



УКРАЇНА

(19) UA (11) 48114 (13) U  
(51) МПК (2009)  
G01N 21/75  
A61K 35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ТЕСТ-ВИЗНАЧЕННЯ ПРОПІЛГАЛАТУ

1

(21) u200908896  
(22) 26.08.2009  
(24) 10.03.2010  
(46) 10.03.2010, Бюл.№ 5, 2010 р.  
(72) БЕЛТЮКОВА СВІТЛАНА ВАДИМІВНА, БИЧ-  
КОВА ГАННА ОЛЕКСІВНА  
(73) ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАР-  
ЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

2

(57) Спосіб тест-визначення пропілгалату, що включає відбір проби, розчинення її в органічному розчиннику, екстракцію, взаємодію пропілгалату з іонами тербію (III) і вимірювання аналітичного сигналу, який відрізняється тим, що пропілгалат піддають взаємодії з іонами тербію(III), модифікованими на поверхні сорбенту Sephadex G-150, в присутності  $\beta$ -циклодекстрину та ацетатного буферного розчину при pH=4,5.

Корисна модель відноситься до аналітичної хімії, зокрема до способу визначення консерванту поліфенольного типу - пропілгаллату в харчових та косметичних оліях.

Пропілгаллат - (3,4,5-триоксibenзойна кислота) пропіловий ефір галлової кислоти поряд з іншими ефірами галлової кислоти (октил-, додецил-) відноситься до активних антиоксидантів та консервантів, які використовують для запобігання від окиснення жирів й жировмісних продуктів [див. Жунгиету Г.И. Хранение пищевых продуктов и кормов с применением консервантов. - К.: Карта Молдовеняскз, 1982, С. 108-110].

Серед існуючих аналітичних методів визначення структурно родинних гідроксibenзойних фенолокіслот слід виділити метод ВЕЖХ-ДАД [див. Кочетова М.В., Ларионов О.Г., Ульянова Е.В. Определение качественного состава коньячных изделий методом ВЭЖХ. Сорбционные и хроматографич. процессы, 2008, т. 8, вып. 4, С. 658-667], який дозволяє на основі бази даних по індексам утримування й спектральним співвідношенням при різних довжинах хвиль проводити аналіз коньячних виробів на вміст складних сумішей фенольних й поліфенольних сполук в умовах градієнтного режиму елюювання. Однак цей метод відрізняється складною процедурою пробопідготовки, тривалий в часі та передбачає дороге обладнання.

Найбільш близьким до корисної моделі, що заявляється, є спосіб кінетичного визначення пропілгаллату у харчових й косметичних оліях по сенсibilізованій люмінесценції тербію (III) (Panadero S., Gomez-Hens A., Perez-Bendito D. Kinetic determination of Propyl Gallate in edible and cosmetic

oils with sensitized Terbium (III) luminescence detection. Analyst J. - 1995. - V. 120.-P. 125-128.).

Визначення пропілгаллату проводили у такий спосіб. Зразок олії (2г) розчиняли у 25мл гексану і пропілгаллат екстрагували 10мл 1% ацетату амонію. Об'єм 3мл цього водного розчину обробляли наступним чином. Два розчини, А і В, були приготовлені у спеціальних мірних шприцах об'ємом 10мл у режимі проточно-інжекційного змішування. Розчин А містив стандартний розчин пропілгаллату або розчин зразка олії з кінцевою концентрацією пропілгаллату у межах 0,08-3,0мг/мл. Розчин В містив стандартний розчин тербію (III) ( $1 \cdot 10^{-3}$  мол/л), додецилсульфат натрію ( $6 \cdot 10^{-3}$  моль/л), Triton X-100 ( $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л) й буферний розчин гексаметилентетраміну ( $7 \cdot 10^{-2}$  моль/л). Потім два розчини А і В по 0,15мл поміщали у спеціальні мірні шприци об'ємом 2 мл й перемішували у камері, застосовуючи методику проточно-інжекційного змішування. Збільшення люмінесценції реагуючої суміші на протязі кінетичної реакції вимірювали при  $\lambda_{\text{збудж.}}=310$  нм і  $\lambda_{\text{випром.}}=545$  нм. Дані були отримані на протязі 1,0 секунди і оброблені за допомогою мікрокомп'ютера, постаченого програмою лінійного регресу для отримання результатів на початковій стадії (Kinetic Obey). Ступінь реагування була визначена близько 0,2 секунди і кожний зразок був досліджений тричі. Чистий сигнал був незначним. Усі виміри проводили при 20°C. Межа виявлення пропілгаллату становить 0,02мкг/мл.

Це рішення обране прототипом.

Прототип і корисна модель, що заявляється, мають такі спільні операції:

1. відбір проби;

(19) UA (11) 48114 (13) U

2. розчинення в органічному розчиннику і екстракція;

3. взаємодія проби з реагентом;

4. реєстрація аналітичного сигналу.

Однак, спосіб за прототипом вимагає застосування способу проточно-інжекційного режиму змішування реакційної суміші. Люмінесценція іонів тербію (III) в результаті кінетичної взаємодії реагентів може бути оброблена за допомогою комп'ютера по спеціальній програмі лінійної регресії. Усе це значно ускладнює виконання аналізу.

В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб тест-визначення пропілгаллату, в якому шляхом реєстрації аналітичного сигналу у фазі сорбенту забезпечити спрощення проведення аналізу та апаратного оформлення.

Поставлена задача вирішена в способі тест-визначення пропілгаллату, що включає відбір проби, розчинення її в органічному розчиннику, взаємодію пропілгаллату з хімічними реагентами і вимір аналітичного сигналу тим, що пропілгаллат піддають взаємодії з іонами тербію (III), модифікованими на поверхні сорбенту Sephadex G-150, в присутності  $\beta$ -циклодекстрину і ацетатного буферного розчину при  $pH=4,5$ .

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, і досягненням технічного результату полягає в наступному.

Спрощення виконання аналізу стало можливим завдяки наступним прийомам:

1. Утворення сорбату комплексної сполуки іону тербію (III) з пропілгаллатом у присутності  $\beta$ -циклодекстрину.

2. Реєстрації інтенсивності люмінесценції сорбату комплексної сполуки іона тербію(III).

Іони тербію (III) при опроміненні Уф-світлом ртутної лампи з  $\lambda_{\text{макс.}}=365$  нм проявляють люмінесцентні властивості ( $\lambda_{\text{изл.}}=545$  нм). Але інтенсивність люмінесценції невелика. Так як молярні коефіцієнти смуг поглинання водних розчинів іонів тербію (III) дуже малі. При комплексоутворенні з пропілгаллатом інтенсивність люмінесценції (І люм.) іонів тербію (III) зростає за рахунок внутрішньо молекулярної передачі енергії збудження від органічної частини молекули на іон тербію (III). Інтенсивність люмінесценції комплексу значно посилюється на сорбентах.

Вплив різних чинників на інтенсивність люмінесценції комплексу пропілгаллату з іонами тербію (III) наведено на графіках, де:

Фіг.1 - залежність інтенсивності люмінесценції комплексу пропілгаллату з тербієм (III) від типу сорбенту;

Фіг.2 - залежність інтенсивності люмінесценції комплексу пропілгаллату з тербієм (III) від температури висушування сорбенту;

Фіг.3 - залежність інтенсивності люмінесценції комплексу пропілгаллату з тербієм (III) від часу висушування сорбенту.

Експериментально були обрані сорбенти, на яких І люм. пропілгаллату найбільша. Досліджена сорбція комплексу на різних сорбентах (Фіг.1): на силікагелях 100/160 (1), 100/400 (2), фосфаті алюмінію (3) й на Sephadex G-50 (4), G-75(5), G-150 (6), а також на пінополіуретані, цеолітах (CaA,

NaA). Як видно з Фіг.1 максимальна інтенсивність люмінесценції комплексу спостерігається на Sephadex G-75, Sephadex G-150, іммобілізованих іонами тербію (III). Для подальшого аналізу нами був обраний сорбент Sephadex G-150.

Час сорбції пропілгаллату становить 10-15 хвилин. Інтенсивність люмінесценції комплексу залежить від  $pH$  розчину, з якого проводиться сорбція. Ця величина становить  $pH=4,5$ . Для створення оптимального значення  $pH$  розчину використовували ацетатний буферний розчин  $pH=4,5$ . Інтенсивність люмінесценції сорбату залежить від температури (Фіг.2) і часу висушування сорбенту (Фіг.3). Як видно з рисунка максимальна інтенсивність люмінесценції спостерігається при висушуванні сорбату при  $100^{\circ}C$  на протязі 90 хвилин.

Вивчення залежності інтенсивності люмінесценції сорбату комплексу від кількості іону тербію (III) на Sephadex G-150 показало, що інтенсивність люмінесценції збільшується зі збільшенням концентрації іону тербію (III). Нами обрана концентрація іттрію (III) -  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л. І люм. сорбату комплексу пропілгаллату з тербієм (III) значно збільшується в присутності  $\beta$ -циклодекстрину. Експериментально визначено, що максимальна інтенсивність люмінесценції комплексу спостерігається при концентрації  $\beta$ -циклодекстрину  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Лінійна область залежності інтенсивності люмінесценції комплексу від концентрації пропілгаллату спостерігається у діапазоні концентрацій пропілгаллату 0,08-3,0мкг/мл. Перевірку правильності методики тест-визначення пропілгаллату проводили шляхом визначення пропілгаллату у зразках олії методом «введено-знайдено» проводили у харчових (пальмовом, пальмоядерном, ланоліновом, оливковій оліях й маслі какао) і у косметичних (олії з кісточок винограду). Приклад. Визначення пропілгаллату в пальмовій олії.

Наважку 2г олії розчиняють у 25мл гексану і пропілгаллат екстрагують 10мл 1% ацетату амонію. В екстракт олії вводять певні кількості стандартного розчину пропілгаллату (5 і 25мкг/мл).

Наважку 80 мг Sephadex G-150 поміщують у пробірку, попередньо обробляють 1 мл водного розчину хлориду тербію (III) ( $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л), перемішують протягом 5 хвилин до гелеподібного стану. Потім додають 0,5мл амонійно-ацетатного екстракту олії й 0,3мл розчину  $\beta$ -циклодекстрину ( $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л), 0,2мл ацетатного буферного розчину з  $pH=4,5$  й перемішують на протязі 15 хвилин. Осад відфільтровують й висушують протягом 90 хвилин при  $100^{\circ}C$ . Потім розтирають в ступці до порошкоподібного стану й реєструють інтенсивність люмінесценції комплексу, іммобілізованого на сорбенті, при  $\lambda_{\text{изл.}}=545$ нм, при збудженні люмінесценції світлом ртутної лампи зі світлофільтром УФС-2 ( $\lambda_{\text{воб.}}=365$  нм).

Інтенсивність люмінесценції сорбатів порівнюють з інтенсивністю люмінесценції стандартних зразків, що містять різні кількості пропілгаллату (1-30) мкг/мл і підготовлених таким же способом, як описано вище. На підставі порівняльної оцінки роблять висновок про вміст пропілгаллату в зразку.

Кількісну оцінку вмісту пропілгаллату в оліях можна провести методом добавок. Результати визначення пропілгаллату перевірені методом

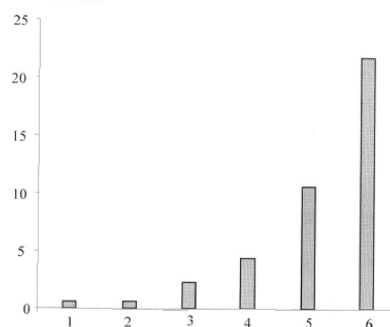
«введено-знайдено» і показана правильність розробленої методики (Табл.1).

Таблиця 1

Результати визначення пропілгаллату в зразках олії методом «введено-знайдено»

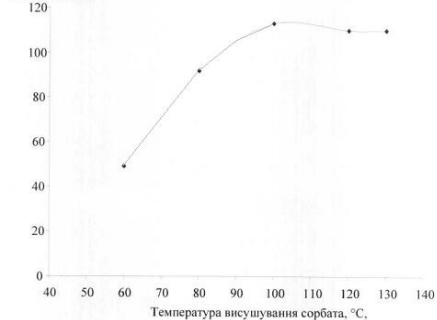
| Зразок олії          | Введено, мкг/мл | Знайдено, мкг/мл | Sr, % |
|----------------------|-----------------|------------------|-------|
| Какао                | 5               | 4,8±0,05         | 0,041 |
|                      | 25              | 24,7±0,02        | 0,039 |
| Ланолінове           | 5               | 4,9±0,03         | 0,051 |
|                      | 25              | 25,6±0,01        | 0,048 |
| Пальмове             | 5               | 5,3±0,01         | 0,039 |
|                      | 25              | 26,9±0,02        | 0,048 |
| Пальмоядерне         | 5               | 4,9±0,04         | 0,058 |
|                      | 25              | 25,9±0,05        | 0,032 |
| Оливкова             | 5               | 4,7±0,05         | 0,047 |
|                      | 25              | 24,8±0,03        | 0,030 |
| 3 кісточок винограду | 5               | 5,2±0,02         | 0,055 |
|                      | 25              | 24,3±0,06        | 0,048 |

І люм., відн.од.



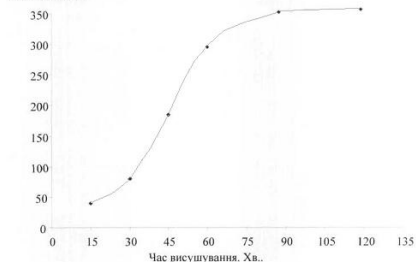
Фіг. 1

І люм., відн.од.



Фіг. 2

І люм., відн.од.



Фіг. 3