

УДК 543.064:546.87

## ТЕСТ-МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ

Воронич О.Г., Бреусова К.В., Чепинець О.М.

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», вул. Підгірна, 46, м. Ужгород

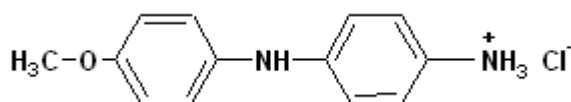
Останнім часом все більшу увагу аналітиків привертають тест-методи, які дозволяють просто і швидко зафіксувати ефект реакції – візуально, рідше – за допомогою спеціальних пристроїв. [1]. Основою створення тест-засобів є іммобілізація реагентів на твердих носіях, які повинні забезпечувати високі кінетичні характеристики, стійкість і зручність в умовах виконання аналізу і на відміну від екстракційно-фотометричного визначення, твердофазна спектроскопія не потребує токсичних розчинників та забезпечує екологічну безпечність аналізу. В якості матеріалу-носія використовують різноманітні матриці, найбільш широкого використання отримали кремнезем, целюлоза, пінополіуретани, желатинові плівки, індикаторний папір. Для визначення аскорбінової кислоти відомий широкий асортимент методів визначення [2-6]. Однак, переважна більшість з них вимагає залучення спеціального обладнання та висококваліфікованого персоналу. Тому актуальним залишається проблема розробки простих, надійних методів її визначення. Актуальність нашого дослідження обумовлена необхідністю створення тест-методу визначення аскорбінової кислоти, який би задовольняв вимогам, що висуваються до сучасних методів контролю якості, а саме: експресність, однотадійність, простота виконання, відсутність потреби у складному обладнанні та висококваліфікованому персоналі. З метою пошуку нових аналітичних форм визначення аскорбінової кислоти (АК) використано її здатність до окисно-відновних реакцій з варіаміновим синім, що дало можливість розробити на цій основі візуальний тест-метод її визначення.

### Експериментальна частина

Застосування аскорбінової кислоти (АК) в якості відновника засновано на реакції її окислення до дигідроаскорбінової кислоти.

З метою пошуку реагенту для визначення АК нами було досліджено ряд барвників, зокрема, які володіють окисно-відновлюваними властивостями і потенціал яких в умовах визначення є вищий за потенціал АК (тобто ЕРС реакції була більше 0). Також зверталась увага на зворотність реакції АК з відповідним барвником з метою отримання зворотного сенсора для визначення АК.

В роботі досліджено барвник варіаміновий синій (ВС): N-(n-метоксифеніл)-п-фенілендіамін – широко розповсюджений аналітичний редокс-реагент в титриметрії, спектрофотометрії, каталіметрії [7]:



Константи дисоціації: HInd pK 6,6(5,9).

Розчини барвника ( $1 \times 10^{-3}$  М) готували розчиненням точної наважки в дистильованій воді, аналогічно готували і розчин АК.

Одним з важливих моментів в розробці тест-методів є підбір матриці, яка дає максимальну ефективність аналітичного сигналу для візуальної ідентифікації. В даній роботі в якості матриці використовували: хроматографічний папір марки FN 11, 90 g/qm, 280×40 mm; желатинову плівку (проявлена кольорова фотоплівка фірми Konica); желатинову плівку (не проявлена кольорова фотоплівка фірми AGFA); фотопапір (універсал-1, гладкий білий, полукартон, глянцевиий, нормальний

Київського заводу світлочутливих матеріалів „Фотон”), медичний препарат Ентеросгель. Також використовували фотопапір для кольорового лазерного принтера фірми Хегох Colotech, який виявився оптимальною матрицею для даного тест-методу.

Інтерес до механізму окислених перетворень барвника викликає його аналітична значимість. Відомо, що ВС окислюється з утворенням на першій стадії катіон-радикал, а на другий – імінохіноідний катіон.

В ході експерименту нами помічено, що велике значення для зворотності процесів окислення-відновлення має час приготування розчину барвника.

Свіжоприготовлений розчин ВС легко окислюється і відновлюється. Протягом тижня активність процесу окислення-відновлення змінюється.

В літературі [7] описано окислення варіаційного синього амоній персульфатом, йодатом, калій періодатом. Реакція окислення амоній персульфатом протікає близько 20 хвилин, залежність оптичної густини від часу окислення має пряmlinійну залежність. Спектрофотометричним методом нами було вивчено реакцію окислення-відновлення ВС. В якості окислювача використовували  $K_2Cr_2O_7$ , концентрацію якого змінювали від  $10^{-1}$  г/екв/л до  $10^{-3}$  г/екв/л.

Результат експерименту приведені на рис. 1.

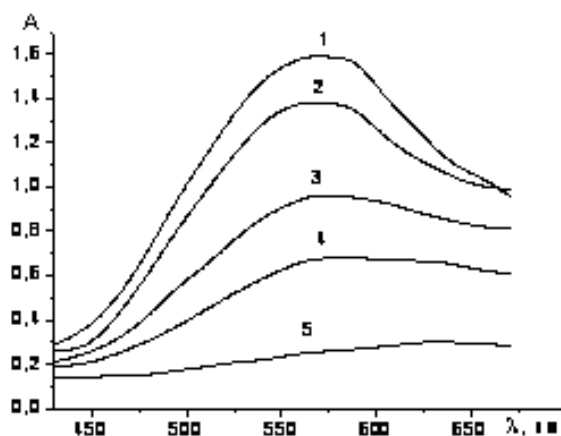


Рис. 1. Вплив концентрації калій біхромату на спектрофотометричні характеристики ВС:

$C_{VC} = 1 \times 10^{-3}$  М;  $SK_2Cr_2O_7$  (г/екв/л): 1 – 0; 2 – 0,61; 3 – 1,22; 4 – 2,44; 5 – 3,66.

Таким чином для досягнення рівноваги реакції окислення ВС достатньо концентрації  $K_2Cr_2O_7$   $10^{-1}$  г-екв/л. Для вивчення оптимальних умов проведення реакцій окислення – відновлення, попередньо нами було досліджено послідовність зливання реактивів, вплив кислотності розчину та концентрації окисника (калій біхромату) на швидкість перебігу реакцій. Найкращий порядок виконання реакції: Барвник + сульфатна кислота + калій біхромат + аскорбінова кислота. Цей порядок зливання забезпечує зворотність процесу окислення – відновлення ВС. Це може бути використано як аналітична форма для візуального визначення АК.

Зазвичай використання тест-систем дозволяє отримувати лише напівкількісну інформацію щодо вмісту тої чи іншої визначуваної речовини. Тому похибка визначення даним методом може складати декілька відсотків. З метою покращення цих характеристик ми спробували використати відомі комп'ютерні методики, які дозволяють оцифровувати отримані дані за допомогою сканерів в кольоровому режимі і обробляти дані за допомогою програми Adobe Photoshop CS 8.0 [8-9].

Експериментально було побудовано кольорову еталонну шкалу за допомогою програми Adobe Photoshop CS 8.0. По отриманих даних за допомогою цієї програми кожний колір має свій коефіцієнт кольоровості, насиченості, світлості. Це співвідношення кольорів червоного, синього і зеленого, які дають вихідний колір. А також визначили, яка суміш червоного (Red), синього (Blue) і зеленого (Green) відповідає за даний колір.

В кольориметрії для візуального тестового визначення велике значення має вибір та обробка матриці. Відсутність власного забарвлення матриці полегшує візуальну та фотометричну оцінку зміни забарвлення матриці після її контакту з визначуваною речовиною.

Для тест-визначення АК велике значення має умова введення в матрицю ВС. Він володіє окисно-відновними властивостями і його поведінка залежить від умов перебігу реакції. Для отримання аналітичного сигналу (зміна кольору) в якості окисника ВС

нами використано  $K_2Cr_2O_7$ . Дана реакція проходить в часі, тому необхідно було вивчити вплив часу окисника ВС, іммобілізованого в матрицю. Необхідні реагенти вводили в матрицю сорбцією з розчину. З цією метою було проведено двофакторний експеримент, тому модифікація матриці складається з двох стадій. Спочатку фотопапір витримували у розчині ВС (1, 5, 15 хвилин), а потім обробляли різний час в кислому розчині з калій біхроматом. Також ми проводили дослідження впливу часу на окислення матриці біхроматом калію, але носій перед тим витримували в розчині ВС 15 хвилин. Отримали результати наведені в табл. 1

**Таблиця 1.** Вплив часу на окислення матриці (при сорбції ВС 15 хвилин) калій біхроматом.

Час витримки фотопаперу в $K_2Cr_2O_7$ , с	R	G	B	R+G+B (коефіцієнт кольоровості)
5	161	140	132	433
10	160	139	131	430
30	159	138	130	427
60	158	137	129	424
120	157	135	128	420

Як показав двофакторний експеримент, оптимальний час витримки фотопаперу в розчині ВС складає 15 хвилин, а час окислення з  $K_2Cr_2O_7$  - 60 секунд. Це видно з того, що колір модифікованої матриці є насичений та після 60 секунд витримки в розчині калій біхромату не змінюється.

Діапазон концентрацій АК підбирали таким чином, щоб візуально можна було спостерігати різницю в забарвленні з найближчими концентраціями. Шкала визначуваних концентрацій складає: від 0,00176 мг/л – 17,6 мг/л. Для зручності її використання отримували комп'ютерну еталонну шкалу кольорів за допомогою сканування зразків – еталонів.

З метою практичного використання розробленої тест – системи, ми вивчили вплив заважаючих іонів, зокрема таких, які можуть зустрічатись одночасно в медичних препаратах та в деяких харчових продуктах. Це такі іони, як  $SO_4^{2-}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $NO_3^-$ ,  $Cl^-$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $C_2O_4^{2-}$  та лимонна кислота. Порівнявши отримані результати з еталонною шкалою

визначення АК, ми дослідили, що визначенню крім  $Cu^{2+}$  та  $Cl^-$  іонів не заважають вище наведені іони та лимонна кислота.

Розроблена тест-система була використана для визначення АК в медичних препаратах. Для цього брали смужку фотопаперу оброблену реагентами та занурювали в розчин лікарської речовини (1 хвилина), підсушували. Сканували та порівнювали з еталонною шкалою. Правильність результатів аналізу було перевірено йодометричним методом. В табл. 2 наведені отримані результати.

**Таблиця 2.** Результати визначення АК у фармацевтичних препаратах.

Назва препарату	Вміст АК		
	за інструкцією	за розробленою методикою	йодометричним методом
АК розчин 5% для ін'єкцій	5 % (50мг/мл)	$44 \pm 5$ мг/мл	$48,4 \pm 0,2$ мг/мл
MaxGrip	15 мг/100г	$11 \pm 7$ мг/100г	$14,6 \pm 0,3$ мг/100г

### Висновки

Підібрано новий реагент та матрицю для визначення АК. Вивчено стійкість розчинів ВС в часі, вплив природи та концентрації його окисника. Знайдено оптимальний порядок обробки матриці реагентами. Запропоновано метод обробки результатів визначення АК за допомогою комп'ютерної програми Adobe Photoshop CS 8.0.

### Література

1. Запорожець О.А. Комбіновані спектроскопічні та візуальні тест-методи аналізу: конспект лекцій. Вибране розділів спецкурсу «Фотометричні та люмінесцентні методи аналізу» для студентів хімічного факультету. – К.: «Київський центр», 2005. – 40 с.
2. Амелин В.Г., Третьяков А.В. Пластини для тонкослойной хроматографии с адсорбционно закрепленными реагентами в химических тест – методах анализа // Журн. аналит. химии. – 2005. – т. 60, № 3 – С. 291.
3. Гавриленко Н.А., Мокроусов Г.М. Оптический сенсор для определения аскорбиновой кислоты // Журн. аналит. химии. – 2004. – т. 59, № 9 – С. 967-970.

4. Еремина З.И., Кротонова В.В. Кількісне визначення кислоти аскорбінової в її лікарських формах // Фармація. – 1991. – т. 18, № 6 – С. 51-53.
5. Andreu Y., Susana de Marcos, Juan R. Sensor film for Vitamin C determination based on absorption properties of polyaniline // Talanta. – 2005. – V. 65. – P. 1045-1051.
6. Рейн Л.Г., Рубцов В.К. Определения аскорбиновой кислоты в лекарственных препаратах // Фармація. – 1969. – т. 18, № 1 – С. 65-67.
7. Биленко О.А., Панкратов А.Н., Степанов А.Н., Муштакова С.П. Окисление вариаминового синего в водноорганических средах // Журн. аналит. химии. – 1989. – т. 44, № 11 – С. 1976-1981.
8. Кларк Т. Компьютерная химия. Практическое руководство по расчетам структуры и энергии молекулы. – М.: Мир, 1990. – 383 с.
9. Решетняк Е.А., Микитина Н.А., Логинова Л.П. Предел обнаружения в тест-методах анализа с визуальной индикацией. Влияющие факторы // Журн. аналит. химии. – 2005. – т. 60, № 10 – С. 1102-1109.

## TEST-METHOD FOR DETERMINATION OF ASCORBIC ACID

**Voronich O.G., Breusova K.V., Chepinets O.M.**

The new test-method for determination ascorbic acid from use dye Variamin blue. Study influence nature matrix for putting dye, and other factors ( time contact bearer from AA, nature oxidant, succession putting reagents on photographic paper, stability solution dye in time, research influence prevent ions) on functioning create test-system. Cultivated new methods for semiquantitative determination ascorbic acid in various object.