



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114815** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
C09B 61/00
G01N 33/32 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 08449	(72) Винахідник(и): Чеботарьов Олександр Миколайович (UA), Снігур Денис Васильович (UA), Єфімова Ірина Сергіївна (UA), Бевзюк Катерина Вікторівна (UA), Чорний Олексій Сергійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 01.08.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.03.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.03.2017, Бюл.№ 6	(73) Власник(и): ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.І. МЕЧНИКОВА, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65082 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНСТАНТ ІОНІЗАЦІЇ БАРВНИКІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

(57) Реферат:

Спосіб визначення констант іонізації барвників рослинного походження полягає в проведенні необхідної пробопідготовки. В аналітичному зразку встановлюють значення рН, визначають величини кольориметричних функцій в широкому діапазоні рН, зміна яких пропорційна зміні концентрації рівноважних форм. Вимірюють світлопоглинання отриманого розчину у діапазоні хвиль 380÷780 нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм по відношенню до водного розчину порівняння. Проводять розрахунок кольориметричних функцій та знаходять абсциси максимумів кривих залежностей кольориметричних функцій від величини кислотності середовища.

UA 114815 U

Корисна модель належить до області аналітичної хімії, а саме до способів визначення констант іонізацій барвників і призначена для експресного визначення констант іонізацій органічних барвників рослинних екстрактів. Може використовуватись у дослідницьких лабораторіях для визначення констант іонізації забарвлених органічних речовин, нових аналітичних реагентів, барвників для харчової, текстильної та фармацевтичної промисловості.

Досягнутий рівень техніки хімічного аналізу при визначенні констант іонізації барвників спектрофотометричними, потенціометричними та кондуктометричними методами найбільш повно характеризується наступними прикладами.

Відомий спосіб кондуктометричного визначення констант іонізації, який ґрунтується на вимірюванні зміни електропровідності розчину барвника під час його розведення. Перед початком роботи необхідно визначити константу електрохімічної комірки та підготувати комплект платинових електродів, вкритих шаром дрібнодисперсної платини. За отриманими даними визначають рК. Результати обробляють статистично (А. Альберт, Е. Сержент Константы ионизации кислот и оснований. - М.: Химия, 1964. - 179 с.). Недоліком способу є непридатність методу для визначення рК дуже слабких кислот; кондуктометрія не придатна для визначення рК барвників, молекули яких мають кілька функціональних груп, навіть за умови їх значної відмінності у кислотно-основних властивостях.

Відомий спосіб потенціометричного визначення констант іонізації барвників, який ґрунтується на титруванні розчину барвника розчинами кислоти та лугу та вимірюванням рН. Перед початком роботи скляний електрод калібрують з фталатним та боратним буферними розчинами. Потім порціями додають титрант, дають встановитися рівновазі та вимірюють значення рН. За отриманими даними визначають рК. Результати обробляють статистично (М. Бек, И. Надьпал Исследование комплексообразования новейшими методами. - М.: Мир, 1989. - 413 с.). Недоліком способу є виникнення значної похибки при вимірюванні малих об'ємів титранту, невизначеність в концентраціях титрантів, а також в багатьох випадках непридатність методу для визначення констант іонізації барвників, молекули яких мають кілька функціональних груп, близьких за кислотно-основними властивостями.

Відомий спосіб спектрофотометричного визначення констант іонізації барвників, який полягає у визначенні оптичної густини іонізованих та неіонізованих форм барвників. Для визначення константи іонізації дослідним шляхом, готують ряд розчинів, зберігаючи постійною концентрацію реагенту і змінюючи значення рН в широких межах. Реєструють спектри поглинання всіх приготованих розчинів, використовуючи кювету з постійною товщиною шару. На підставі отриманих спектрів вибирають область довжин хвиль, в якій спостерігаються найбільші відмінності у величинах світлопоглинання (A^λ). Величину константи іонізації розраховують за формулою:

$$K = \frac{A_{\text{CM}}^\lambda - A_{\text{HR}}^\lambda}{A_{\text{R}}^\lambda - A_{\text{CM}}^\lambda} [H],$$

де: K - константа іонізації; A_{CM}^λ - оптична густина розчину, що містить суміш іонізованих та неіонізованих форм реагенту; A_{HR}^λ та A_{R}^λ - оптична густина розчину реагенту в неіонізованій та іонізованій формах при довжині хвилі λ , концентрації c і товщині поглинаючого шару l .

За вибраної довжини хвилі λ визначають значення A_{HR}^λ і A_{R}^λ . При цій же довжині хвилі вимірюють A_{CM}^λ розчину, що має значення рН, проміжне між тими, які відповідають A_{HR}^λ і A_{R}^λ . Величину K обчислюють по декількох значеннях A_{CM}^λ і $[H^+]$, результати обробляють статистично (Россотти Ф., Россотти Х. Определение констант устойчивости и других констант равновесия в растворах. - М.: Мир, 1965. - 564 с.). Недоліком способу є тривалість визначення, складність і мала придатність способу при визначенні констант іонізації барвників з більше ніж чотирма функціональними групами.

Відомий графічний спосіб спектрофотометричного визначення константи іонізації барвників, який полягає у аналізі графічної залежності оптичної густини (виміряної при довжині хвилі, що відповідає поглинанню іонізованої форми барвника) від рН розчинів (Пешкова В.М., Громова М.И. Методы абсорбционной спектроскопии в аналитической химии. - М.: Высшая школа, 1976. - 280 с.). Недоліком способу є тривалість визначення, невисока точність, мала придатність способу при визначенні констант іонізації барвників з кількома функціонально-аналітичними групами.

Найбільш близьким аналогом за технічною суттю та аналітичним результатом, що досягається, є спосіб визначення констант іонізації викладений авторами Иванов В.М., Мамедова А.М. (Цветометрические и кислотно-основные характеристики пирогаллолового красного и бромпирогаллолового красного // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия, 2002. - Т. 43, № 3. - С. 167-171.). Даний спосіб полягає у тому, що готують розчин барвника точної концентрації, аліквотну частину розчину вносять в стакан, встановлюють необхідне значення рН з використанням буферних розчинів різного складу; переносять розчин у мірну колбу відповідного об'єму; доводять до мітки. Реєструють електронні спектри світлопоглинання у видимій області в кюветі з товщиною поглинаючого шару 5 мм, на підставі якого розраховують координати кольору і розраховують константи іонізації. Спосіб дозволяє визначити константи іонізації органічних барвників, молекули яких містять одну і більше функціональних груп, здатних приймати участь у протолітичних процесах. Недоліком способу є його багатостадійність, тривалість визначення, обмеженість придатності до барвників рослинного походження. Все це унеможлиблює його використання, як простого та експресного способу визначення констант іонізації барвників рослинного походження, отриманих шляхом екстракційного виділення, у зв'язку з неможливістю встановити точну концентрацію розчину.

Задачею, на вирішення якої спрямована пропонується корисна модель, є розробка простого та експресного способу визначення констант іонізації органічних барвників рослинних екстрактів з техніко-економічним ефектом, що полягає у придатності способу для лабораторних умов з використанням електронної спектрофотометрії і хімічної кольориметрії та ґрунтується на дослідженні зміни кольорних характеристик розчину в залежності від кислотності середовища в наслідок протікання в хімічній системі протолітичних процесів.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення констант іонізації барвників рослинного походження, який полягає в тому, що проводять необхідну пробопідготовку, в одержаному аналітичному зразку встановлюють значення рН, визначають величини кольориметричних функцій в широкому діапазоні рН, зміна яких пропорційна зміні концентрації рівноважних форм, згідно з корисною моделлю, вимірюють світлопоглинання отриманого розчину у діапазоні хвиль 380÷780 нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм по відношенню до водного розчину порівняння, проводять розрахунок кольориметричних функцій, знаходять абсциси максимумів кривих залежностей кольориметричних функцій від величини кислотності середовища.

У запропонованому способі проводять необхідну пробопідготовку, в одержаному аналітичному зразку встановлюють значення рН в діапазоні 1-4, переносять у мірні колби об'ємом 50 мл та доводять дистильованою водою до мітки; визначають координати кольору шляхом реєстрації електронних спектрів, який відрізняється тим, що для визначення рК використовують залежності зміни величин кольориметричних функцій розчинів барвника від рН середовища у зв'язку з чим, відсутня необхідність у визначенні вихідної концентрації та рівноважних концентрацій його кислотно-основних форм. Подрібнений рослинний матеріал заливають водно-етанольним розчином (30:70 об. %) та струшують впродовж 35-40 хв. Отриманий розчин фільтрують у мірну колбу місткістю 250 мл. Відбирають аліквоту і переносять в колбу на 50 мл, встановлюють значення рН в діапазоні 1÷14 та вимірюють світлопоглинання отриманих розчинів у діапазоні довжин хвиль 380÷780 нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм, по відношенню до водного розчину порівняння.

Спосіб здійснюють наступним чином: залежно від типу рослинної сировини (квіти, листя, плоди) відібраної для вилучення антоціанідинів заздалегідь проводять відповідну пробопідготовку, після чого рослинний матеріал заливають водно-етанольним розчином (30:70 об. %) та струшують впродовж 35-40 хв. Отриманий розчин фільтрують, а фільтрат очищують та переносять у мірну колбу місткістю 250 мл. Відбирають аліквоту переносять в колбу на 50 мл, встановлюють значення рН в діапазоні 1÷14. У результаті розчини забарвлюються у кольори від червоного до синього в залежності від структурних особливостей молекули барвника. Вимірюють світлопоглинання отриманих розчинів у діапазоні довжин хвиль 380÷780 нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм, по відношенню до водного розчину порівняння. Виходячи з отриманих спектрів світлопоглинання розраховують координати кольору у системах CIEXYZ та CIELAB. На основі отриманих координат кольору розраховують такі кольориметричні функції: питома відмінність кольору (SCD) повне колірне розрізнення (ΔE_{76}) та показник жовтизни (Y_I):

$$SCD = \frac{\Delta S}{\Delta pH}, \quad (1)$$

де $\Delta pH = pH_1 - pH_2$; $\Delta S = |S_1 - S_2|$; S_1, S_2 - насиченість кольору досліджуваних розчинів при pH_1 и pH_2 відповідно.

$$Y_1 = \frac{100(1,28X - 1,06Z)}{Y}, \quad (2)$$

5

де X, Y, Z - координати кольору в системі CIEXYZ.

$$\Delta E_{76} = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta A)^2 + (\Delta B)^2}, \quad (3)$$

10

де $\Delta L = L_1 - L_2$, $\Delta A = A_1 - A_2$, $\Delta B = B_1 - B_2$; L, A, B - координати кольору в системі CIELAB.

Будують графік залежності зміни величини кольориметричних функцій від кислотності середовища. Максимуми на кривих відповідають переходу органічного барвника з однієї кислотно-основної форми в іншу, які знаходяться у динамічній рівновазі, в залежності від pH середовища. Знаходженням абсциси кожного максимуму отримують відповідні значення pH, котрі чисельно дорівнюють величинам pK функціональних груп барвника у розчині. Оскільки

15

вміст етанолу у водних розчинах до 10 % не впливає на зміну величини pK і тому отримані величини констант іонізації антоціанідинів можна віднести до водного розчину. Таким чином, проводять визначення констант іонізації барвників з рослинних екстрактів, що дозволяє використовувати пропонований спосіб, як простий та експресний метод встановлення pK.

20

Для здійснення пропонованого способу необхідні такі прилади та устаткування: спектрофотометр з діапазоном довжин хвиль 380-780 нм, pH-метр із скляним індикаторним електродом та аргентумхлоридним електродом порівняння, апарат для струшування, скляний посуд.

25

Загальними ознаками пропонованого способу і найближчого аналога є наступні: після проведення попередньої відповідної пробопідготовки, в пробі для аналізу встановлюють необхідну кислотність в широкому інтервалі pH. Відмінними ознаками пропонованого способу від найближчого аналогу є наступні: в зразку барвника, отриманому шляхом екстракційного виділення з рослинного матеріалу не встановлюють його концентрацію, а обчислюють величини кольориметричних функцій при різному pH середовища, зміна яких пропорційна зміні концентрації рівноважних форм, що значно спрощує методичну та розрахункову частину дослідження. На основі зареєстрованих електронних спектрів розчинів визначають координати кольору, а за наведеними формулами обчислюють величини кольориметричних функцій. Шляхом аналізу графічних залежностей зміни величини кольориметричних функцій від pH середовища встановлюють константи іонізації функціональних груп барвника.

35

Спосіб ілюструється наступними прикладами.

Приклад 1

Визначення констант іонізації природного антоціанідинового барвника пеларгонідину. Сухі червоні квітки пеларгонії (*Pelargonium zonale* (L.) L'Hér. Ex Ait.) масою 3,00 г заливали водно-спиртовим розчином (30:70 об. %) об'ємом 100 мл та струшували впродовж 35-40 хв. Одержані екстракти фільтрували, а фільтрат кількісно переносили у колбу місткістю 250 мл і доводили до позначки дистильованою водою.

40

Для встановлення значень pK барвників у водному розчині методом кольориметрії в ряд мірних колб на 50 мл вносили по 7 мл розчину барвника, в кожній встановлювали кислотність середовища в діапазоні pH 1÷14. Для більшої диференціації значень pK дискретність зміни pH зменшували до 0,25 одиниці кислотності. Спектри поглинання досліджуваних розчинів реєстрували на спектрофотометрі в кюветах з товщиною поглинаючого шару 1 см в інтервалі довжин хвиль 380÷780 нм. Необхідну кислотність створювали розчинами сульфатної кислоти і натрій гідроксиду, pH контролювали за допомогою скляного індикаторного електроду "ЭСЛ-63-07" в парі з аргентумхлоридним електродом порівняння "ЭВЛ-1МЗ" на іонімірі "И-130", відкаліброваному за стандартними буферними розчинами. Визначають координати кольору; за наведеними формулами обчислюють величини відповідних кольориметричних функцій. На фіг. 1 наведено зміну величин кольориметричних функцій (питома відмінність кольору, повне колірне розрізнення, показник жовтизни) розчину пеларгонідину в залежності від кислотності середовища. Представлені криві у досліджуваному діапазоні значень pH мають по чотири

50

55

- максимумами, що вказує на існування п'яти форм барвника, які знаходяться в динамічній рівновазі залежно від кислотності середовища. Точки перелому на кривих залежності величин кольориметричних функцій від рН відповідають областям переходу з однієї форми в іншу. Знаходженням абсциси кожного максимуму (фіг. 1 а, б, в) отримують відповідні значення рН, чисельно рівні величинам рК пеларгонідину в розчині. Константи іонізації пеларгонідину ($n=3$, $P=0,95$) представлено в табл. 1.

Таблиця 1

pK_{SCD}	$pK_{\Delta E_{76}}$	pK_{Y_1}	pK_{CFM}
$4,00 \pm 0,14$	$3,85 \pm 0,12$	$3,80 \pm 0,13$	$3,95 \pm 0,14$
$6,00 \pm 0,13$	$6,10 \pm 0,14$	$6,15 \pm 0,13$	-
$8,00 \pm 0,12$	$7,95 \pm 0,15$	$7,90 \pm 0,14$	-
$12,00 \pm 0,11$	$11,90 \pm 0,13$	$11,95 \pm 0,13$	$11,84 \pm 0,15$

- Як видно з табл. 1 значення рК, отримані з використанням кольориметричних функцій корелюють між собою, а також близькі за величиною з визначеними спектрофотометричним методом, що вказує на правильність отриманих результатів.

Приклад 2

- Визначення констант іонізації природного антоціанідинового барвника ціанідину. Подрібнене листя свіжої червонокочанної капусти (*Brassica oleraceae* L. capitata. f. rubra) масою 5,00 г заливали водно-спиртовим розчином (30:70 об. %) об'ємом 100 мл та струшували впродовж 35-40 хв. Одержані екстракти фільтрували, а фільтрат кількісно переносили у колбу місткістю 250 мл і доводили до позначки дистильованою водою.

- Для встановлення значень рК барвників у водному розчині методом кольориметрії в ряд мірних колб на 50 мл вносили по 5 мл розчину барвника, в кожній встановлювали кислотність середовища в діапазоні рН 1÷14. Для більшої диференціації значень рК дискретність зміни рН зменшували до 0,25 одиниці кислотності. Спектри поглинання досліджуваних розчинів реєстрували на спектрофотометрі в кюветах з товщиною поглинаючого шару 1 см в інтервалі довжин хвиль 380÷780 нм. Необхідну кислотність створювали розчинами сульфатної кислоти і натрій гідроксиду, рН контролювали за допомогою рН контролювали за допомогою скляного індикаторного електроду "ЭСЛ-63-07" в парі з аргентумхлоридним електродом порівняння "ЭВЛ-1МЗ" на іонометрі "И-130", відкаліброваному за стандартними буферними розчинами. Визначають координати кольору; за наведеними формулами обчислюють величини відповідних кольориметричних функцій. На фіг. 2 показана зміна величини кольориметричних функцій (питома відмінність кольору, повне колірне розрізнення, показник жовтизни) розчину ціанідину в залежності від кислотності середовища. Представлені криві у досліджуваному діапазоні значень рН мають по п'ять максимумів, що вказує на існування шести форм барвника, які знаходяться в динамічній рівновазі залежно від кислотності середовища. Точки перелому на кривих залежності величин кольориметричних функцій від рН відповідають областям переходу з однієї форми в іншу. Знаходженням абсциси кожного максимуму (фіг. 2 а, б, в) отримують відповідні значення рН, чисельно рівні величинам рК ціанідину в розчині. Константи іонізації ціанідину ($n=3$, $P=0,95$) наведено в табл. 2.

Таблиця 2

pK_{SCD}	$pK_{\Delta E_{76}}$	pK_{Y_1}	pK_{CFM}
3,05	$3,00 \pm 0,12$	$2,80 \pm 0,13$	-
6,10	$5,90 \pm 0,14$	$6,10 \pm 0,13$	$6,50 \pm 0,10$
7,50	$7,60 \pm 0,15$	$7,50 \pm 0,14$	$7,94 \pm 0,15$
10,20	$10,15 \pm 0,13$	$10,15 \pm 0,13$	$10,05 \pm 0,12$
12,70	$12,80 \pm 0,12$	$12,80 \pm 0,12$	$12,95 \pm 0,14$

- Як видно з фіг. 2 та табл. 2 кількість визначених нами констант відповідає кількості іоногенних груп, здатних до кислотно-основної дисоціації. Значення рК, отримані з використанням кольориметричних функцій корелюють між собою, а також близькі за величиною з визначеними спектрофотометрично. Це вказує на достовірність отриманих результатів і принципову можливість використання даних кольориметричних функцій для дослідження

протолітичних рівноваг у розчинах барвників без необхідності оперування рівноважними концентраціями відповідних іонно-молекулярних форм.

До переваг способу, який пропонується, відноситься простота, експресність, можливість дослідження барвників із кількома атомними угрупованнями, здатними приймати участь у протолітичних процесах, а також економічність дослідження. Визначення констант іонізації проводиться з використанням кількох кольориметричних функцій, що дозволяє контролювати правильність отримуваних результатів. В той же час, проведення визначення, способом викладеним у прототипі не дозволяє паралельно контролювати правильність отриманих даних.

Економічний ефект: мала вартість визначення констант іонізації речовини пропонованим способом. Кількість концентрованої сірчаної кислоти, потрібної для створення кислотності середовища коштує $\approx 0,5$ грн.; натрій гідроксиду $\approx 0,1$ грн.; 75 мл етилового спирту ≈ 7 грн. Вартість аналізу пропонованого способу суттєво менше ніж у прототипу. Розрахунки показали, що загальна вартість визначення констант іонізації функціональних груп барвників, способом який пропонується дорівнює приблизно 7,6 грн., в залежності від дискретності зміни рН, а у прототипі не менш 10-15 грн.

Таким чином, пропонований спосіб є простим, експресним, екологічно безпечним та більш економічним і може бути використаний для визначення констант іонізації органічних барвників рослинних екстрактів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення констант іонізації барвників рослинного походження, який полягає в тому, що проводять необхідну пробопідготовку, в одержаному аналітичному зразку встановлюють значення рН, визначають величини кольориметричних функцій в широкому діапазоні рН, зміна яких пропорційна зміні концентрації рівноважних форм, який **відрізняється** тим, що вимірюють світлопоглинання отриманого розчину у діапазоні хвиль $380\div 780$ нм в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм по відношенню до водного розчину порівняння, проводять розрахунок кольориметричних функцій, знаходять абсциси максимумів кривих залежностей кольориметричних функцій від величини кислотності середовища.

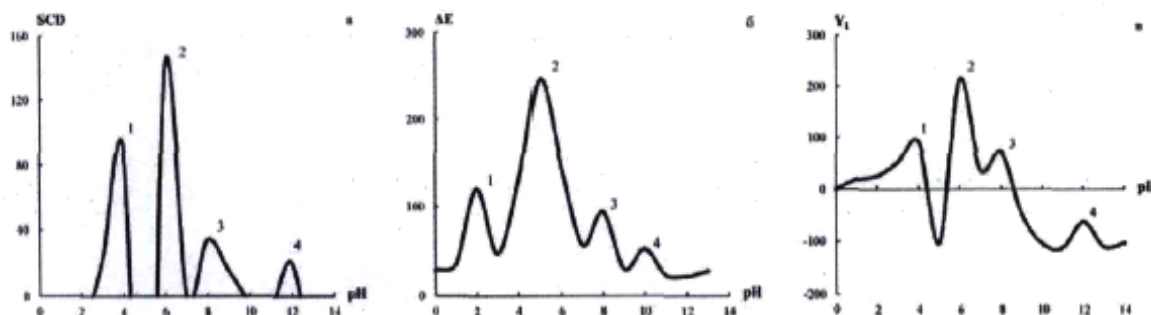
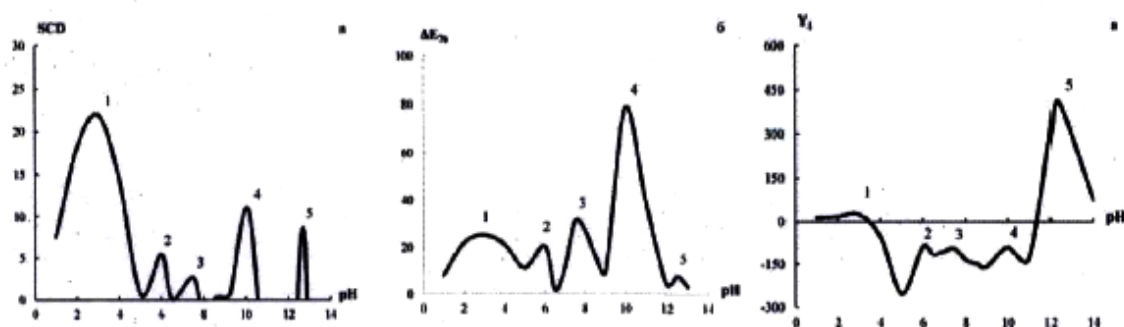


Fig.1



Фиг. 2

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601