

УДК 615.322.074:543.422.3

## КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ КАПСУЛ «БИОАСТИН»

Курегян А.Г.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: Kooreguan@mail.ru*

**Капсулы «Биоастин» – это биологически активная добавка к пище (БАД), содержащая астаксантин. Предложена спектрофотометрическая методика качественного и количественного определения астаксантина в капсулах «Биоастин». Проведен анализ двух серий БАД в соответствии с разработанной методикой. В ходе исследования в образцах капсул обеих проанализированных серий идентифицирован астаксантин. Количественное содержание действующего вещества в капсулах обеих серий находилось в пределах нормы, заявленной производителем – 4–5 мг/капсуле. Таким образом, предложенная методика позволяет проводить качественный и количественный анализ астаксантина в капсулах «Биоастин».**

Ключевые слова: каротиноиды, биологически активные добавки к пище, астаксантин, спектрофотометрия, качественный и количественный анализ.

## QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS CAPSULES "BIOASTIN"

Kuregyan A.G.

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of SEI HPE Volgograd state medical university MH RF, Pyatigorsk, e-mail: Kooreguan@mail.ru*

**Capsules «Bioastin» – is a biologically active food additive (BAA) containing astaxanthin. A spectrophotometric method of qualitative and quantitative determination of astaxanthin capsules «Bioastin». The analysis of the two series of supplements in accordance with the established procedure. In the study, samples of both capsules analyzed a series of identified astaxanthin. The quantitative content of active ingredient in the capsules of both series were in the normal range, declared by the manufacturer – 4–5 mg/capsule. Thus, the proposed method allows for qualitative and quantitative analysis of astaxanthin capsules «Bioastin».**

Keywords: carotenoids, dietary food supplements, astaxanthin, spectrophotometry, qualitative and quantitative analysis.

Каротиноиды являются классическими природными пигментами, представители которых содержат единый полиеновый хромофором. Наличие во всех молекулах каротиноидов ациклической структуры  $C_{40}H_{56}$  с длинной центральной цепью сопряженных двойных связей связывают с их общими основными фармакологическими свойствами, в частности, провитаминной, антиоксидантной, фотопротекторной, антиканцерогенной активностями [1, 4, 5].

Практически при повсеместном распространении каротиноидов и возникновении серьезных патологических состояний при их дефиците организм человека не способен к синтезу этих соединений. Поддержание уровня этой группы биологически активных веществ (БАВ) в пределах физиологической нормы возможно или при сбалансированном питании, или с биологически активными добавками к пище (БАД). Широкое использование БАД в практической профилактической медицине делает актуальными вопросы качества средств, повышающих качество жизни, что неразрывно связано с совершенствованием методов их анализа.

**Цель исследования** – качественный и количественный анализ капсул «Биоастин» методом спектрофотометрии.

#### **Объекты и методы исследования**

*Объект исследования.* Капсулы «Биоастин» № 30, содержащие натуральный астаксантин от 4 до 5 мг/капс., серии 23.12.13 и 25.12.13, производитель – «Cyanotech Corporation», США, фасовка – ООО «В-МИН», г. Сергиев Посад, Московская обл., РФ.

*Методика количественного определения астаксантина в капсулах:*

*Приготовление испытуемого раствора.* Содержимое одной капсулы количественно переносили в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяли в 50 мл или гексана, или хлороформа, или ацетона и доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор А).

10 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор Б).

*Приготовление раствора стандартного образца (СО) астаксантина.* Точную навеску СО астаксантина равную 0,01000 г помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 50 мл или гексана, или хлороформа, или ацетона доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор А).

1 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем (раствор Б).

Для растворов Б испытуемого образца и СО астаксантина регистрировали спектры поглощения в диапазоне длин волн от 200 до 700 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, в качестве раствора сравнения использовали гексан, хлороформ или ацетон соответственно.

Идентификацию образцов проводили по положению максимума оптической плотности и профилю электронных спектров в гексане, хлороформе или ацетоне.

Содержание астаксантина в образцах (X, мг/капс.) с учетом удельного показателя поглощения рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot N}{A_{1\text{см}}^{1\%}},$$

где  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$A_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель светопоглощения для раствора астаксантина в гексане и хлороформе – 2100 [6, 7], для раствора в ацетоне – 2500 [8];

N – коэффициент, учитывающий разведения, N=20000.

Содержание астаксантина в образце ( X, мг/капс.) по СО рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot N}{A_{ст}}$$

где  $A_x$  – оптическая плотность испытуемого раствора;

$A_{ст}$  – оптическая плотность раствора СО астаксантина;

$N$  – коэффициент, учитывающий разведения – 2.

### **Результаты и их обсуждение**

В соответствии с данными литературы [2, 6, 7] спектр поглощения раствора астаксантина в гексане имеет максимум оптической плотности при  $468 \pm 2$  нм. Для электронного спектра раствора поглощения астаксантина в хлороформе должен быть установлен максимум поглощения при  $485 \pm 2$  нм. Для этих двух длин волн и растворителей табличным значением удельного показателя поглощения астаксантина является величина 2100 [6, 7]. На спектре поглощения раствора астаксантина в ацетоне должен фиксироваться максимум поглощения при  $480 \pm 2$  нм, удельный показатель поглощения в этих условиях – 2550 [8].

Идентификацию астаксантина в капсулах «Биоастин» проводили по положению максимума поглощения, для повышения достоверности результата в эксперименте использовали три органических растворителя – гексан, хлороформ и ацетон [2].

Результаты анализа показали, что на спектрах поглощения растворов образцов обеих серий капсул «Биоастин» в гексане установлен максимум поглощения при 468 нм. Электронные спектры поглощения растворов образцов этих же капсул в хлороформе имели максимум оптической плотности при 483 нм. Последующие испытания показали, что на спектрах поглощения растворов капсул обеих серий в ацетоне фиксировался максимум поглощения при 479 нм.

Следует отметить, что положения максимумов оптической плотности на спектрах поглощения растворов капсул «Биоастин» в гексане, хлороформе и ацетоне соответствовали положению максимумов поглощения СО астаксантина в этих растворителях, что позволило дополнительно подтвердить подлинность капсул.

На основании полученных результатов можно констатировать, что анализ образцов капсул «Биоастин» методом спектрофотометрии с использованием трех растворителей и СО астаксантина позволил достоверно идентифицировать астаксантин и подтвердить подлинность этой БАД к пище.

На следующем этапе исследования была проведена количественная оценка содержания действующего вещества БАД – астаксантина. В качестве СО в эксперименте был использован астаксантин, выделенный из панцирей креветок методом жидкостной экстракции [3].

Результаты определения количественного содержания астаксантина в капсулах «Биоастин» (растворитель – гексан) представлены в таблице 1.

**Таблица 1**

Результаты количественного определения астаксантина в капсулах «Биоастин» (растворитель – гексан)

Оптическая плотность	Расчет по удельному показателю поглощения астаксантина в гексане		Расчет по СО астаксантина	
	количественное содержание, мг/капс.	метрологические характеристики	количественное содержание, мг/капс.	метрологические характеристики
<b>серия 23.12.13</b>				
0,460	4,38	$\bar{x} = 4,32$ $S\bar{x} = 2,83 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 7,28 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 1,68$	4,47	$\bar{x} = 4,41$ $S\bar{x} = 2,94 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 7,56 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 1,72$
0,448	4,27		4,35	
0,444	4,23		4,31	
0,463	4,41		4,49	
0,450	4,29		4,37	
0,457	4,35		4,44	
<b>серия 25.12.13</b>				
0,460	4,38	$\bar{x} = 4,30$ $S\bar{x} = 3,58 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 9,21 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 2,14$	4,47	$\bar{x} = 4,39$ $S\bar{x} = 3,79 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 9,74 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 2,22$
0,449	4,28		4,36	
0,444	4,23		4,31	
0,462	4,40		4,49	
0,439	4,18		4,26	
0,457	4,35		4,44	

Как следует из данных, представленных в таблице 1, содержание астаксантина в капсулах «Биоастин» при проведении расчетов обоими способами соответствовало заявленной норме – 4-5 мг/капс. [6].

При расчете по удельному показателю поглощения для серии 23.12.13 минимальное содержание астаксантина составило 4,23 мг/капс., максимальное – 4,41 мг/капс. Относительная погрешность определения не превысила 1,7 %. Количественное содержание астаксантина для серии 25.12.13 колебалось от 4,18 до 4,40 мг/капс. с относительной погрешностью результата – 2,1 %.

Результаты расчета содержания астаксантина в капсулах по СО свидетельствуют, что интервал содержания действующего вещества для серии 23.12.13 составляет от 4,31 до 4,49 мг/капс., для серии 25.12.13 – от 4,26 до 4,49 мг/капс.

Как показали результаты эксперимента, при расчете содержания астаксантина по удельному показателю поглощения для обеих серий содержание астаксантина в среднем составило 4,3 мг/капс., аналогичный показатель при анализе с использованием СО астаксантина оказался равным 4,4 мг/капс.

Далее было проведено количественное определение астаксантина в образцах капсул «Биоастин» серий 23.12.13 и 25.12.13 с использованием в качестве растворителя хлороформа. Результаты этих испытаний представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты количественного определения астаксантина в капсулах «Биоастин»  
(растворитель – хлороформ)

Оптическая плотность	Расчет по удельному показателю поглощения астаксантина в хлороформе		Расчет по СО астаксантина	
	количественное содержание, мг/капс.	метрологические характеристики	количественное содержание, мг/капс.	метрологические характеристики
<b>серия 23.12.13</b>				
0,433	4,13	$\bar{x} = 4,18$ $S\bar{x} = 3,68 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 9,46 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 2,26$	4,20	$\bar{x} = 4,28$ $S\bar{x} = 4,26 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 0,000109$ $\varepsilon\% = 2,56$
0,426	4,06		4,14	
0,438	4,17		4,36	
0,449	4,28		4,36	
0,452	4,29		4,39	
0,435	4,14		4,22	
<b>серия 25.12.13</b>				
0,428	4,08	$\bar{x} = 4,20$ $S\bar{x} = 4,19 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 0,000108$ $\varepsilon\% = 2,56$	4,16	$\bar{x} = 4,28$ $S\bar{x} = 4,37 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 0,000112$ $\varepsilon\% = 2,65$
0,440	4,19		4,27	
0,439	4,18		4,26	
0,451	4,30		4,38	
0,456	4,34		4,43	
0,431	4,11		4,18	

Анализ результатов, представленных в таблице 2, позволяет сделать вывод о том, что содержание астаксантина в капсулах «Биоастин» при использовании в качестве растворителя хлороформа соответствовало норме и находилось в интервале 4–5 мг/капс. [6]. Причем, если в расчетах был использован удельный показатель поглощения, то для серии 23.12.13 минимальное содержание оказалось равным 4,06 мг/капс., а максимальное составило 4,29 мг/капс. Для серии 25.12.13 значение количественного содержания астаксантина составило от 4,18 до 4,34 мг/капс.

Расчеты содержания астаксантина в капсулах по СО показали, что диапазон содержания действующего вещества для серии 23.12.13 – это от 4,20 до 4,39 мг/капс. и для серии 25.12.13 – от 4,16 до 4,43 мг/капс. Относительная погрешность определения для обоих способов расчета не превысила 2,7 %.

При расчете содержания астаксантина с использованием удельного показателя поглощения для обеих серий среднее содержание астаксантина составило 4,2 мг/капс., этот же показатель при анализе по СО астаксантина находился около 4,3 мг/капс.

На следующем этапе исследования было проведено количественное содержание астаксантина в капсулах «Биоастин», в котором в качестве растворителя был использован ацетон. Для этих условий определения был применен удельный показатель поглощения равный 2550 [8].

Результаты определения количественного содержания астаксантина в капсулах «Биоастин» (растворитель – ацетон) представлены в таблице 3.

**Таблица 3**

Результаты количественного определения астаксантина в капсулах «Биоастин» (растворитель – ацетон)

Оптическая плотность	Расчет по удельному показателю поглощения астаксантина в ацетоне		Расчет по СО астаксантина	
	количественное содержание, мг/капс.	метрологические характеристики	количественное содержание, мг/капс.	метрологические характеристики
серия 23.12.13				
0,516	4,13	$\bar{x} = 4,09$ $S\bar{x} = 2,12 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 5,45 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 1,33$	5,01	$\bar{x} = 4,96$ $S\bar{x} = 2,66 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 6,83 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 1,38$
0,501	4,01		4,86	
0,509	4,07		4,94	
0,510	4,08		4,95	
0,520	4,16		5,05	
0,510	4,08		4,95	
серия 25.12.13				
0,523	4,18	$\bar{x} = 4,18$ $S\bar{x} = 2,70 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 6,95 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 1,66$	5,08	$\bar{x} = 5,07$ $S\bar{x} = 3,13 \cdot 10^{-5}$ $\Delta X = 8,06 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon\% = 1,59$
0,532	4,26		5,16	
0,530	4,24		5,14	
0,518	4,14		5,03	
0,520	4,16		5,05	
0,510	4,08		4,95	

Как следует из данных, представленных в таблице 3, количественное содержание астаксантина в капсулах «Биоастин» (растворитель – ацетон) соответствовало норме, заявленной производителем – 4–5 мг/капс. [6].

При этом в случае расчета по удельному показателю поглощения для серии 23.12.13 интервал содержания астаксантина соответствовал 4,01–4,08 мг/капс., а для серии 25.12.13 – 4,08–4,26 мг/капс.

Результаты расчета содержания астаксантина в капсулах по СО показали, что минимальное содержание действующего вещества для серии 23.12.13 равно 4,86 мг/капс., для серии 25.12.13 – 4,95 мг/капс. Верхний предел содержания астаксантина в капсулах составил 5,05 и 5,16 мг/капс. для серий 23.12.13 и 25.12.13 соответственно. Относительная погрешность определения для обоих способов расчета не превышала 2,0 %.

Среднее содержание астаксантина в капсулах серий 23.12.13 и 25.12.13 составляет около 4,1 мг/капс. (метод расчета по удельному показателю поглощения) и около 5,0 мг/капс. (расчет по СО астаксантина).

### Выводы

1. Предложенная спектрофотометрическая методика идентификации астаксантина в капсулах «Биоастин» с использованием трех растворителей и СО астаксантина позволила достоверно идентифицировать этот каротиноид.

2. Разработанная спектрофотометрическая методика количественного определения астаксантина была апробирована в ходе определения содержания астаксантина в образцах капсул «Биоастин».
3. Капсулы «Биоастин» по содержанию действующего вещества соответствовали норме, заявленной производителем, – количество астаксантина в одной капсуле 4–5 мг.
4. Использование в эксперименте трех растворителей и двух способов расчета количественного содержания астаксантина в капсулах показали сопоставимые результаты анализа.

### Список литературы

1. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
2. Курегян А.Г. Спектрофотометрия в анализе каротиноидов (Обзор) // Фундаментальные исследования. – 2015. – №2 (часть 23). – С. 5166-5172.
3. Курегян А.Г., Печинский С.В. Способ получения каротиноидов из растительного сырья // Современная медицина актуальные вопросы: материалы XXI междунар. заоч. науч.-практ. конф. 29 июля 2013 г. – Новосибирск: Изд. «СибАК», 2013. – С. 94–99.
4. Печинский С.В., Курегян А.Г. Влияние каротиноидов на иммунитет // Хим.-фармац. журн. – 2013. – Т. 47. – № 10. – С. 3–8.
5. Печинский С.В., Курегян А.Г. Структура и биологические функции каротиноидов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2013. – № 9. – С. 4-15.
6. Федеральный реестр БАД [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://obad.ru> (дата обращения 16 апреля 2015).
7. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Carotenoids Handbook. Basel AG.: Springer. 2004. – 646 p.
8. Delia B. Rodriguez-Amaya, Mieko Kimura Handbook for Carotenoid Analysis Washington: Copyright HarvestPlus, 2004. – 59 p.
9. SandeshKamath B. Biotechnological production of microalgal carotenoids with reference to astaxanthin and evaluation of its biological activity // Dis. by D.Ph. – Department of Biotechnology of University of Mysore, Indian, 2007. – 208 p.

### Рецензенты:

Степанова Э.Ф., д.фарм.н., профессор, профессор кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;

Кайшева Н.Ш., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск.