



УКРАЇНА

(19) UA (11) 19302 (13) U
(51) МПК (2006)
G01N 21/31
A61K 31/375

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ СОРБЦІЙНО-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ

1

(21) u200606113
(22) 02.06.2006
(24) 15.12.2006
(46) 15.12.2006, Бюл. № 12, 2006 р.
(72) Запорожець Ольга Антонівна, Зінко Ліонель Степанівна, Качан Ігор Анатолійович
(73) КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
(57) Спосіб сорбційно-спектрофотометричного визначення аскорбінової кислоти, що включає об-

2

робку сорбенту, модифікованого гетерополікислотою, розчинення проби з наступним вимірюванням оптичної властивості сорбенту, який **відрізняється** тим, що як сорбент використовують силікагель, модифікований молібдодифосфорною гетерополікислотою у формі іонного асоціату з люцигенином, а світлопоглинання у тонкому шарі вимірюють шляхом гетерохроматичної екстраполяції при довжинах хвиль 690 нм та 999 нм.

Запропонований спосіб відноситься до аналітичної хімії, зокрема до сорбційно-спектрофотометричних методів визначення аскорбінової кислоти і може бути використаний при визначенні аскорбінової кислоти у її лікарських та вітамінних формах, а також фруктових соках.

В цій галузі прийнято використовувати такі терміни і скорочення:

СГ - силікагель.

МВ - межа виявлення.

ГПК - гетерополікислота.

ТСФ - твердофазна спектрофотометрія.

Відомі способи сорбційно-спектрофотометричного визначення мікрокількостей аскорбінової кислоти, що базуються на вимірюванні поглинання адсорбованого на аніонообміннику комплексу феруму (II) [Barrales P.O., de Cordova M.L.F., Diaz A.M. Indirect determination of ascorbic acid by solid-phase spectrophotometry // Analytica Chimica Acta. - 1998. - 4.360, №1-3. - P. 143-152.], включеного до фази ксерогелю реактиву Вавеле [Моросанова Е.И., Резникова Е.А., Великородный А.А. Индикаторные порошки на основе модифицированных ксерогелей для твердофазно-спектрофотометрического и тест-определения аскорбиновой кислоты и гидразинов // Журн. аналит. хим. - 2001. Т. 56, №2. - С. 195-200.] та іммобілізованого на СГ комплексу купруму (I) з тетрабензо [b, f, j, n] [1, 5, 9, 13] тетраазациклогексадецином [Запорожець О.А., Крушинская Е.А., Липковская Н.А., Сухан В.В. Твердофазный реагент на аналгин и аскорбино-

вую кислоту на основе адсорбционно закрепленного на силикагеле комплекса меди (II) с тетрабензотетраазациклогексадецином // Журн. аналит. хим. - 2001. - Т. 56, №6. - С. 591-596.].

Перший спосіб характеризується найбільшою чутливістю (МВ=0,9мкг/л), але він є довготривалим та недостатньо вибірковим щодо сульфат-іону. До недоліків інших двох способів слід віднести трудомісткість отримання аналітичної форми, а в останньому випадку ще й низьку вибіркковість щодо сульфату й цукрів.

Найбільш близьким за технічною сутністю та результатом, що досягається, є спосіб сорбційно-спектрофотометричного визначення аскорбінової кислоти за реакцією відновлення молібдосиліцієвої ГПК, іммобілізованої на пінополіуретані [Дмитриенко С.Г., Гончарова Л.В., Рунов В.К. Сорбционно-фотометрическое определение аскорбиновой кислоты с помощью гетерополикислот, иммобилизованных на пенополиуретане // Журн. аналит. хим. - 1998. - Т. 53, №9. - С. 914-918]. Обробку сорбенту розчином аскорбінової кислоти здійснювали при рН 5 впродовж 60хв., після чого додавали 0,1М HCl для створення у розчині рН 2 та перемішували ще 15хв., сорбент відокремлювали декантуванням та вимірювали значення коефіцієнту дифузного відбиття при $\lambda=720\text{нм}$. Градувальний графік будували у координатах „Функція Гуревича-Кубелки-Мунка - концентрація аскорбінової кислоти”. Градувальний графік лінійний в діапазоні 0,3-2,4мг/л аскорбінової кислоти. МВ аскорбінової кислоти становить 2,5мкг/проба. Недоліками

(19) UA (11) 19302 (13) U

цього способу є довготривалість (час одиничного визначення становить 75хв.) та недостатня вибірковість щодо сульфат-іону (визначенню заважає ≥ 200 -кратний надлишок SO_3^{2-}).

В основу корисної моделі покладено задачу вдосконалення способу визначення аскорбінової кислоти шляхом заміни матриці, модифікатора і методу детектування аналітичного відгуку, що дозволяє забезпечити скорочення процедури проведення аналізу та підвищення вибірковості визначення щодо сульфату.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі сорбційно-спектрофотометричного визначення аскорбінової кислоти, що полягає в обробці сорбенту, модифікованого гетерополікислотою, розчиненням проби з наступним вимірюванням оптичної властивості сорбенту, згідно з корисною моделлю, як сорбент використовують силікагель, модифікований молібдофосфорною гетерополікислотою у формі іонного асоціату з люцигенином, і вимірюють світлопоглинання у тонкому шарі вимірюють шляхом гетерохроматичної екстраполяції при довжинах хвиль 690нм та 999нм.

В способі, що заявляється, використовують силікагель СГ 60 фірми „Merck”. Модифікацію СГ здійснюють послідовною адсорбцією люцигенину і ГПК з відповідних водних розчинів.

Оптимальними умовами визначення аскорбінової кислоти є: сорбент - силікагель СГ 60 фірми „Merck”, модифікований молібдофосфорною ГПК у формі іонного асоціату з люцигенином (ємність за люцигенином 5мкмоль/г), рН 3-6, час контактування модифікованого сорбенту з розчином аскорбінової кислоти - 10хв., співвідношення об'єму проби до маси сорбенту - 10мл/г.

Градуювальний графік, що використовують для визначення концентрації аскорбінової кислоти, лінійний в діапазоні концентрацій 4-90мг/л. Рівняння градувального графіка (при об'ємі розчину 1,0мл та масі сорбенту 0,100г) має вигляд:

$\Delta A = (1,39 \pm 0,03) \cdot 10^{-3} \cdot C$, мг/л, де $\Delta A = A_{690} - A_{999}$, а A_{690} , A_{999} - поглинання сорбенту при $\lambda = 690$ та $\lambda = 999$ нм відповідно.

Межа виявлення аскорбінової кислоти становить 2,6мкг/проба.

Визначенню не заважають (кратні кількості): цитрати, тартрати, оксалати, хлориди, сульфати (≤ 500), глюкоза (≤ 250), купрум (II) та ферум (III) ($\leq 0,05$).

Таким чином, суттєвими ознаками запропонованого способу є те, що визначення проводиться

із застосуванням СГ, модифікованого молібдофосфорною ГПК у формі іонного асоціату з люцигенином, як аналітичний відгук використовують світлопоглинання сорбенту при $\lambda = 690$ нм та $\lambda = 999$ нм у тонкому шарі ($l = 0,1$ см).

Корисна модель ілюструється наступними прикладами які не обмежують обсяг правової охорони:

Приклад 1. Модифікація СГ

СГ модифікували іонним асоціатом „люцигенин-молібдофосфорна ГПК” послідовною обробкою наважки сорбенту ($1,000 \pm 0,001$ г) 250мл 25мкМ водного розчину люцигенину (перемішували впродовж 10хв.) та 200мл розчину, що містить 0,3мМ калію дигідрофосфату, 0,15М сульфатної кислоти та 0,5мМ амонію молібдату. Сорбент відокремлювали декантуванням, висушували при кімнатній температурі та зберігали у темній склянці з притертим корком у сухому темному місці. Ємність СГ за модифікатором становила 5мкмоль/г.

Приклад 2. Побудова градувального графіка.

Для побудови градувального графіка готували розчини з концентраціями аскорбінової кислоти 0,0; 4,0; 8,0; 17,6; 35,2; 70,4мг/л. До аликвотної частини розчину (1мл) додавали наважки модифікованих сорбентів масою $0,100 \pm 0,001$ г та перемішували впродовж 10хв. Одержані сорбенти декантували, промивали 10мл дистильованої води та вимірювали світлопоглинання при $\lambda = 690$ та $\lambda = 999$ нм. Вміст аскорбінової кислоти знаходили за градувальним графіком, побудованим у координатах „ ΔA - концентрація аскорбінової кислоти, мг/л”, де $\Delta A = A_{690} - A_{999}$, а A_{690} , A_{999} - поглинання сорбенту при $\lambda = 690$ та $\lambda = 999$ нм відповідно. Діапазон лінійності градувального графіка становить 4-90мг/л.

Приклади 3-26. Вплив сторонніх іонів та речовин на результати визначення аскорбінової кислоти.

Сорбент готували, як вказано у прикладі 1.

До 1мл розчину, що містить 0,2ммоль/л аскорбінової кислоти, а також органічних та неорганічних іонів, як правило присутніх у напоях та соках, у кількостях, як зазначено у таблиці 3, додавали сорбент та проводили всі операції, як вказано у прикладі 2. Вміст аскорбінової кислоти в розчині знаходили, як у прикладі 2. Результати наведено у таблиці 1. Видно, що визначенню не заважають іони та речовини (кратні кількості): цитрати, тартрати, оксалати, хлориди, сульфати (≤ 500), глюкоза (≤ 250), купрум (II) та ферум (III) ($\leq 0,05$).

Таблиця 1

Вплив сторонніх іонів та речовин на правильність визначення аскорбінової кислоти

Приклад №	Іон або речовина	C/C _{аск}	Правильність визначення аскорбінової кислоти, %
3	цитрат	400	100
4	цитрат	500	100
5	цитрат	600	86
6	тартрат	400	99
7	тартрат	500	99
8	тартрат	600	83

Продовження таблиці 1

Приклад №	Іон або речовина	C/C _{аск}	Правильність визначення аскорбінової кислоти, %
9	оксалат	400	98
10	оксалат	500	99
11	оксалат	600	77
12	хлорид	400	99
13	хлорид	500	100
14	хлорид	600	92
15	сульфіт	400	99
16	сульфіт	500	101
17	сульфіт	600	132
18	глюкоза	200	101
19	глюкоза	250	102
20	глюкоза	300	129
21	купрум (II)	0,01	100
22	купрум(II)	0,05	98
23	купрум(II)	0,1	89
24	ферум(III)	0,01	101
25	ферум(III)	0,05	100
26	ферум(III)	0,1	91

C - концентрація, моль/л,

Приклади 27-29. Визначення аскорбінової кислоти у стандартних розчинах.

До розчинів об'ємом 1мл з вмістом аскорбінової кислоти 45; 53, 60мкг додавали сорбент та ви-

конували усі операції, як описано у прикладі 2. Вміст аскорбінової кислоти знаходили за градувальним графіком, як описано в прикладі 2. Результати визначення наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Результати сорбційно-спектрофотометричного визначення аскорбінової кислоти у стандартних розчинах (P=0.95, n=5)

Приклад №	Вміст аскорбінової кислоти, мг/л		Sr
	Введено	Знайдено	
27	45	44±3	0,05
28	53	54±3	0,04
29	60	62±4	0,05

З даних таблиці 2 видно, що запропонований спосіб характеризується задовільною точністю та відтворюваністю. Відносна похибка визначення аскорбінової кислоти не перевищує 0,05. Низька межа виявлення аскорбінової кислоти (2,6мкг/проба) та висока вибірковість щодо ряду аніонів органічної природи, глюкози та сульфиту дозволяють запропонувати розроблену методику для аналізу фруктових соків.

Приклад 30, 31. Визначення аскорбінової кислоти у фруктових соках ананасовий „Вінні” та „Апельсиновий fresh”.

В мірну колбу ємністю 25мл відбирають 5,0 та 0,5мл соків „Вінні” та „Апельсиновий fresh” відповідно і доводять дистильованою водою до мітки, так, щоб концентрація аскорбінової кислоти в кінцевому об'ємі була у межах 4-90мг/л. До аліквотної частини отриманого розчину (1мл) додають сорбент та виконують усі операції, як описано у прикладі 2. Вміст аскорбінової кислоти знаходять за градувальним графіком, як описано в прикладі 2. Наведені у таблиці 3 результати свідчать, що запропонований спосіб може бути використаний для аналізу зразків такого типу.

Таблиця 3

Результати сорбційно-спектрофотометричного визначення аскорбінової кислоти у пробах соку ($P=0.95$, $n=5$)

Приклад №	Зразок	Вміст аскорбінової кислоти, г/л		Sr
		Введено	Знайдено	
30	Сік ананасовий „Вінні”	0,150*	0,147±0,007	0,04
31	Сік „Апельсиновий fresh”	1,80**	1,90±0,07	0,04

*оголошений вміст аскорбінової кислоти

**вміст аскорбінової кислоти за результатами потенціометричного титрування

Практичне застосування способу, що заявляється, полягає у підвищенні вибіркової щодо сульфат-іону в 2,5 рази (визначенню не заважають 500-кратний надлишок сульфату порівняно з 200-

кратним за прототипом) та зменшенні тривалості аналізу у 7,5 разів (час одиничного визначення становить 10хв. порівняно з 75хв. за прототипом), що робить його використання економічно вигідним.