

повышения жизнеспособности и продуктивности дубового шелкопряда на дубе и нетрадиционном кормовом растении – березе свидетельствует о его высокой эффективности, так как при использовании 20–30%-ного водного раствора препарата наблюдается позитивное влияние на работу пищеварительной системы гусениц. При этом повышается уровень усвоения и утилизации корма насекомыми, что способствует повышению продуктивности дубового шелкопряда. Исследуемые препараты аквоаминофосфатов микроэлементов имеют высокую биологическую активность и повышают иммуннобиологический потенциал насекомых. Использование аквоаминофосфатов микроэлементов для обогащения корма способствует повышению уровня метаболизма у гусениц, что стимулирует их рост, развитие и шелкопродуктивность имаго. Наиболее высокие показатели физиологического состояния дубового шелкопряда получены при воздействии аквоаминофосфата Cu-Zn.

**Заключение.** Сравнительный анализ развития дубового шелкопряда в зависимости от вида биопрепарата показал, что самыми лучшими биостимуляторами являются: препарат «Риверм», экстракт пыльцы дуба, белково-витаминный препарат грибного происхождения и аквоаминофосфат Cu-Zn.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИЦИНА В ТАБЛЕТКАХ

*А.К. Жерносек, С.А. Парафенюк  
Витебск, ВГУ им. П.М. Машерова*

Аминокислота глицин используется в качестве лекарственного средства метаболического действия [1]. Контроль качества субстанции и таблеток глицина проводят титриметрическими, спектрометрическими и хроматографическими методами. В Государственной фармакопее Республики Беларусь [2] описана методика идентификации глицина методом ТСХ с использованием в качестве неподвижной фазы целлюлозы, а в качестве подвижной – смеси ледяной уксусной кислоты, воды и бутанола (20:20:60). Для проявления хроматограмм применяют раствор нингидрина в смеси бутанола-1 и уксусной кислоты (95:5). Авторами [3] предложена методика фотометрического определения глицина, основанная на взаимодействии с нингидрином. Данная методика не лишена недостатков. Так, реакцию проводят при температуре 120°C, не совсем корректно подобраны оптимальное количество реагента и аналитическая длина волны.

Целью данного исследования является разработка простых и хорошо воспроизводимых методик идентификации и количественного определения глицина в таблетках.

**Материал и методы.** Объектами исследования служили субстанция глицина фармакопейной чистоты, а также таблетки глицина производства ООО «Медицинский научно-производственный комплекс «БИОТИКИ». Другие использованные реагенты имели квалификацию «ч.д.а». Для хроматографического разделения применяли пластины для ТСХ Силуфол и Сорбфил. Оптическую плотность растворов измеряли с помощью фотометра фотоэлектрического КФК-2 и спектрофотометра СФ-2000.

**Результаты и их обсуждение.** Для идентификации глицина в таблетках нами применена тонкослойная хроматография на силикагеле. В качестве подвижной фазы взята смесь пропанола-2 и воды (70:30 по объёму). Такая подвижная фаза описана в ли-

температуре для разделения аминокислот [4]. В качестве реагента для проявления хроматограмм нами исследованы этанольный, ацетоновый и водный растворы нингидрина. Не обнаружено различий в скорости появления и интенсивности окраски пятен глицина на хроматограммах, поэтому для проявления хроматограмм может быть использован водный раствор нингидрина. Величина  $R_f$  глицина находится в диапазоне  $0,68 \pm 0,02$ . Не найдено статистически достоверных различий между величинами  $R_f$  глицина-стандарта и глицина, входящего в состав таблеток.

Спектр поглощения окрашенного продукта реакции глицина с нингидрином в диапазоне 300–700 нм имеет две полосы поглощения: узкую с максимумом при 400 нм и широкую – с максимумом при 570 нм. Интенсивность поглощения продукта фотометрической реакции в обоих максимумах приблизительно одинакова. Для измерения оптической плотности на фотоэлектроколориметре лучше подходит более широкая полоса. Оптимальным для измерения оптической плотности является светофильтр с максимумом пропускания при 590 нм.

Исследована зависимость оптической плотности окрашенных растворов от времени нагревания реакционной смеси на кипящей водяной бане. Максимальные и постоянные значения оптической плотности растворов наблюдаются при их нагревании в течение 20 минут.

Определено оптимальное количество реагента для фотометрического определения глицина. В качестве оптимальной выбиралась такая концентрация реагента, которая бы позволила получить линейную зависимость оптической плотности от концентрации глицина с верхней границей величины оптической плотности не менее 0,9. Для получения такой величины аналитического сигнала необходимо брать 4,0 мл 0,2% раствора нингидрина.

Исследована зависимость оптической плотности окрашенных растворов от времени её измерения. В течение первых 20 минут оптическая плотность уменьшается на 1–1,5%. Через час она уменьшается на 10% и далее в течение нескольких часов изменяется незначительно. Через 18 часов величина оптической плотности раствора составляет 60% от исходной. Таким образом, измерение оптической плотности растворов можно проводить в течение первых 10–15 минут после их получения, либо по прошествии 1 часа.

В состав таблеток глицина входят вспомогательные вещества: магния стеарат – 1 мг, метилцеллюлоза водорастворимая – 1 мг (на 100 мг глицина). Данные вещества не мешают фотометрическому определению глицина по реакции с нингидрином.

На основании результатов изучения оптимальных условий проведения фотометрической реакции глицина с нингидрином разработана методика определения глицина в таблетках. Точную навеску порошка растёртых таблеток (около 0,1 г) растворяют в воде очищенной в мерной колбе вместимостью 100,0 мл. Объём раствора доводят тем же растворителем до метки. После отстаивания 1,00 мл полученного раствора помещают в пробирку, добавляют 4 мл 0,2% водного раствора нингидрина и нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 минут. После охлаждения реакционную смесь количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100,0 мл и доводят её объём водой очищенной до метки. Измеряют оптическую плотность при 590 нм и толщине поглощающего слоя 1 см. Параллельно проводят реакцию нингидрина со стандартным образцом глицина. Для этого 1,00 мл раствора с концентрацией глицина 1,00 мг/мл помещают в пробирку, добавляют 4 мл 0,2% водного раствора нингидрина и далее поступают так, как описано выше для раствора, полученного из таблеток.

Валидация методики определения глицина проводилась по параметрам линейности, диапазону применения и сходимости. Оптическая плотность подчиняется основному закону светопоглощения в области концентраций глицина 1–15 мкг/мл. Диапазон применения методики составляет 5–15 мкг/мл глицина в конечном растворе. Чувствительность определения при 590 нм в 1,7 раз выше, чем при 400 нм. Воспроизводимость результатов, полученных при 590 нм, лучше, чем при 400 нм. Градуировочная зависимость при 590 нм описывается уравнением без свободного члена, что позволяет использовать для расчёта метод одного стандартного раствора.

В результате анализа образца таблеток с помощью разработанной методики, установлено, что масса глицина, считая на среднюю массу одной таблетки, составляет  $(99,4 \pm 0,7)$  мг;  $S_r = 6,70 \cdot 10^{-2}$ .

Методика фотометрического определения глицина использована нами для оценки однородности дозирования данного вещества в таблетках. Определение проводили параллельно при 590 нм и 400 нм. Установлено, что содержание глицина в испытуемых таблетках колеблется от 98 до 106 мг. Результаты определения при двух длинах волн не имеют статистически значимых различий.

**Заключение.** Разработаны экспрессные и не требующие дорогостоящих реагентов и оборудования методики идентификации (ТСХ) и фотометрического определения глицина в таблетках при помощи водного раствора нингидрина.

#### Список литературы

1. Глицин [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://ru.wikipedia.org/wiki/Глицин>. – Дата доступа: 06.02.2012.
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: «Типография «Победа», 2009. – С. 245–247.
3. Разработка доступного метода количественного определения  $\alpha$ -аминокислот / А.А. Саламатов [и др.] // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и администрации Волгоградской области. – 2007. – № 2. – С. 17–19.
4. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография / Ю. Кирхнер. – М.: Мир, 1981. – Т. 1. – С. 482.

### АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТАХ ПРИ ЗАМОРАЖИВАНИИ

*И.А. Конюшко, У.В. Киречко  
Витебск УО «ВГУ им. П.М. Машерова»*

Одной из важнейших неспецифических реакций растительных организмов на неблагоприятные факторы среды является генерация активных форм кислорода и индуцируемое ими изменение уровня активности защитных антиоксидантных систем [1]. Умеренная активация процессов липопероксидации в ответ на действие неблагоприятного фактора является одним из адаптационных механизмов и направлена на увеличение проницаемости клеточной мембраны и облегчение работы мембранных белков. Однако, выходя за определенные пределы, эти сдвиги могут приобрести самостоятельное патогенетическое значение, которое проявляется денатурацией и инактивацией белков, делипидизацией мембран, нарушением деления и роста клеток [1, 2].