



УКРАЇНА

(19) UA (11) 55028 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 33/02
G01N 33/15
G01N 33/52

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЕКСПРЕСНОГО ТЕСТ-ВИЗНАЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ

1

2

(21) u200910494

(22) 16.10.2009

(24) 10.12.2010

(46) 10.12.2010, Бюл.№ 23, 2010 р.

(72) ПЕТРУШИНА ГАЛИНА ОЛЕКСАНДРІВНА,
ЦИГАНOK ЛЮДМИЛА ПАВЛІВНА

(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

(57) Спосіб експресного тест-визначення аскорбі-
нової кислоти, який включає виготовлення тест-

смужок іммобілізацією реагенту на целюлозі, який **відрізняється** тим, що як реагент використовують амонійну сіль 18-молібдодифосфату, який закріплюють на папері імпрегнуванням тетраетиламонію бромідом, тест-смужку занурюють у розчин з невідомою концентрацією АК і рН 4-5 на 10-15 сек., витримують 7-10 хв. та порівнюють зі сканованою тест-шкалою.

Корисна модель стосується розробки простого дешевого способу тест-визначення аскорбінової кислоти (вітаміну С) у харчовій, фармацевтичній промисловості та клінічній медицині.

Аскорбінова кислота (АК) широко використовується в медичній практиці при ослабленні організму людини в період осінньозимнього розповсюдження респіраторних захворювань. АК приймає участь в багатьох реакціях метаболізму в організмі людини, її надлишок виводиться з сечею. Великий вміст АК в сечі перешкоджає визначенню інших важливих речовин, наприклад, глюкози у хворих на діабет. Тому існує необхідність у розробці надійних, досить селективних, простих способів її визначення в біологічних рідинах, продуктах харчування. В продукти харчування АК додається як антиоксидант. При їх збереженні вона частково окиснюється киснем повітря, при цьому якість продукції знижується. Тобто вміст АК є характеристикою якості продукції.

Існують способи контролю вмісту АК в ряді фармацевтичних препаратів, в яких вона присутня в різних композиціях. Для визначення АК відомі фізико-хімічні методи аналізу (спектрофотометричні), які базуються на відновленні барвників (реагент Ільмана, метиленовий голубий тощо), йоду [1, 2]. Наведені методи довготривалі, потребують певної апаратури для їх виконання. Тому останнім часом для скоро-

чення часу проведення аналізу використовують напівкількісні тест-методи.

Засновані ці методи на утворенні забарвлених сполук АК, як правило, з окисниками, та іммобілізації їх на різних носіях [1, 2]. Для виготовлення тест-шкал можна використовувати ті ж реакції окиснення барвників, що описані в наведених вище методиках. В тест-методиках застосовують відновлення АК забарвлених комплексів металів з органічними реагентами [3]. Ці тест-методи характеризуються низькою селективністю та вибірковістю. Таку ж характеристику має і методика, яка ґрунтується на реакції АК з досить відомим реагентом 2,6-дихлорфеноліндофенолом [4], з солями тетразолію [5]. Недоліком цих методик є складний процес іммобілізації реагентів на носіях, недостатня чутливість, невелика швидкість реакції.

Найбільш близьким до способу, що заявляється є «Спосіб одержання тест-смужок для візуально-тестового визначення аскорбінової кислоти» [6], який оснований на використанні для іммобілізації на паперові смужки металовмісного гетерополікомплексу - молібдобісмут(III)фосфата гуанідінію та подальшого імпрегнування тетраетиламонію хлоридом. Методика експресна, але сірковмісні відновники заважають визначенню АК, а запропонована сіль гуанідінію з ГПА малорозчинна у воді, що обмежує його використання як іммобілізата. Крім цього, окисикислоти, які у великий

(19) UA (11) 55028 (13) U

кількості знаходяться в соках та інших напоях, заважають визначенню АК цим реагентом.

Задачею корисної моделі є розробка експресного, селективного, дешевого способу тест-визначення АК у широкому інтервалі концентрацій.

Задача вирішується способом експресного тест-визначення аскорбінової кислоти, який включає виготовлення тест-смужок іммобілізацією реагенту на целюлозі, і відрізняється тим, що в якості реагенту використовують амонійну сіль 18-молібдодифосфату, який закріплюють на папері імпрегнуванням тетраетиламонію бромідом, тест-смужку занурюють у розчин з невідомою концентрацією АК і рН 4-5 на 10-15 сек., витримують 7-10 хв. та порівнюють зі сканованою тест-шкалою.

Спосіб одержання забарвленої шкали включає імпрегнування паперових смужок в 0,01 М розчині гетерополікомплексу протягом 30-60 хв., а потім - у 1 М розчині ТЕА броміду. 18-МФК є більш сильним окисником, ніж 12-МФК, тому відновлення його АК перебігає швидко при кімнатній температурі. Залежно від концентрації відновника, утворюється два синіх продукти - ГПС-2 при співвідношенні 18-МФК : АК = 1 : 1 та ГПС-4 при співвідношенні 1 : 2. Тобто на першій стадії 18-МФК приєднує два електрони, на другій - чотири. Електронні спектри цих комплексів мають інтенсивні смуги поглинання у видимій ділянці спектра. Реакція залежить від рН розчину, оптимальний вихід продуктів реакції спостерігається при рН 4,0, який підтримується додаванням буферного розчину.

Виявлено, що на визначення АК не впливають такі відновники, як гідразисульфат, натрію сульфід, тіомочевина, Cu^{2+} , парацетамол, нікотинамід; оксикислоти - цитратна, тарtratна, оксалатна.

Приклад 1. Приготування розчину реагенту.

Зважують 0,7855 г $(\text{NH}_4)_6\text{P}_2\text{Mo}_{18}\text{O}_{62} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$, розчиняють у вимірювальній колбі на 25 мл. Одержаний розчин має насичений жовтий колір.

Приклад 2. Іммобілізація $(\text{NH}_4)_6\text{P}_2\text{Mo}_{18}\text{O}_{62}$ на папір.

У прямокутній посудині розміщують аркуші щільного фільтрувального паперу (синя стрічка), заливають розчином реагенту і витримують протягом 30-60 хв., висушують на повітрі, занурюють у розчин тетраетиламонію броміду на 10 хв., промивають дистильованою водою та сушать на повітрі протягом доби. Нарізають папір на смужки 0,5 на 4 см. Зберігають тест-смужки в щільно закритій тарі в приміщенні, повітря якого не містить відновників.

Приклад 3. Одержання тест-шкали та тест-визначення АК.

У розчин з певною концентрацією АК (табл.) додають ацетатний буферний розчин з рН 4 занурюють на 10-15 сек. тест-смужки, які отримані за умов прикладів 1, 2. Висушують на повітрі протягом 60 хвилин. Одержані смужки запаковують у поліетилен. В таблиці наведена залежність забарвлення тест-смужок від концентрації АК. Для визначення АК тест-смужку після занурення в аналізат необхідно попередньо висушити на повітрі, після чого порівнювати зі шкалою. Час аналізу - близько 30 хвилин.

Таблиця

Залежність забарвлення тест смужок від концентрації АК

Концентрація аскорбінової кислоти, мг/л	Колір тест-смужки
0	жовтий
20	жовто-зелений
40	зелений
80	зеленувато-блакитний
200	блакитний
≥ 400	темно-синій

Приклад 4. Одержання сканованої тест-шкали для експресного тест-визначення АК.

У розчин з певною концентрацією АК (табл.) додають ацетатний буферний розчин з рН 4 занурюють на 10-15 сек. тест-смужки, які отримані за умов прикладів 1, 2. Витримують 5 - 7 хв. та сканують на побутовому сканері зображення вологих смужок. Одержану тест-шкалу друкують на кольоровому принтері, підбравши відтінки за допомогою програм-редакторів зображення, які найбільше відповідають дійсним, увесь час порівнюючи отримані зображення з вологою тест-шкалою. Отримана таким чином тест-шкала може зберігатися набагато довше, ніж шкала, отримана за прикладом 3, та не потребує пакування у поліетилен.

На фіг. 1 наведена шкала, одержана за допомогою запропонованої методики. Зліва на право

розміщені паперові тест-смужки у порядку зростання концентрації АК від 0 до ≥ 400 . Як видно з фіг. 1, забарвлення смужок змінюється від жовтого до темно-синього та є доволі контрастним.

Для визначення АК в аналізі занурюють тест-смужку на 10-15 сек. та кладуть на рівну поверхню, бажано білого кольору (скло, пофарбоване знизу білою фарбою або покладене на білий папір; аркуш білого паперу, вкладений у канцелярський файл тощо). Витримують 5-7 хвилин та порівнюють (у вологому стані) зі шкалою. Час аналізу - 10 хвилин.

Таким чином, дана корисна модель дозволяє отримати тест-смужки для простого, дешевого та експресного напівкількісного визначення аскорбінової кислоти у широкому інтервалі концентрацій.

Джерела інформації:

1. Arya S. P., Mahajan M., Jain P. Photometric Methods for the determination of vitamin C // Anal. Sci. - 1998. - V. 14. - P. 889-895.

2. Запорожец О.А., Крушинская Е.А. Определение аскорбиновой кислоты методами молекулярной спектроскопии. // ЖАХ. - 2002. - Т. 57, №4, с. 343-354.

3. Патент США №4303409, 1981 р. Method, composition and test strip for colorimetric analysis of ascorbic acid, Yasunao Ogawa, Kaoru Ishitobi

4. Патент США №5783150, 1998 р. Test kit for determining the level of ascorbic acid in a patient's body, Alfred B. Ordman

5. Патент США №4152116, 1979 р. Composition and method for the determination of ascorbic acid, Ulfert Deneke, Gerhard Michal, Klaus Beauchamp

6. Патент України № 37588, 2008 р. «Спосіб одержання тест-смужок для візуально-тестового визначення аскорбінової кислоти»

