



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **96466**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 21/78** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 08573**

(22) Дата подання заявки: **28.07.2014**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.02.2015**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.02.2015, Бюл.№ 3**

(72) Винахідник(и):

**Бельтюкова Світлана Вадимівна (UA),**

**Бичкова Ганна Олексіївна (UA),**

**Малинка Олена Валентинівна (UA),**

**Ситнікова Юлія Сергіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ**

**ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,**

**вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)**

## (54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРОГЕНОВОЇ КИСЛОТИ

### (57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення хлорогенової кислоти включає відбір проби, відокремлення хлорогенової кислоти, взаємодію її з хімічними реагентами та вимірювання аналітичного сигналу. Хлорогенову кислоту відокремлюють методом тонкошарової хроматографії, виділену кислоту піддають взаємодії з хлоридом ітрію в присутності ТОФО та уротропіну при рН 6,5-7,0 на хроматографічній пластинці для тонкошарової хроматографії.

**UA 96466 U**



Корисна модель належить до аналітичної хімії, зокрема до способу визначення біологічно активної речовини поліфенольного типу хлорогенової кислоти (ХК) - 1,3,4,5-тетрагідроксикіклогексан карбонової кислоти, яка належить до групи флавонолів, в овочевих та фруктових соках.

Відомий спосіб кількісного визначення хлорогенової кислоти в напоях, заснований на використанні сенсibilізованої люмінесценції лантаніду (див. M.P. Aguilar-Caballeros, A. Gomez-Heus and D. Perez-Bendito. Simultaneous determination of benzoic acid and saccharin in soft drinks by using lanthanide-sensitized luminescence. Analyst, 1999, V. 124, p. 1079-1084). Визначення проводять наступним чином: після пробопідготовки у розчин, що аналізують, додають певну кількість розчинів триоктилфосфіноксиду (ТОФО), тритону X-100, хлориду тербію (III) та реєструють величину інтенсивності сенсibilізованої люмінесценції ( $I_{\text{люм}}$ ). Проте, визначенню заважає сахарин, який є у напоях, тому визначення проводиться з розділенням за часом. Використання такого прийому вимагає спеціального спектрофлуориметра, який дозволяє проводити такі вимірювання.

Найбільш близьким до корисної моделі, що заявляється, є спосіб кількісного визначення хлорогенової кислоти в зернах кави [див. Бельтюкова С.В., Бичкова Г.А. Люминесцентное определение хлорогеновой кислоты в зёрнах кофе. Вопросы химии и химической технологии. - 2010. - № 3. - с. 57-58], заснований на реєстрації власної люмінесценції хлорогенової кислоти, посиленої у присутності іонів ітрію (III) триоктилфосфіноксиду та неіоногенної поверхнево-активної речовини - тритону X-100.

Визначення проводили наступним чином: у три пробірки місткістю 5 мл поміщали по 50 мг фосфату алюмінію, додавали по 0,8 мл водного розчину хлориду ітрію (III) ( $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л), 1,0 мл етилацетатного екстракту із зерен кави, у дві з них додавали по 0,4 мл стандартного розчину хлорогенової кислоти з вмістом  $3,5 \cdot 10^{-2}$  мг/мл, потім додавали в кожну пробірку по 0,2 мл розчину триоктилфосфіноксиду ( $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л), 0,2 мл розчину Тритон X-100 (0,1 %-вого) й 0,2 мл розчину гексаметилентетраміну 4 %-вого з pH=6,0. Об'єми розчинів в усіх пробірках були доведені до 5 мл етилацетатом. Пробірки струшували впродовж 20 хвилин на механічному вібраторі при кімнатній температурі.

Сорбент відділяли декантацією та висушували протягом 45 хвилин в сушильній шафі при 100 °С. Далі розтирали до порошкоподібного стану і реєстрували інтенсивність люмінесценції комплексу, іммобілізованого на сорбенті при  $\lambda_{\text{изл}}=515$  нм, при збудженні люмінесценції світлом ртутної лампи зі світлофільтром УФС-2 ( $\lambda_{\text{возб.}}=365$  нм). Вміст хлорогенової кислоти у пробі розраховували методом добавок.

Це рішення вибране як найближчий аналог.

Найближчий аналог і корисна модель, що заявляється, мають такі спільні операції:

1. відбір проби;
2. відокремлення хлорогенової кислоти;
3. взаємодія хлорогенової кислоти з реагентом;
4. вимірювання аналітичного сигналу.

Однак, спосіб, запропонований за найближчим аналогом не є селективним через те, що інші поліфенольні кислоти також можуть утворювати сорбати комплексів з іонами ітрію (III), які здатні люмінесцирувати.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб, в якому за рахунок виділення хлорогенової кислоти методом тонкошарової хроматографії, прояви пластинки розчином хлориду ітрію (III) і триоктилфосфіноксиду, використання твердофазної люмінесценції хлорогенової кислоти у тонкому шарі сорбенту, забезпечити підвищення межі визначення.

Поставлена задача вирішена в способі визначення хлорогенової кислоти, що включає відбір проби, відокремлення хлорогенової кислоти, взаємодію її з хімічними реагентами і вимірювання аналітичного сигналу, тим, що, згідно з корисною моделлю, хлорогенову кислоту відокремлюють методом тонкошарової хроматографії, виділену кислоту піддають взаємодії з хлоридом ітрію в присутності ТОФО та уротропіну при pH 6,5-7,0 на хроматографічній пластинці для тонкошарової хроматографії.

Новим у корисної моделі, що заявляється, є використання реакції взаємодії ХК з іонами Y(III) і ТОФО, після виділення ХК на хроматографічній пластинці з тонким шаром сорбенту - силікагелем із розчину і утворення комплексу ХК безпосередньо у твердій фазі сорбенту, після її сорбції.

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

Зростання селективності визначення і виключення використання такого реагенту, як тритон X-100 стало можливим завдяки наступним прийомам.

### 1. Застосування попереднього виділення ХК на пластинках для ТШХ.

Застосування такого прийому дозволяє виключити використання поверхнево-активної речовини - тритону Х-100, що пов'язано з різними механізмами сорбції хлорогенової кислоти на пластинках для ТШХ і фосфаті алюмінію.

У випадку фосфату алюмінію сорбція проходить по типу іонного обміну й іони ітрію (III) і молекули комплексу з ХК можуть знаходитись у цих порожнинах, за рахунок чого зменшується ефективна довжина активного шару, який визначає інтенсивність люмінесценції. Внаслідок цього для зростання інтенсивності люмінесценції необхідно додавати другий реагент - поверхнево-активну речовину - тритон Х-100.

Взаємодія хлорогенової кислоти з поверхнею силікагелю (пластинки для ТШХ) відбувається за рахунок утворення водневого зв'язку між карбоксильним атомом кислоти і силанольною групою сорбенту. Власна люмінесценція хлорогенової кислоти посилюється при використанні як розчину, що проявляє, хлориду ітрію (III) і донорно-активної домішки - триоктилфосфіноксиду, внаслідок утворення більш жорстких структур і зменшення внаслідок цього безвипромінювальних втрат енергії збудження.

2. Використання реакції взаємодії ХК з іонами Y(III) і ТОФО безпосередньо після виділення ХК в тонкому шарі сорбенту - силікагелю на пластинках для ТШХ. Використання такого засобу виділення ХК дозволяє застосувати проявляючий розчин - хлорид ітрію (III), триоктилфосфіноксид і уротропін, для утворення комплексу, який люмінесцює у тонкому шарі сорбенту - силікагелю на пластинці для ТШХ. Застосування такого прийому дозволяє підвищити селективність визначення ХК, тому що виділення реагенту методом ТШХ є вибіркоким і кожна речовина має свій коефіцієнт розділення. Крім того, утворення комплексу у твердій фазі сорбенту сприяє зменшенню безвипромінювальних втрат енергії збудження.

Режими проведення аналізу вибрані експериментально. Найбільша інтенсивність люмінесценції спостерігається при використанні проявляючого розчину з концентрацією Y(III) -  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

Вивчення залежності інтенсивності люмінесценції сорбату від кількості ТОФО виявило, що оптимальним є використання концентрації ТОФО -  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л (фіг. 1).

Інтенсивність люмінесценції хлорогенової кислоти залежить від рН розчину, з якого проводиться сорбція. Ця величина становить рН=6,5-7,0 (фіг. 2). Для створення цього значення рН використовували розчин уротропіну 4 %-вого.

Як рухома фаза оптимальною виявилася суміш розчинників: хлороформ - етанол - вода в співвідношенні: 26:16:3.

Вивчення впливу об'єму проби, що наноситься на пластинку, показало, що найкращий результат досягається при нанесенні проби об'ємом 20 мкл.

При менших або більших кількостях проби плями на пластинці набувають витягнутої форми.

Визначення хлорогенової кислоти проводили в овочевих та фруктових соках.

Приклад 1. Пластинки "Силуфол" 15×15 см перед використанням активували в сушильній шафі при 100-105 °С протягом 1 години. Пробу, що аналізують (яблучний сік), розводили дистильованою водою в співвідношенні 1:10. На лінію старту платівки наносили мікропіпеткою близько 20 мкл досліджуваного зразка і стандартного розчину хлорогенової кислоти ( $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л). Хроматографічну пластинку поміщали в камеру, яку попередньо насичували не менше 1 г сумішшю розчинників: хлороформ-етанол - вода (26:16:3), хроматографу вал и висхідним способом. Коли фронт розчинників проходив близько 13 см, пластинку виймали з камери, сушили на повітрі протягом 5 хв, виявляли розчинами хлориду Y (III), ТОФО і переглядали в УФ-світлі при довжині хвилі  $\lambda_{збвд.} = 365$  нм. Плями, відповідні хлорогеновій кислоті ( $R_f$  0,2), вирізали з пластинки і реєстрували  $I_{люм}$  при  $\lambda_{випр.} = 508$  нм. на спектрометрі СДЛ -1 в кюветі для твердих зразків. Визначення проводили методом градувального графіка, побудову якого здійснювали таким чином. На пластинку наносили різні кількості стандартного розчину хлорогенової кислоти і далі проводили хроматографування і прояву хроматограми, як описано вище. Потім з пластинки вирізали плями з ХК, вміщували в кювету для твердих зразків і вимірювали  $I_{люм}$ . За отриманими даними будували градувальний графік, відкладаючи на осі абсцис концентрацію хлорогенової кислоти, а на осі ординат-значення інтенсивності люмінесценції.

Межа виявлення для хлорогенової кислоти складає 0,005 мкг/мл.

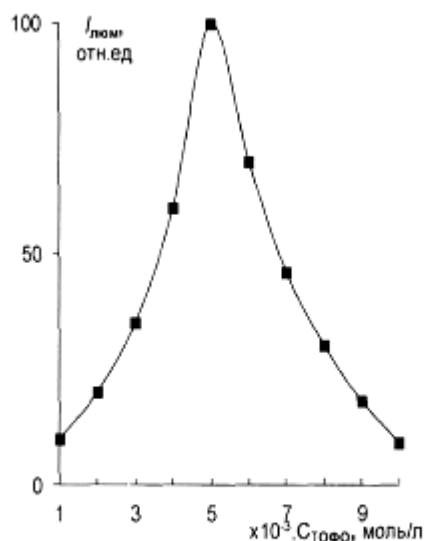
Аналогічно проводили визначення хлорогенової кислоти в морквяному і виноградному соках. Результати визначення хлорогенової кислоти в соках і перевірка правильності отриманих результатів методом добавок наведені у таблиці. Точність і достовірність визначення перевірена шляхом статистичної обробки результатів визначення. При  $n=5$ ,  $P=0,95$  величина відносного стандартного відхилення складає 3,1-6,2 %.

Результати визначення хлорогенової кислоти  
в овочевому, виноградному та фруктовому соках (n=5; P=0,95)

Об'єкт аналізу (сік)	Введено мг/мл	Знайдено в пробі з добавкою мг/мл	Знайдено в пробі мг/мл	S <sub>r</sub> , %
Морквяний	0,1	0,170±0,016	0,070	5,8
	0,2	0,265±0,030	0,065	4,6
Яблучний	0,1	0,190±0,044	0,090	3,1
	0,2	0,292±0,032	0,092	3,5
Виноградний	0,1	0,980±0,106	0,880	5,1
	0,2	1,010±0,109	0,910	6,2

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб кількісного визначення хлорогенової кислоти, що включає відбір проби, відокремлення хлорогенової кислоти, взаємодію її з хімічними реагентами та вимірювання аналітичного сигналу, який **відрізняється** тим, що хлорогенову кислоту відокремлюють методом тонкошарової хроматографії, виділену кислоту піддають взаємодії з хлоридом ітрію в присутності ТОФО та уротропіну при рН 6,5-7,0 на хроматографічній пластинці для тонкошарової хроматографії.
- 10



Фіг. 1

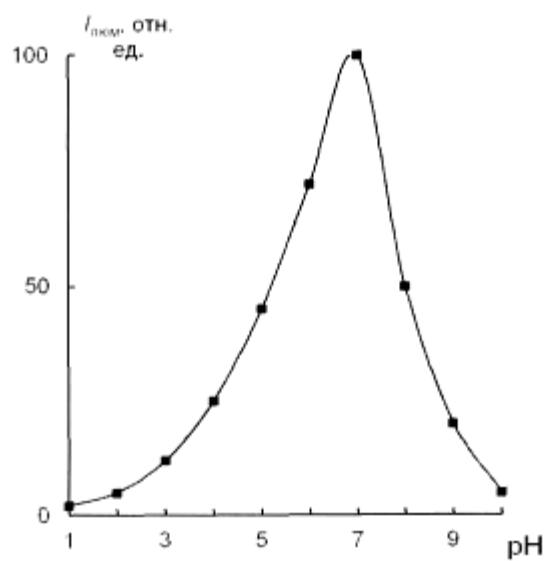


Fig. 2

---

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

---

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

---

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