



ІПКЄФ
НФДУ



Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації

Матеріали

*II Науково-практичної Internet-конференції
з міжнародною участю*

ФАРМАЦЕВТИЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Харків, 22 травня 2025

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОГЕН ПЕРОКСИДУ У НАТУРАЛЬНИХ МЕДАХ

Блажеєвський М. Є., Криськів О. С., Мороз В. П., Шпичак О. С.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

oleg.kryskiw@gmail.com

Вступ. Гідроген пероксид (ГП) є високоефективним та нетоксичним дезінфектантом, оскільки пероксиди швидко знищують різні мікроорганізми. ГП у дуже малих концентраціях (~5-10 мг/кг) міститься в натуральному меді та є найважливішою складовою природної антибактеріальної системи таких продуктів. ГП утворюється в меді та продуктах бджільництва під впливом глюкооксидази – ферменту, що виробляється ковтоковими залозами бджіл. У результаті окиснення глюкози, що каталізується глюкооксидазою, утворюються ГП і глюконова кислота.

Вельми актуальним убачається опрацювання сучасних методів визначення кількісного вмісту біологічно-активних речовин, які входять до його складу, зокрема ГП. Відомий спосіб кількісного визначення ГП в меді, що полягає в окисненні ГП 3,3'-диметоксибензидину (*o*-діанізидину) в присутності пероксидази. 3,3'-диметоксибензидин при окисненні перетворюється на забарвлену хіноїдну структуру, яка поглинає при довжині хвилі 450 нм, а відтак дозволяє судити про кількість ГП. Цей спосіб застосовувався у наукових дослідженнях щодо біологічних властивостей меду, але кількісного аналізу не може бути рекомендований. Крім того, *o*-діанізидин є канцерогенною речовиною і тому робота з ним створює небезпечні умови праці.

Повідомлений метод кількісного визначення ГП в натуральних медах та інших продуктах бджільництва, що включає взаємодію ГП з надлишком калій йодиду в сильно кислому середовищі, що призводить до утворення забарвленого утворює при окисненні забарвлений продукт – йод у вигляді комплексного трийодид-аніону, кількість якого визначають спектрофотометрично (довжина хвилі реєстрації $\lambda_{\max} = 352$ нм, $\varepsilon (I_3^-) = 26400$ л·моль⁻¹·см⁻¹), а відтак розраховують вміст ГП в аналізованому продукті в мг на кг продукту.

До наважки зразка меду масою 1 г ($m_{\text{нав}}$) додають двічі дистильовану воду до об'єму 2 мл і перемішують. Отримані 2 мл розчину розділяють на два однакові зразки розчину (кожний об'ємом 1,00 мл) і використовують для паралельного визначення. До 1 мл зазначеного розчину доливають 1 мл розчину сульфатної кислоти (0,2 моль/л), продувають вуглекислим газом або іншим важким інертним газом з метою витіснення кисню і змішують з 2 мл також знеокисненого 5 % (мас.) водного розчину калій йодиду, після чого проводять два продування вуглекислим газом. Два отриманих аналітичних розчини (об'ємом 4 мл, що містять $\frac{1}{2} m_{\text{н}}$) залишають при температурі 20-22°C у темряві на добу (для гарантії повного завершення реакції вивільнення йоду, а відтак кількісного утворення трийодид-аніону).

Від знайденого значення світлопоглинання A необхідно відняти власне поглинання розчину відповідного зразка меду, аналогічним чином розбавленого дистильованою водою, в тому ж спектральному діапазоні (або використовувати

такий розчин як порівняльний). Суттєвим недоліком цього способу є довготривалість виконання аналізу, а також необхідність витіснення кисню з досліджуваних розчинів.

Мета дослідження – опрацювання методу кількісного визначення ГП у натуральних медах, який буде значно менш складним та трудомістким, дозволить відмовитися від використання токсичних реагентів та відрізнятиметься високою чутливістю та експресністю.

Методи дослідження. Визначення ґрунтується на реакції каталітичного окиснення люмінолу ГП в сильно лужному середовищі в присутності гемоглобіну крові людини (ліофілізована форма, Hb) з наступною реєстрацією інтенсивності хемілюмінесценції (ХЛ) на хемілюмінометрі в часі.

Хід аналізу. Біля 0,2 г меду (точна наважка) розчиняють у 2,00 мл двічі дистильованої води і наповнюють розчином піпетковий дозатор.

У кювету хемілюмінометра послідовно вносять лужний розчин люмінолу і розчин гемоглобіну і енергійно струшують кювету декілька разів. Після цього, встановлюють кювету у світлонепроникну камеру хемілюмінометра, відкривають шторку і вливають за допомогою піпеткового дозатора на 0,5 мл розчин досліджуваного зразка меду (чи такого розчину з добавкою стандартного розчину ГП), реєструючи інтенсивність виникаючої хемілюмінесценції в часі за допомогою швидкодійного самопишучого потенціометра.

Визначають максимальну інтенсивність хемілюмінесценції в умовних одиницях (мілівольтах). Паралельно проводять дослід аналогічно, як перше, лише за відсутності гемоглобіну. За аналітичний сигнал використовують різницю у значеннях величин максимальної інтенсивності ХЛ в робочому досліді та у такому досліді без Hb (ΔI хл).

Вміст гідроген пероксиду знаходять методом добавок стандартного розчину гідроген пероксиду у випробуваний розчин меду.

Оптимальні концентрації люмінолу та гемоглобіну становили 0,1 мкМ та 70 мкМ відповідно. рН розчину було доведено до 12,8 за допомогою NaOH.

Максимальне випромінювання та співвідношення сигнал/шум були досягнуті в перші секунди вимірювання, і вони швидко падають протягом першої хвилини.

Результати дослідження. Нижня межа кількісного визначення у випробуваному розчині становила 60 нМ, $RSD \leq 3 \%$. Було виявлено, що реакція СЛ є лінійною між 60-2000 нМ H_2O_2 . Вміст ГП у липовому меді становить 10-14 мг/кг, у гречаному меді – 8-10 мг/кг, у меді різнотрав'я – 7-14 мг/кг, у соняшниковому меді – 4-5 мг/кг.

Висновки. Опрацьована експресна високочутлива хемілюмінесцентна методика та показана можливість кількісного визначення гідроген пероксиду у натуральних медах.