₂ в пределах одной упаковки витаминного комплекса, содержащей 10 таблеток. В качестве анализируемого объекта был выбран витамин “Крепыш”. Результаты анализа приведены в табл. 3.

Таблица 3. Определение витамина В₂ в упаковке витамина “Крепыш”

| Витамины | Концентрация витамина В ₂ в ячейке, мг/дм ³ | Содержание витамина В ₂ , указанное на упаковке, мг/ 1 таблет. | Содержание витамина В ₂ , установленное экспериментально, мг/ 1 таблет. |
|--------------------------|---|---|--|
| “Крепыш”, 10 таблеток | 8,3 | 1,2 | 1,0±0,06 |
| | 8,8 | | 1,1±0,07 |
| | 9,2 | | 1,1±0,06 |
| | 9,4 | | 1,2±0,07 |
| | 8,4 | | 1,1±0,07 |
| | 8,4 | | 1,1±0,06 |
| | 9,3 | | 1,2±0,07 |
| | 9,6 | | 1,2±0,06 |
| | 9,1 | | 1,1±0,06 |
| | 9,5 | | 1,2±0,06 |

Видно, что содержание рибофлавина в одной таблетке витамина “Крепыш”, установленное экспериментально, соответствует содержанию, указанному на упаковке.

Таким образом, выполненные нами исследования показали, что определение витамина В₂ в витаминных комплексах можно проводить методом инверсионной вольтамперометрии с применением углеситаллового индикаторного электрода практически в тех же условиях (за исключением скорости развертки потенциала), что и на электродах из пирографита и стеклоуглерода [5; 6].

При этом определение рибофлавина по предлагаемой методике полностью автоматизировано, длительность анализа витаминных комплексов приблизительно 10 мин. Относительная погрешность определения рибофлавина не превышает 7 %. Чувствительность методики — 2 мг/дм³.

Литература

1. Кушманова, О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / О.Д. Кушманова, Г.М. Ивченко. — М.: Медицина, 1983.
2. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витаминов В₁ и В₂: ГОСТ 25999-83. Введ. 01.01. 85. — М.: Госкомитет по стандартам, 1984.