

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

**БАС ЮЛІЯ ПЕТРІВНА**

УДК 543.42:546-328:615.074:543.87:547.98:577.175.5

**ФОСФАТНІ ГЕТЕРОПОЛКИСЛОТИ ЯК ТВЕРДОФАЗНІ ОКИСНО-  
ВІДНОВНІ РЕАГЕНТИ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КАТЕХОЛАМІНІВ,  
ПОЛІФЕНОЛІВ ТА ОЦІНКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ  
АКТИВНОСТІ**

02.00.02 – аналітична хімія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата хімічних наук

Київ – 2013

Дисертація є рукопис.

Робота виконана на кафедрі аналітичної хімії хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України.

Науковий керівник: доктор хімічних наук, професор  
**Запорожець Ольга Антонівна,**  
Київський національний університет  
імені Тараса Шевченка МОН України, м. Київ,  
завідувач кафедрою аналітичної хімії

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор  
**Чмиленко Федір Олександрович,**  
Дніпропетровський національний університет  
імені Олеся Гончара МОН України, м. Дніпропетровськ,  
завідувач кафедрою аналітичної хімії

кандидат хімічних наук, доцент  
**Коркуна Ольга Яремівна,**  
Львівський національний університет  
імені Івана Франка МОН України, м. Львів,  
доцент

Захист відбудеться “10” червня 2013 р. о 16<sup>00</sup> год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.03 Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64, хімічний факультет, Велика хімічна аудиторія.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України (м. Київ, вул. Володимирська, 58, кім. 12).

Автореферат розісланий “30” квітня 2013 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
доктор хімічних наук, професор



О. В. Іщенко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

*Актуальність теми.* Останнім часом спостерігається стрімке зростання виробництва лікарських форм, фітопрепаратів, біологічних добавок і продуктів харчування з високим вмістом органічних відновників, так званих антиоксидантів. Їхня популярність обумовлена здатністю нейтралізувати негативну дію на здоров'я людини вільних радикалів, що утворюються в організмі за несприятливих екологічних умов, викликаючи онкологічні та серцево-судинні захворювання. До таких речовин відносять інгібітори вільних радикалів – поліфеноли. Для контролю якості фітопрепаратів та біодобавок застосовують такі інтегральні показники, як сумарний вміст поліфенолів та загальну антиоксидантну активність (АОА). Переважна більшість існуючих методик оцінки АОА вимагають застосування спеціального обладнання і малодоступних та дорогих реактивів, оскільки базуються на радикальних реакціях. Тому розробка простих та експресних методик оцінки вмісту поліфенолів та контролю АОА різноманітних об'єктів є нагальною потребою сучасної аналітичної хімії.

Катехоламіни – важливий клас фізіологічно активних сполук, що беруть участь у регулюванні діяльності серцево-судинної системи і функцій гладкої мускулатури. Завдяки судинозвужуючій дії такі катехоламіни, як адреналін і дофамін, входять до складу лікарських препаратів, зокрема анестетиків місцевої дії. Однак поряд із пролонгацією анестезуючої дії основного компоненту катехоламіни підвищують кров'яний тиск і збільшують серцеві ритми, тому контроль мінімального заявленого вмісту їх у таких препаратах є необхідною та актуальною задачею аналізу.

Незважаючи на наявність новітніх інструментальних методів визначення відновників органічної природи, найбільш доступними залишаються спектрофотометричні (СФ) методики, що базуються на відновленні гетерополікислот (ГПК) структури Кеггіна. Втім основним недоліком таких методик є незадовільна відтворюваність результатів аналізу, яка зумовлена псевдоколоїдним станом та незадовільною стабільністю ГПК у розчині. Більш стабільними, чутливими і водночас простими для використання виявилися твердофазні окисно-відновні реагенти (ТР). Для визначення аскорбінової кислоти і гідразину запропоновано твердофазно-спектрофотометричні (ТСФ) та візуально-тестові (ВТ) методики, що базуються на отриманні у розчині з наступним вилученням модифікованими сорбентами «синіх» форм молібдофосфатних ГПК структури Доусона та Кеггіна. Однак такий підхід не дає можливості повністю позбавитись вказаних недоліків. Більш перспективними вбачаються методи із застосуванням ТР на основі іммобілізованих ГПК. Втім даних щодо застосування іммобілізованих «жовтих» форм різнолігандних ГПК для визначення катехоламінів, поліфенолів, а також оцінки АОА в літературі не виявлено.

Таким чином, актуальність роботи обумовлена нагальною потребою розробки чутливих і водночас експресних та комерційно доступних ТР для твердофазно-спектрофотометричного та візуального тест-визначення катехоламінів та поліфенолів рослинного походження, насамперед у лікарських препаратах, природних і біологічних об'єктах, а також оцінки антиоксидантної активності фітопрепаратів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження за темою дисертації виконувалось на кафедрі аналітичної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України відповідно до науково-дослідної тематики кафедри та держбюджетних тем «Комбіновані та гібридні методи аналізу із застосуванням адсорбентів, композиційних матеріалів та міцелярних екстрагентів» (номер державної реєстрації 0108U003866) та «Органомінеральні наноматеріали та супрамолекулярні системи для вилучення, концентрування та визначення аналітів різної природи» (номер державної реєстрації 0111U006261).

**Мета і задачі дослідження:** розробка твердофазних редокс реагентів на основі окиснених форм різнолігандних молібдотибієвофосфатної та молібдовольфрамфосфатної (реактив Фоліна) гетерополікислот структури Кеггіна для визначення загального вмісту біологічно активних органічних відновників, а саме катехоламінів та поліфенольних сполук, які виявляють антиоксидантні властивості.

Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити такі задачі:

- здійснити вибір індикаторних систем для визначення катехоламінів та поліфенолів;
- дослідити оптимальні умови вилучення окиснених форм фосфатних ГПК із водного розчину кремнеземом, що модифікований тетрадециламоній нітратом;
- розробити твердофазні реагенти на основі кремнезему, модифікованого тетрадециламоній нітратом та молібдотибієвофосфатною і молібдовольфрамфосфатною гетерополікислотами структури Кеггіна;
- розробити оптимальні умови взаємодії іммобілізованих ГПК із катехоламінами та поліфенолами на межі розділу фаз для твердофазно-спектрофотометричного їх визначення;
- розробити оптимальні умови для візуального тест-визначення загального вмісту катехоламінів та поліфенолів із застосуванням іммобілізованих «жовтих» форм ГПК;
- охарактеризувати метрологічні характеристики розроблених твердофазно-спектрофотометричних та візуально-тестових методик із застосуванням робочих розчинів та провести їх апробацію при аналізі лікарських препаратів, сечі, біологічно активних добавок та напоїв.

**Об'єкт дослідження:** окиснені молібдотибієвофосфатна та молібдовольфрамфосфатна гетерополікислоти структури Кеггіна, адсорбовані на кремнеземі, модифікованому тетрадециламоній нітратом.

**Предмет дослідження:** взаємодія іммобілізованих на органомінеральному аніоніті на основі кремнезему молібдотибієвофосфатної і молібдовольфрамфосфатної гетерополікислот з органічними відновниками природного походження, зокрема адреналіном, дофаміном, кверцетином та таніном.

*Методи дослідження:* адсорбція, УФ/Вид-,  $^{31}\text{P}$  ЯМР-спектроскопія, термодесорбція, молекулярно-абсорбційна та емісійна спектроскопія у розчині, твердофазна спектрофотометрія, спектроскопія дифузного відбиття, рН-потенціометрія, кольорометрія.

*Наукова новизна отриманих результатів* полягає у розробці окисно-відновних твердофазних реагентів на основі силікагелю послідовно модифікованого тетрадециламоній нітратом (ТДАН) та окисненими формами фосфатних гетерополікислот. Встановлено закономірності сорбційного вилучення «жовтих» форм молібдостибієвофосфатного (ГПК1) і молібдовольфрамфосфатного (ГПК2) гетерополіаніонів. Методами адсорбції, термодесорбції та спектроскопії встановлено, що закріплення ГПК на поверхні модифікованого ТДАН силікагелю відбувається як за іоно-асоціативним механізмом, так і завдяки утворенню водневих зв'язків з ОН-групами кремнезему, що за умов утворення моношару сприяє міцному утримуванню ГПК на поверхні кремнезему та стабілізації її окисненої форми. Показано, що при ємності сорбенту за ГПК, що відповідає ділянці моношару, на поверхні формуються іонні асоціати (ІА) із співвідношенням ТДАН:ГПК1 = 6:1 та ТДАН:ГПК2 = 3:1. Ліпшою аналітичною формою для ТСФ і ВТ визначення катехоламінів є іммобілізована ГПК1. Для визначення поліфенолів та оцінки антиоксидантної активності більш чутливою є ГПК2, іммобілізована за полімолекулярним механізмом. За оптимальних умов перебігу гетерофазних редокс реакцій іммобілізовані на силікагелі окиснені форми ГПК відновлюються катехоламінами (адреналіном, дофаміном) та поліфенолами (кверцетином, таніном), що супроводжується контрастною зміною забарвлення сорбенту. На основі іммобілізованої на кремнеземі ГПК2 розроблено твердофазний реагент для ТСФ визначення загального вмісту поліфенолів та візуальний тест-метод для оцінки загальної антиоксидантної активності. Межа виявлення поліфенолів за кверцетином та таніном становить 1,0 і 14 мг/л, відповідно. На основі іммобілізованої ГПК1 розроблено ТСФ та ВТ методики для визначення загального вмісту катехоламінів. Межа виявлення адреналіну та дофаміну становить 1,7 та 10 мг/г, відповідно. Розроблено кольорові тест-шкали для визначення катехоламінів та оцінки антиоксидантної активності за стандартом кверцетин і танін у межах (мг/л) відповідно: 3,0–34 та 1,0–36, 5,0–179.

Новизну отриманих результатів підтверджено двома патентами України на винахід.

*Практичне значення одержаних результатів.* ТР на основі силікагелю, послідовно модифікованого ТДАН та ГПК1, запропоновано для ТСФ та ВТ визначення катехоламінів у фармацевтичних препаратах місцевих анестезій і біологічних рідинах. Тест-визначення адреналіну у фармпрепаратах не вимагає проведення попередньої пробопідготовки. Розроблені методики є простими та експресними і можуть бути використані для цілей фармацевтичного та клінічного аналізу. На основі іммобілізованої ГПК2 розроблено ТСФ та ВТ методики для визначення загального вмісту поліфенолів та оцінки антиоксидантної активності

фітопрепаратів, вин і фруктових соків. Методики характеризуються задовільними правильністю та повторюваністю. Порівняно з кращими аналогами підвищено чутливість визначення і вибірковість відносно аскорбінової кислоти.

Окремі матеріали дисертаційної роботи, а саме твердофазно-спектрофотометричне та візуально-тестового визначення кверцетину, впроваджено у навчальні практикуми спецкурсів „Методи молекулярної спектроскопії” та „Фотометричний та люмінесцентний аналіз об’єктів довкілля” для студентів IV курсу підготовки за ОКР «Бакалавр хімії» хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

**Особистий внесок здобувача.** Постановка задачі досліджень здійснювалась науковим керівником за участі дисертанта. Аналіз даних літератури і експериментальні дослідження проводились автором самостійно. Обговорення, узагальнення, тлумачення результатів досліджень та формулювання загальних висновків проводилося спільно з науковим керівником д.х.н., проф. Запорожець О.А. Обробка результатів спектроскопічних досліджень методом кольорометрії при розробці тест-шкал здійснювалась за участю к.х.н., доц. Зінко Л. С. Експериментальні дослідження закріплення ГПК на поверхні проводились за участю к.х.н., м.н.с. Качана І. А., дослідження гетерофазної взаємодії іммобілізованих ГПК з поліфенолами та катехоламинами проводились за участі студентів Петрух М. В. та Манчук В. В.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати роботи було оприлюднено на: X Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 18–19 травня 2009 р.); 76-й науковій конференції молодих вчених, аспірантів та студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (Київ, 12–13 квітня 2010 р.); VIII Всеукраїнської конференції молодих учених, студентів та аспірантів з актуальних питань хімії (Харків, 11–14 травня 2010 р.); XI Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 18–19 травня 2010 р.); Третій Всеукраїнській науково-практичній конференції «Вода: проблеми і шляхи вирішення» (Житомир, 21–22 грудня 2010 р.); XII Всеукраїнській конференції з міжнародною участю студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 18–20 травня 2011 р.); XIII науковій конференції «Львівські хімічні читання – 2011» (Львів, 28 травня – 1 червня 2011 р.); VI спільній науковій конференції з хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка та університету Поля Сабатьє, м. Тулуза (Тулуза, Франція, 1–3 червня 2011 р.); XIII Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 24–26 квітня 2012 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових робіт, зокрема 5 статей, дві з яких у високорейтингових міжнародних журналах, а також 2 патенти України на винахід та 9 тез доповідей на наукових конференціях, зокрема і міжнародних.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 131 сторінках машинописного тексту, включає 18 таблиць, 47 рисунків; складається зі вступу, 6 розділів та загальних висновків, списку цитованої літератури, що нараховує 210 посилань, та додатків.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність роботи, сформульовано мету та задачі дослідження, зазначено наукову новизну і практичне значення роботи.

У **першому розділі** (огляд літератури) представлено відомості щодо властивостей ГПК як окисно-відновних аналітичних реагентів і систематизовано дані щодо інструментальних методів визначення катехоламінів та поліфенолів. Описано методи кількісної оцінки інтегрального показника якості рослинних препаратів – загальної антиоксидантної активності. Під АОА розуміють загальну кількість відновників, які містяться у зразку і проявляють високу біологічну активність завдяки синергетичному ефекту. На основі критичного аналізу даних літератури доведено, що розробка чутливих, простих та експресних методик визначення зазначених аналітів, що характеризуються екологічною безпечністю та низькою собівартістю, залишається актуальною. Сформульовано основні задачі та способи їх реалізації.

У **другому розділі** наведено умови та методики експериментальних досліджень, охарактеризовано використане обладнання. Обґрунтований вибір матриць та модифікаторів для створення ТР із заданими властивостями. Як матрицю обрали мезопоруватий кремнезем SG-60 (фірми Merck, Німеччина) з огляду на його хімічну і механічну стійкість, відсутність набухання та задовільні седиментаційні властивості. Для надання силікагелю аніонообмінних властивостей, що зберігаються у кислому середовищі, здійснювали попередню функціоналізацію його поверхні адсорбцією четвертинної амонієвої солі (ЧАС) аліфатичної природи – тетрадециламоній нітрату (ТДАН). Як модифікатори для створення окисно-відновних ТР було обрано окиснені форми фосфатних гетерополікіслот, а саме молібдостибієвофосфатну і молібдовольфрамфосфатну ГПК (реактив Фоліна), з огляду на їхні окисно-відновні властивості, стабільність у розчині та високі молярні коефіцієнти світлопоглинання. Наведено методики іммобілізації на поверхні сорбенту ТДАН та його іонних асоціатів (ІА) з ГПК, виготовлення розчинів та зразків для спектроскопічних досліджень, а також формули для розрахунків кольориметричних характеристик, ємності сорбенту та коефіцієнту розподілу.

**Третій розділ** присвячено дослідженню природи закріплення «жовтих» форм молібдостибієвофосфатної ГПК (ГПК1) та реактиву Фоліна (ГПК2) на поверхні модифікованого ТДАН силікагелю.

Сорбцію ГПК здійснювали у статичному режимі за оптимальних умов їхнього існування у розчині (0,5 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Рівновага у системі досягалась впродовж 3 та 5 хв відповідно. Ізотерми адсорбції ГПК1 та ГПК2 можуть бути віднесені до Н1 (рис. 1а) та Н4-типу (рис. 1б), відповідно. Наявність ділянок хемосорбції вказує на

високу спорідненість ГПК до поверхні сорбенту, що може свідчити про іоно-асоціативну природу закріплення ГПК на поверхні. Ділянка ізотерми сорбції ГПК1 у діапазоні концентрацій 1,0–8,0 мкмоль/л формально може бути лінеаризована у координатах Ленгмюра з граничною ємністю сорбенту  $a_{\max}=4,2\pm 0,2$  мкмоль/л (при ємності сорбенту за ТДАН 25 мкмоль/г) та умовною константою сорбції  $2,4\cdot 10^5$  л/моль. З рис. 1б видно, що при збільшенні концентрації ГПК2 у розчині понад 0,1 ммоль/л її вилучення відбувається за механізмом міжмолекулярної взаємодії («С»-ділянка ізотерми).

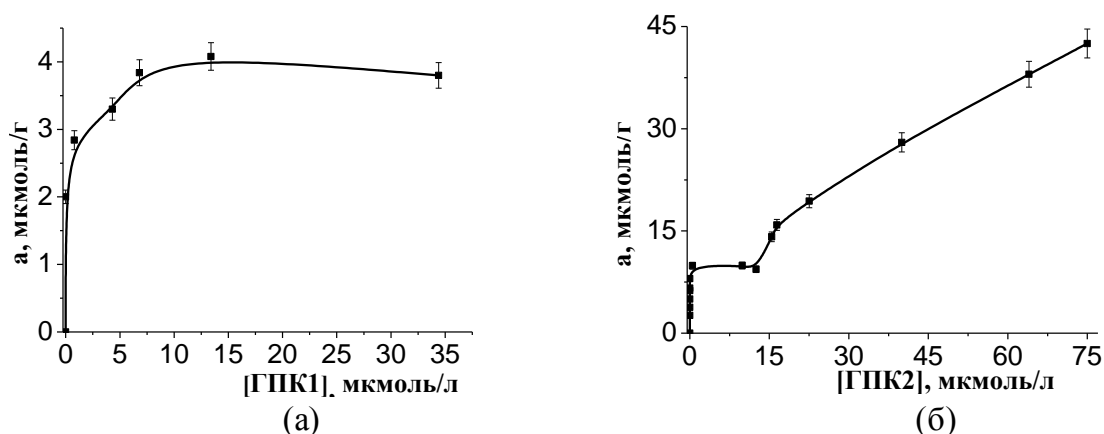
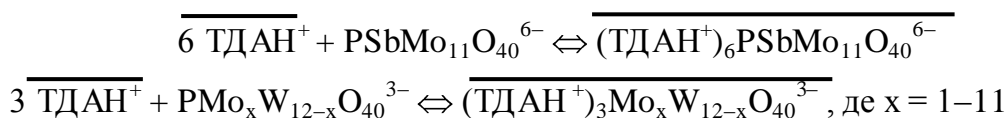
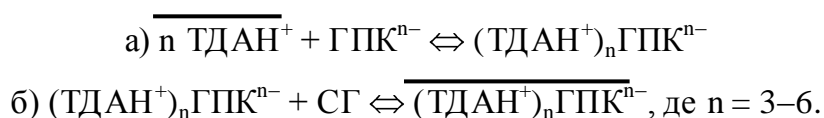


Рис. 1. Ізотерма адсорбції ГПК1 (а) та ГПК2 (б) на ТДАН–СГ;  $a(\text{ТДАН})=25$  мкмоль/г, середовище 0,5 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $T=291\pm 1$  К,  $V/m = 0,5$  л/г (а),  $V/m = 0,25$  л/г (б)

Співвідношення ємності сорбенту за ГПК1 та ГПК2, що відповідає граничній ділянці хемосорбції, до ємності за ТДАН становить відповідно 1:6 та 1:3. З огляду на домінуючі у розчині за цих умов протолітичні форми «жовтих» ГПК, а саме  $\text{PSbMo}_{11}\text{O}_{40}^{6-}$  та  $\text{PMo}_x\text{W}_{12-x}\text{O}_{40}^{3-}$ , можна припустити утворення на поверхні іонних асоціатів:



Утворення на поверхні ІА високої стехіометрії вірогідно у двох випадках. Один з них – це острівковий характер закріплення ТДАН на силікагелі. На користь такого припущення свідчить виявлений раніше методом  $\text{H}^1$  ПМР спектроскопії заморожених водних суспензій значний внесок дисперсійних сил у закріпленні на кремнеземах високомолекулярних аліфатичних ЧАС. З іншого боку, утворення ІА може бути пов'язано із вилученням ГПК у два етапи: а) у сильно кислому середовищі ТДАН частково десорбується і взаємодіє з ГПК у при поверхневому шарі, б) утворений малорозчинний іонний асоціат вилучається силікагелем. Такий механізм утворення ІА на поверхні силікагелю було раніше виявлено для більш розчинної гетероциклічної ЧАС. Утворення ІА в такому випадку може бути представлено схемою:



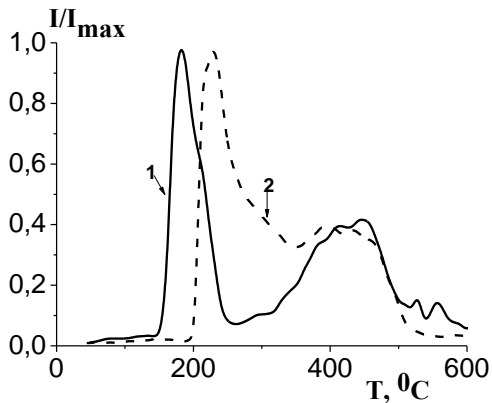


Рис. 2. Нормовані термодесорбційні спектри частинок ТДАН з масою 70 m/Z, який був іммобілізований на поверхні поруватого (1) і непоруватого (2) сорбенту

максимумами. Таким чином, отримані результати підтверджують наявність кількох типів взаємодій у закріпленні ТДАН на поверхні сорбенту, що може бути непрямим підтвердженням острівкового його характеру.

З рис. 3 (крива 2) видно, що у присутності адсорбованої на поверхні ТДАН-СГ ГПК максимум у спектрі термодесорбції зміщується у бік вищих температур, а високотемпературний пік практично зникає. Термодесорбційні спектри ГПК, що адсорбована на ТДАН-СГ (рис.3, крива 2), та імпрегнованого ІА (ТДАН)<sub>6</sub>ГПК1<sup>6-</sup> (рис. 3, крива 3) є подібними, що може свідчити на користь утворення на поверхні модифікованого сорбенту сполуки ідентичного складу. Отримані дані дають підставу вважати, що обидва механізми утворення ІА на поверхні є рівно вірогідними. Втім утворення ІА не пояснює стійкість адсорбованої ГПК до вимивання розчинами електролітів з високою іонною силою. Ймовірно, закріплення ГПК на поверхні сорбенту відбуваються також за участю водневих зв'язків між донорними атомами гетерополіаніону і ОН-групами поверхні, що було раніше доведено для ряду «синіх» ГПК.

У четвертому розділі обґрунтовано вибір аналітичних форм для визначення катехоламінів та поліфенолів. Ліпшою аналітичною формою для визначення поліфенолів та оцінки антиоксидантної активності виявилася іммобілізована у полімолекулярній формі ГПК2. Як модельні сполуки для дослідження хіміко-

Для перевірки першого припущення використали один із найбільш інформативних методів – метод термодесорбції. З рис. 2 видно, що при нагріванні модифікованого силікагелю адсорбований ТДАН десорбується з поверхні в два етапи, про що свідчить два максимуми на кривій. На нашу думку, високотемпературний (при  $T=462^{\circ}\text{C}$ ) максимум десорбції адсорбованого ТДАН (енергія десорбції становить  $141\pm 5$  кДж/моль, частота –  $8,3\cdot 10^7$  с<sup>-1</sup>) може бути обумовлений або поруватістю сорбенту, або наявністю кількох типів взаємодій на поверхні сорбенту. Припущення щодо взаємодії у порах сорбенту не підтвердилось: термограми непоруватого і поруватого сорбентів характеризується двома

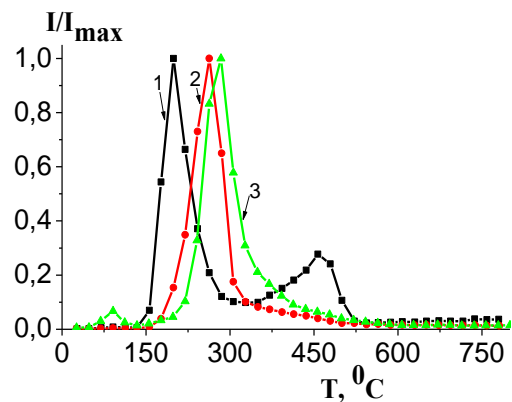
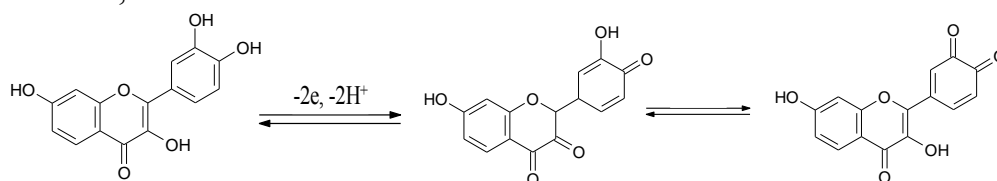


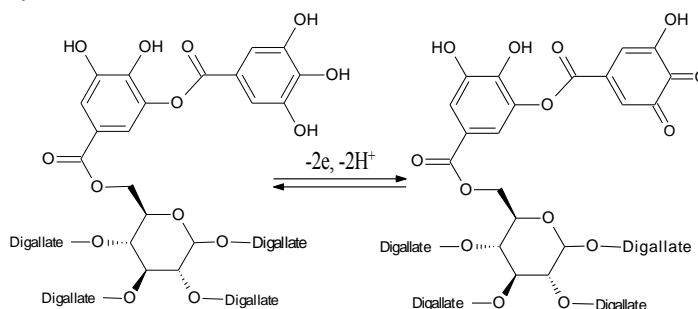
Рис. 3. Нормовані термодесорбційні спектри частинок з масою 70 m/Z адсорбованого ТДАН (1); адсорбованого ІА «ТДАН-ГПК1» (2) та імпрегнованого ІА (3)

аналітичних характеристик іммобілізованої ГПК2 було обрано кверцетин й танінову кислоту (танін), оскільки вони відповідають основним вимогам, які висуваються до речовин-стандартів, а саме доступність препарату і наявність типових властивостей, характерних для досліджуваного об'єкту. Крім того, кверцетин і танін належить до різних класів поліфенольних сполук, мають різну будову та різну кількість гідроксильних груп. Це дає підставу припустити, що вони проявлятимуть різну антиоксидантну здатність.

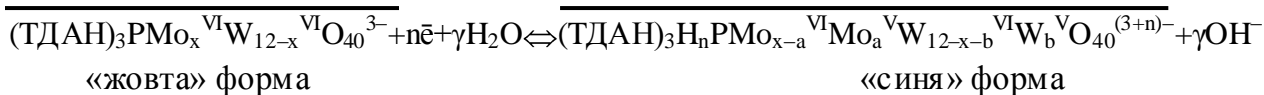
Окисно-відновна рівновага в системі «кверцетин – іммобілізована ГПК2» у 0,35 М розчині  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  встановлюється впродовж 8 хв. За цих умов кверцетин відновлює ГПК, окиснюючись за схемою:



Танін відновлює ГПК2 впродовж 2 хв. Однак взаємодія супроводжується значною десорбцією ГПК2 з поверхні, що можна пояснити дією таніну аналогічною до дії кисневмісних органічних екстрагентів. Для запобігання вимивання реагенту з поверхні сорбенту гетерогенну взаємодію таніну з ГПК2 досліджували крапельним методом. Окиснення таніну відбувається за більш складним, порівняно із кверцетином, механізмом, оскільки танінова кислота містить у своєму складі більшу кількість ОН-груп, які можуть брати участь у окисно-відновній реакції. Схематично окиснення однієї ділянки молекули таніну може бути представлено наступним чином:



При обробці іммобілізованої ГПК2 розчинами поліфенолів відбувається відновлення ГПК з утворенням «синьої» форми згідно схеми:



де  $n = 2-4$ ;  $x = 1-11$ ,  $a, b = 2-4$ .

З рис. 4 видно, що максимум поглинання окисненої і відновленої форм ГПК2 у розчині та на поверхні сорбенту практично співпадають. Це вказує на те, що з відновниками взаємодіє ГПК, що закріплена на поверхні у незмінній формі, тобто за рахунок полімолекулярних взаємодій.

Адсорбована ГПК1 через стабілізацію поверхнею кремнезему взаємодіє із більш сильними, ніж поліфеноли, відновниками – катехоламинами. Як модельні

сполуки для дослідження її хіміко-аналітичних характеристик було обрано адреналін та дофамін.

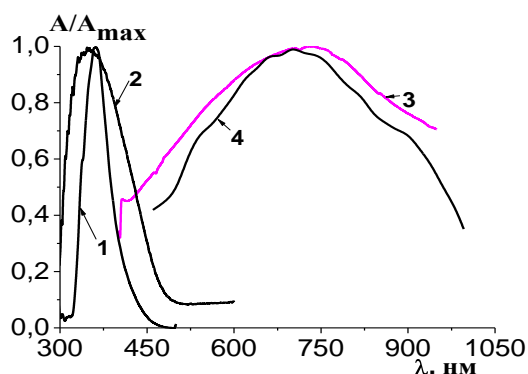
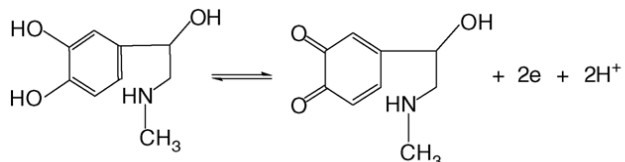


Рис. 4. Нормовані спектри поглинання окисненої та відновленої ГПК2 у розчині (1, 3) та на поверхні сорбенту (2, 4);  $C_{\text{Red}} = 0,1$  ммоль/л,  $V/m = 50$  мл/г,  $\text{pH} = 11,5$

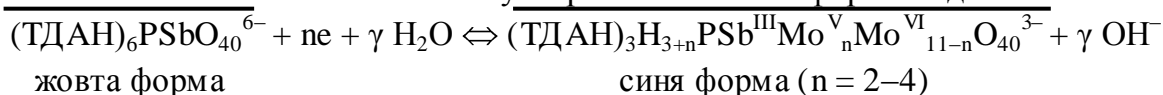
Гетерогенна окисно-відновна реакція катехоламінів з іммобілізованою ГПК1 відбувається у середовищі боратного буферного розчину з  $\text{pH} = 10,6$ , рівновага встановлюється впродовж 10 хв. За цих умов адреналін і дофамін окиснюються за участю двох електронів:



Адреналін

Адреналін-хінон

При обробці іммобілізованої ГПК1 розчином адреналіну чи дофаміну на поверхні сорбенту утворюється «синя» форма згідно схеми:



Поглинання іммобілізованих ГПК зростає пропорційно збільшенню концентрації у розчині кверцетину (рис. 5) та адреналіну (рис. 6), що покладено в основу розробки методики ТСФ визначення поліфенолів і катехоламінів. При цьому спостерігається контрастна зміна кольору сорбенту – від жовтого до синього, що було застосовано для розробки кольорових тест-шкал для напівкількісної оцінки вмісту поліфенолів та біологічно активних амінів.

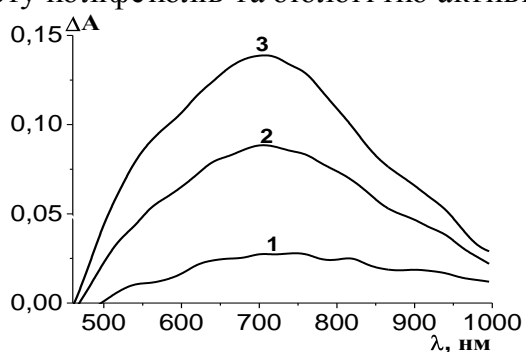


Рис. 5. Спектри поглинання іммобілізованої ГПК2 після обробки розчином кверцетину.  $C_{\text{кверц.}}$ , мг/л: 4,1 (1); 15,2(2); 24,4(3),  $C_{\text{Na}_2\text{CO}_3} = 0,35$  М;  $V/m = 67$  мл/г;  $l = 0,10$  см,  $\Delta A = A - A_{\text{хол}}$

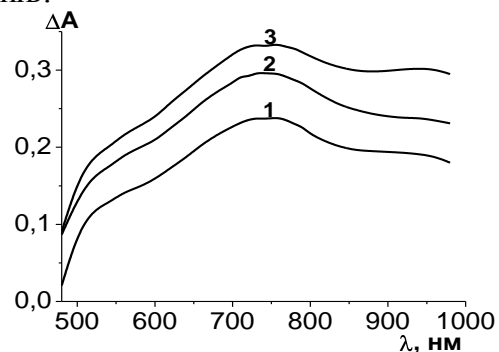


Рис. 6. Спектри поглинання іммобілізованої ГПК1 після обробки розчином адреналіну з концентрацією, мг/л: 8 (1); 33 (2), 82 (3);  $V/m = 67$  мл/г,  $\text{pH} = 10,6$ ;  $l = 0,10$  см,  $\Delta A = A - A_{\text{хол}}$

Параметри градувальних графіків (ГГ) для ТСФ визначення катехоламінів, поліфенолів та оцінки АОА наведено в табл. 1. Видно, що методики характеризуються широким діапазон лінійності та низькою межею виявлення.

На основі ГПК2 розроблено кольорові тест-шкали для візуального тест-визначення антиоксидантної активності при використанні як стандартів кверцетину

і таніну у межах 1,0–36 мг/л та 5,0–179 мг/л відповідно. Для визначення адреналіну у межах 3,0–34 мг/л створено кольорову тест-шкалу з використанням іммобілізованої ГПК1.

Таблиця 1

**Параметри ГГ для ТСФ визначення катехоламінів та поліфенолів,**

$$\Delta A = (a \pm \Delta a) + (b \pm \Delta b) \cdot C, \text{ мг/л}$$

Аналіт	$a \pm \Delta a$	$(b \pm \Delta b), 10^3$	$R^2$	Межа виявлення, мг/л	Діапазон лінійності, мг/л
Дофамін	0,016±0,002	0,60±0,02	0,992	10	15–92
Адреналін	0,002±0,002	3,59±0,06	0,999	1,7	4,6–92
Кверцетин	0,048±0,002	5,4±0,1	0,999	1	3,0–30
Танін	0,047±0,01	2,1±0,2	0,992	14	25–230

З метою розробки методик визначення поліфенолів та катехоламінів у фіто-, фармпрепаратах, напоях та біологічних рідинах було досліджено вплив сторонніх іонів, які наявні у цих об'єктах, це насамперед: аскорбінова кислота, глюкоза, тартрат- та цитрат-іони, іони металів та нітрати. Результати наведено у табл. 2. Видно, що Cu(II) у п'ятикратній кількості не заважає визначенню поліфенолів у соках. Органічні відновники, такі як кофеїн, глюкоза, тартрат-, цитрат-іони, та неорганічні аніони, зокрема нітрати та хлориди не заважають визначенню поліфенолів. Fe(III) та Fe(II) при концентрації  $\leq 0,5$  ммоль/л і  $\leq 1$  ммоль/л відповідно не заважають визначенню як поліфенолів, так і катехоламінів.

Відомо, що для стабілізації медичних препаратів використовують сульфіти, метабісульфіти або аскорбінову кислоту. У біологічних рідинах, зокрема сечі та сироватці крові можуть міститись оксалат та тартрат, що виділяються з сечею при патологічних станах організму та проявляють слабкі відновні властивості. Такі органічні відновники, як кверцетин, тартрат і оксалат та неорганічні відновники, зокрема сульфіти і сульфідні не відновлюють іммобілізовану ГПК1 і не заважають визначенню катехоламінів. Аскорбінова кислота (Аск), як дофамін і адреналін, відновлює ГПК1 за цих умов гетерофазної реакції та заважає визначенню.

Таблиця 2

**Допустимі кількості сторонніх іонів при визначення 75 мкмоль/л таніну ( $K_1$ )**

**та 0,1 ммоль/л адреналіну ( $K_2$ ),  $K = C_{\text{сторонньої речовини}}/C_{\text{аналіту}}$**

Стороння речовина	$K_1$	Стороння речовина	$K_2$
Ca <sup>2+</sup> , Cl <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	100	Fe <sup>3+</sup>	5
Fe <sup>3+</sup>	0,8	Fe <sup>2+</sup>	10
Cu <sup>2+</sup>	5	Cl <sup>-</sup> , SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	100
Цитрат, Тартрат	10	Аск	0,07
Аск	2	Тартрат	100
Глюкоза	97	Оксалат	5

Отже, отримані результати свідчать про перспективність застосування розроблених ТР для визначення катехоламінів та поліфенолів у фармпрепаратах, біологічних рідинах і соках.

У п'ятому розділі охарактеризовано метрологічні характеристики методик ТСФ і ВТ визначення катехоламінів та наведено результати їхньої апробації при аналізі фармпрепаратів та біологічних рідин із застосуванням ГПК1.

Оскільки за хімічною структурою більшість анестетиків є погано розчинними у воді амідами і слабкими основами, для введення в організм використовують їхні солі. У лужному середовищі вони утворюють емульсію, яка частково співосаджує аналіт, а після контакту із сорбентом підвищує його фоновий сигнал та заважає визначенню адреналіну у препараті. Для усунення заважаючого впливу основного компоненту препарату використали два підходи. Перший з них базується на використанні гідрофобного сорбенту Inerton AW для вилучення молекулярної форми основного компоненту препарату. Другий підхід ґрунтується на відокремленні аналіту (адреналіну) у слабколужному середовищі (рН 8,0–8,5) шляхом попередньої його адсорбції на  $Al_2O_3$  з наступним елююванням оцтовою кислотою і визначенням ТСФ та ВТ методами у середовищі боратного буферного розчину з рН=10,6 іммобілізованою ГПК1. Результати визначення вмісту адреналіну у фармацевтичних препаратах місцевих анестезій наведено у табл. 3.

Таблиця 3

**Результати визначення адреналіну у фармацевтичних препаратах за розробленими ТСФ (I) та ВТ (II) методиками з попередньою пробопідготовкою із застосуванням  $Al_2O_3$  (а), Inerton AW (б) та без пробопідготовки (в) (P = 0,95, n = 3–5)**

Препарат	Вміст адреналіну, мг/л					
	Заявлено	Знайдено (Sr)				
		I			II	
		а	б	в	а	в
Ультракаїн Д–С (ампули 2,0 мл)	6,0	5,8±0,8 (0,05)	6,1±0,9 (0,06)	6±3 (0,20)	8±2 (0,17)	9±1 (0,12)
Ультракаїн– Форте	12,0	12±1 (0,03)	Не визначали	6±3 (0,20)	15±2 (0,11)	16±2 (0,10)
Бупівакаїн	5,0	4,8±0,8 (0,07)	5±1 (0,08)	Не визначали	6±3 (0,40)	7±1 (0,12)
Артіфрін	6,0	6,7±0,7 (0,04)	6±1 (0,07)	7±2 (0,1)	7±1 (0,12)	6,8±0,8 (0,09)

Видно, що відносно стандартне відхилення при використанні гідрофобного сорбенту є завищеним, вірогідно через збільшення фонового сигналу модифікованого сорбенту. При використанні  $Al_2O_3$  отримані результати характеризуються задовільними правильністю та повторюваністю. Візуальне тест-визначення не вимагає попередньої пробопідготовки, оскільки суспензія основної речовини не впливає на забарвлення сорбенту.

Визначення катехоламінів у біологічних рідинах проводили після

відокремлення катехоламінів на  $Al_2O_3$  у лужному середовищі. Для врахування впливу матриці при визначенні катехоламінів використовували метод добавок. Результати визначення катехоламінів у сечі та сироватці крові наведено у табл. 4.

Таблиця 4

**Результати визначення катехоламінів у сечі (1, 2) та сироватці крові гемодіалізного пацієнта (3) відділу еферентних технологій «Інституту нефрології АМН України» ТСФ (I) та візуальним тест-методом (II)**

Зразок	$V_{\text{проби}}/V_{\text{ельюату}}$	Вміст адреналіну, мкг/добу (*мг/л)		
		I	II	Норма
1	2,5	$132 \pm 18$	$103 \pm 17$	117–531
2	2,5	$150 \pm 20$	$145 \pm 23$	
3	1,0	$17,7 \pm 0,7^*$	$25 \pm 11^*$	0,1–0,8*

Видно, що отримані результати добре корелюють із загальним вмістом катехоламінів у сечі здорової людини. Вміст катехоламінів, знайдений у сироватці крові гемодіалізного хворого, у 20 разів перевищує норму, що узгоджується із даними літератури щодо підвищення у 10–100 разів вмісту гормонів у людей з порушеннями роботи нирок.

**Шостий розділ** присвячено розробці методик ТСФ і ВТ визначення поліфенолів та оцінки загальної антиоксидантної активності з використанням іммобілізованої ГПК2 та їхній апробації при аналізі фітопрепаратів, фруктових соків, вин. Перевірку правильності отриманих результатів здійснювали їх порівнянням із даними, що було отримано із застосуванням двох СФ методик, одна з яких є вибірковою на окремі поліфеноли і ґрунтується на їх комплексоутворенні з  $Al(III)$ , а інша базується на використанні реактиву Фоліна (РФ) у розчині і є придатною для визначення загального вмісту поліфенолів. Результати визначення поліфенолів (у перерахунку на вміст кверцетину) у препаратах рослинного походження «Кверцетин. Гранули» та «Вин-Віта» розробленим і відомими методами наведено в табл. 5.

Таблиця 5

**Результати визначення вмісту поліфенолів у препаратах рослинного походження розробленою ТСФ методикою (I) і СФ методиками з  $Al^{3+}$  (II) та РФ(III) (P= 0,95, n=3)**

Об'єкт	Вміст кверцетину, мг/г(л*) препарату			
	Заявлено	I	II	III
«Кверцетин. Гранули»	40	$36 \pm 2$	$38,9 \pm 0,7$	$37 \pm 1$
«Вин-Віта»	–	$1225 \pm 41^*$	$42 \pm 5^*$	$1219 \pm 14^*$

Результати визначення вмісту кверцетину у препараті «Кверцетин. Гранули» розробленими і відомими СФ методиками добре корелюють між собою, що вказує на задовільні правильність і повторюваність запропонованих методик. Відмінність результатів, отриманих II методом у випадку напою «Вин-Віта» обумовлена, вірогідно тим, що він містить суміш поліфенолів, основними компонентами якої є олігомерні і мономерні біофлавоноїди, переважно антоціани, а також таніни та катехіни. Вміст флавонолів становить лише 4–6 %. Результати визначення

загального вмісту поліфенольних сполук добре узгоджуються між собою, що свідчить про перспективність застосування розробленого ТР для визначення сумарного вмісту поліфенолів, а також оцінки АОА. В табл. 6 наведено результати визначення загального вмісту поліфенолів і оцінки АОА фруктових соків. Пробопідготовка зразків обмежувалася розбавленням соків фруктів червоних сортів у 50, а зелених сортів – у 5 разів. Результати наведено у перерахунку на вміст кверцетину.

Таблиця 6

**Результати оцінки АОА соків та фруктів із застосуванням ВТ методики, визначення загального вмісту поліфенолів за СФ методикою з РФ у розчині та визначення вмісту кверцетину і його похідних за СФ методикою з Al(III)**

Об'єкт	Вміст, г <sub>кверцетину</sub> /л		
	Кверцетину	Поліфенолів	АОА
Сік гранатовий ТМ «Sandora»	0,0120 ± 0,0007	0,440 ± 0,001	1,6 ± 0,2
Сік виноградний ТМ «Sandora»	0,0130 ± 0,0007	0,420 ± 0,001	1,2 ± 0,1
Сік яблучно-виноградний «Садочок»	0,006 ± 0,004	0,093 ± 0,006	0,5 ± 0,1
Сік виноградно-яблучний «ОКЗДХ»	0,006 ± 0,0004	0,0711 ± 0,0005	0,4 ± 0,1
Сік плоду граната	0,079 ± 0,008	0,950 ± 0,005	6,6 ± 0,2

Оскільки значення АОА залежить не тільки від складу проби, а й від обраного стандарту та умов вимірювання аналітичного сигналу, адекватність запропонованого підходу перевіряють шляхом побудови кореляційних залежностей. На рис. 7 наведено кореляційну залежність між АОА та вмістом кверцетину. Видно, що отримані дані добре корелюють між собою, коефіцієнт кореляції становить 0,997.

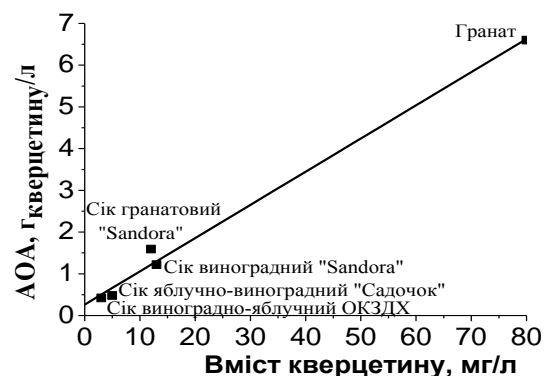


Рис. 7. Кореляція між АОА та загальним вмістом кверцетину у фруктових соках

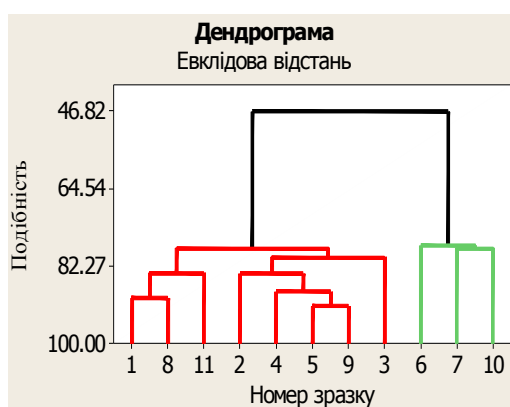


Рис. 9. Дендрограма кластерного аналізу даних табл.7. На осі абсцис зазначено номер зразку

Отримані результати свідчать про придатність розробленого способу як для визначення загального вмісту поліфенолів, так і оцінки АОА у соках.

В табл. 7 наведено результати оцінки загального вмісту поліфенолів у соках та фруктах у перерахунку на вміст таніну. Кореляція між вмістом танінів та АОА у проаналізованих об'єктах є більш складною, оскільки у фруктових соках і винах міститься поліфеноли різних класів, для яких важко підібрати єдиний стандарт.

Тому отримані результати було оброблено методом кластерного аналізу, який дає можливість розділити масив даних за ознакою подібності. На дендрограмі (рис. 9) виділено два кластери, до першого кластеру потрапляють соки фруктів червоних сортів та сік фрукту ківі, які за даними літератури містить найбільшу кількість антиоксидантів. Другий кластер включає соки фруктів зелених сортів, основний внесок у АОО яких дають інші класи поліфенольних сполук.

Таблиця 7

**Результати визначення АОО фруктових соків та вин розробленими ТСФ(I) та ВТ методиками (II), вмісту танінів СФ методикою з АІ(III), загального вмісту поліфенолів СФ методикою з РФ у розчині**

№ зразку	Об'єкт	Вміст, $\Gamma_{\text{таніну}}/\text{л}$			
		Танінів	Поліфенолів	АОО (I)	АОО (II)
1	Сік граната	$3,3 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,4$	$5,2 \pm 0,9$
2	Сік винограду	$1,9 \pm 0,1$	$2,32 \pm 0,09$	$5,8 \pm 0,5$	$6,5 \pm 0,6$
3	Сік зеленого яблука	$0,42 \pm 0,1$	$0,40 \pm 0,02$	$4,1 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,4$
4	Сік ківі	$0,8 \pm 0,1$	$0,95 \pm 0,04$	$6,3 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,4$
5	Сік гранатовий ТМ «Jaffa»	$1,2 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,2$	$5,0 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,4$
6	Сік гранатовий ТМ «Sandora»	$0,9 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,4$	$1,6 \pm 0,3$
7	Сік виноградний ТМ «Sandora»	$0,8 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,6$	$2,0 \pm 0,4$
8	Сік із іспанського винограду ТМ «Sandora»	$2,9 \pm 0,3$	$5,2 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,5$	$5 \pm 1$
9	Сік виноградний ТМ «Rich»	$1,6 \pm 0,1$	$3,7 \pm 0,2$	$5,57 \pm 0,02$	$5,3 \pm 0,4$
10	Біле вино	$0,5 \pm 0,1$	$0,85 \pm 0,06$	$1,7 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,2$
11	Червоне вино	$3,2 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,3$	$3,6 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,8$

Таким чином, отримані результати свідчать про перспективність розроблених методик для оцінки АОО напоїв і БАДів, що може бути використано з метою призначення адекватної антиоксидантної терапії для покращення загального стану організму людини.

## ВИСНОВКИ

1. Шляхом послідовного модифікування кремнезему четвертинною амонієвою сіллю та ГПК1 і ГПК2 отримано нові твердофазні реагенти, що характеризуються високою ємність за ГПК на ділянці моношару ( $4,2$  та  $9,1$  мкмоль/г відповідно). Методами адсорбції, молекулярної спектроскопії та термодесорбції з'ясовано, що міцному утримуванню ГПК на поверхні кремнезему за умов утворення моношару сприяє іоно-асоціативна взаємодія ГПК з іммобілізованим ТДАН та утворення водневих зв'язків ГПК з ОН-групами поверхні. Таке закріплення модифікатора на сорбенті сприяє стабілізації окиснених ГПК до дії відновників, що зумовлює збільшення вибіркової твердофазних ГПК у порівнянні із нативною їх формою у розчині і розширенню робочого діапазону у напрямку збільшення рН розчину.

2. На основі проведених досліджень обґрунтовано вибір аналітичних форм для визначення катехоламінів та поліфенолів. Ліпшою аналітичною формою для визначення поліфенолів та оцінки антиоксидантної активності виявилася іммобілізована у полімолекулярній формі ГПК2, яка за окисними властивостями перевершує хемосорбовану її форму. Адсорбована ГПК1 через стабілізацію поверхнею кремнезему взаємодіє лише із більш сильними, ніж поліфеноли, відновниками, що сприяє збільшенню вибірковості ТР на її основі.

3. Іммобілізована ГПК2 відновлюється поліфенолами у середовищі 0,35 М карбонату натрію впродовж 8 хв, що супроводжується зміною забарвлення сорбенту. Це було покладено в основу ТСФ визначення поліфенолів з межею виявлення 1,0 мг/л за кверцетином і 14 мг/л за таніном. Лінійність градувального графіка зберігається до 30 і 230 мг/л, відповідно. Іммобілізована ГПК1 відновлюється катехоламінами у середовищі боратного буферного розчину з рН = 10,6 впродовж 10 хв, що супроводжується контрастною зміною забарвлення сорбенту від жовтого до синього. Це було покладено в основу ТСФ визначення катехоламінів з межею виявлення 1,7 мг/л адреналіну та 10 мг/л дофаміну. Лінійність градувальних графіків зберігається в межах (мг/л): 4,6–92 та 15–92 адреналіну і дофаміну, відповідно.

4. Для оцінки візуальним тест-методом антиоксидантної активності за стандартом кверцетин та танін розроблено кольорові тест-шкали з використанням ТР на основі іммобілізованої ГПК2 у межах 1,0–36 та 5,0–180 мг/л відповідно. На основі іммобілізованої ГПК1 розроблено кольорову тест-шкалу для визначення адреналіну у межах 3,0–34 мг/л.

5. Дослідження впливу сторонніх іонів показало, що відновники, які використовують для консервування фармацевтичних препаратів не заважають визначенню катехоламінів іммобілізованою ГПК1. Відновники та окисники, що містяться у біологічних рідинах також не заважають визначенню катехоламінів у 10–100-кратних кількостях. Визначенню поліфенолів та оцінці антиоксидантної активності у фітопрепаратах та фруктових соках іммобілізованою ГПК2 не заважає аскорбінова кислота у двократній кількості.

6. Апробація розроблених методик визначення катехоламінів іммобілізованою ГПК1 для аналізу препаратів місцевих анестезій та біологічних рідин (сечі та сироватки крові) свідчить про їх придатність для цілей фармацевтичного та клінічного аналізу. Методики є простими у виконанні та не поступаються за чутливістю відомим інструментальним методикам. Узгодження отриманих результатів оцінки антиоксидантної активності фітопрепаратів, фруктових соків та вин розробленими методиками із вмістом поліфенолів та танінів вказує на придатність іммобілізованої ГПК2 для оцінки інтегральних показників якості рослинної сировини.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Запорожець О.А. Immobilization of molybdo-phosphoric, molybdo-antimono-phosphoric and molybdo-silicic heteropoly acids onto silica via adsorption / Запорожець О.А., Качан І.А., Зінько Л.С., **Бас Ю. П.** // Вісник Харків. нац. ун-ту. Сер. Хімія. – 2008. – Вип. 16(39), № 820 – С. 183–187. *Особистий внесок автора: проведення експериментальних досліджень щодо сорбції гетерополікислот на силікагелі, участь у обговоренні результатів дослідження.*

2. Interaction of molybdo-phosphoric and molybdo-antimono-phosphoric heteropoly acids with silica gels modified with aliphatic and heterocyclic quaternary ammonium salts / О. А. Zaporozhets, I. A. Kachan, L. S. Zinko, **J. P. Bas** [et. al] // Adsorption Scie. Technol. – 2011. – Vol. 29, № 3. – P. 319-330. *Особистий внесок автора: проведення експериментальних досліджень щодо вилучення гетерополікислоти тетрадециламоній нітратом та люцигеніном, іммобілізованими на силікагелі, участь у обговоренні результатів дослідження та написанні статті.*

3. Solid-phase spectrophotometric and test determination of silicate in natural water / О. А. Zaporozhets, **J. P. Bas**, I. A. Kachan, [et. al] // Talanta. – 2012, Vol 90. – P. 85–90. *Особистий внесок автора: проведення експериментальних досліджень щодо природи закріплення ГПК на поверхні кремнезему, участь у обговоренні результатів дослідження та написанні статті.*

4. Запорожець О. А. Іммобілізований реактив Фоліна для оцінки вмісту поліфенолів у фітопрепаратах / О. А. Запорожець, **Ю. П. Бас**, М. В. Петрух // Вопросы химии и хим. технологии. – 2012. – № 5. – С. 105–109. *Особистий внесок автора: розробка твердофазного реагенту та умов твердофазно-спектрофотометричного і тест-визначення поліфенолів у фітопрепаратах, участь у обговоренні результатів дослідження та написанні статті.*

5. **Бас Ю. П.** Змішана молібдофосфорностибієва ГПК як твердофазний аналітичний реагент для визначення катехоламінів / Ю. П. Бас, О. А. Запорожець // Вісник Черкаського ун-ту. – 2013. – Т. 267, № 14. – С. 19–25. *Особистий внесок автора: розробка твердофазного реагенту та умов твердофазно-спектрофотометричного визначення катехоламінів у фармпрепаратах, участь у обговоренні результатів дослідження та написанні статті.*

6. Спосіб визначення залального вмісту поліфенолів. Патент України на винахід № 101250. МПК G01N 21/63, C07C 39/00, C07C 39/12 / О. А. Запорожець, **Ю. П. Бас**, М.В. Петрух. № а2011 10127; заявлено 16.08.2011; надруковано 11.03.2013, Бюл. № 5. 6 с.

7. Спосіб оцінки залального вмісту поліфенолів тест-методом. Патент України на винахід № 101251. МПК G01N 21/63, C07C 39/00, C07C 39/12 / О. А. Запорожець, **Ю. П. Бас**, М.В. Петрух. № а2011 10128; заявлено 16.08.2011; надруковано 11.03.2013, Бюл. № 5. – 5 с.

8. Петрух М. В. Іммобілізований на силікагелі реактив Фоліна для оцінки антиоксидантної активності фітопрепаратів та харчових біодобавок / М. В. Петрух, **Ю. П. Бас**, О. А. Крушинська // Зб. текстів виступів на X Всеукр. наук. конф. студ. і

асп. [“Сучасні проблеми хімії”] (Київ, 18–19 травня 2009 р.) / Київський нац. ун–т ім. Тараса Шевченка. – К., 2009. – С. 166.

9. Манчук В. В. Імобілізована на силікагелі молібдостибієвофосфорна гетерополікислота для оцінки антиоксидантної активності / В. В. Манчук, **Ю. П. Бас**, О. А. Запорожець // Зб. текстів виступів на XI Всеукр. наук. конф. студ. і асп. [“Сучасні проблеми хімії”] (Київ, 18–19 травня 2010 р.) / Київський нац. ун–т ім. Тараса Шевченка. – К., 2010. – С. 176.

10. Крушинська О. А. Оцінка антиоксидантної активності фітопрепаратів та харчових біодобавок імобілізованими гетерополікислотами / Крушинська О.А., **Бас Ю.П.**, Петрух М.В., [та ін.] // Зб. текстів виступів на 76-ій наук. конф. молодих учених, асп. і студ. [«Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» ] (Київ, 12–13 квітня 2010 р.) / Київський нац. ун–т харч. тех. – К.: НУХТ, 2010. – с. 141

11. Запорожець О. А. Твердофазні реагенти на основі імобілізованих гетерополікислот для визначення поліфенолів і аскорбінової кислоти / Запорожець О.А., **Бас Ю.П.**, Петрух М.В., Манчук В.В. // Зб. текстів виступів на VIII Всеукраїнській конференції молодих вчених студентів та аспірантів з актуальних питань хімії (Конференція присвячується 55-річчю НТК «Інститут монокристалів» НАН України), (Харків, 11–14 травня 2010р.) / НТК «Інститут монокристалів», Харківський нац. ун-т ім. В.Н. Каразіна. – Харків, 2010. – с. 7

12. **Бас Ю.П.** Імобілізований на силікагелі реактив Фоліна для визначення загального вмісту органічних відновників у фітопрепаратах та напоях / Бас Ю.П., Петрух М.В., Запорожець О.А. // Зб. текстів виступів на Третій всеукраїнській науково-практичній конференції [«Вода: проблеми та шляхи вирішення»] (Житомир, 21–22 грудня 2010 р.) / Житомирський нац. агроекономічний ун-т. Житомир, 2010. – с. 75

13. **Бас Ю. П.** Імобілізований на силікагелі реактив Фоліна для оцінки антиоксидантної активності фітопрепаратів та харчових біодобавок / Ю. П. Бас, М. В. Петрух, О. А. Запорожець // Зб. текстів виступів на XII Всеукр. наук. конф. студ. і асп. [“Сучасні проблеми хімії”] (Київ, 18–20 травня 2011 р.) / Київський нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. – К., 2011. – С. 174.

14. **Бас Ю. П.** Імобілізований на силікагелі гетерополікислоти як аналітичні реагенти для визначення органічних відновників / Ю. П. Бас, М. В. Петрух, В. В. Манчук, О. А. Запорожець // Зб. текстів виступів 13-й науковій конференції [“Львівські хімічні читання-2011”] (Конференція приурочена 350-річчю Львівського нац. ун–ту ім. І. Франка), (Львів, 28 травня – 1 червня 2011 р.) / Львівський нац. ун–т ім. І. Франка. – Львів, 2011. – с. А3.

15. Zaporozhets O.A. Determination of organic reductants in phytomedication and beverages using Folin reagent immobilized on silica gel / O. A. Zaporozhets, **J. P. Bas**, M. V. Petrukh // Book of abstr. of 6-th International Chemistry Conference Toulouse-Kiev. – Toulouse, France, 2011. – P34.

16. Манчук В. В. Визначення катехоламінів іммобілізованою на силікагелі фосфорною гетерополікислотою / В. В. Манчук, **Ю. П. Бас**, О. А. Запорожець // Зб. текстів виступів на XIII Всеукр. наук. конф. студ. і асп. [“Сучасні проблеми хімії”] (Київ, 24–26 квітня 2012 р.) / Київський нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. – К., 2012. – С. 163.

### АНОТАЦІЯ

**Бас Ю. П. Фосфатні гетерополікислоти як твердофазні окисно-відновні реагенти для визначення катехоламінів, поліфенолів та оцінки антиоксидантної активності** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 – аналітична хімія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2013.

Дисертаційна робота Бас Ю.П. присвячена розробці твердофазних індикаторних систем на основі кремнеземів, послідовно функціоналізованих високомолекулярною четвертинною амонійною сіллю та фосфатними різнолігандними гетерополіаніонами, для твердофазно-спектроскопічного і візуально-тестового визначення катехоламінів і поліфенолів, а також такого інтегрального показника, як антиоксидантна активність. Досліджено умови іммобілізації на органо-мінеральних кремнеземних сорбентах окиснених форм молібдостибієвофосфатної та молібдовольфрамфосфатної (реактив Фоліна) ГПК. Методом ЯМР-спектроскопії доведено, що за одночасної присутності молібдату, фосфату і стибію(III) у розчині утворюється різнолігандна молібдостибієвофосфатна ГПК. Методами адсорбції, молекулярної спектроскопії та термодесорбції з'ясовано природу закріплення гетерополіаніону на поверхні кремнезему.

Розроблено твердофазний окисно-відновний реагент на основі іммобілізованого реактиву Фоліна для твердофазно-спектрофотометричного і візуально-тестового визначення поліфенолів та оцінки антиоксидантної активності. Межа виявлення поліфенолів складає 1,0 та 14 мг/л (за стандартами кверцетин і танін, відповідно). На основі іммобілізованої різнолігандної молібдостибієвофосфатної ГПК запропоновано методики твердофазно-спектрофотометричного і візуально-тестового визначення катехоламінів. Межа виявлення адреналіну та дофаміну складає 1,7 і 10 мг/л, відповідно. Методики визначення катехоламінів, поліфенолів та антиоксидантної активності апробовано при аналізі препаратів місцевих анестезій та біологічних рідин (сечі та сироватки крові), фітопрепаратів та фруктових соків.

*Ключові слова:* твердофазні реагенти, гетерополікислоти, катехоламіни, поліфеноли, адреналін, дофамін, кверцетин, танін, антиоксидантна активність, твердофазна спектрофотометрія, візуальне тест-визначення.

### АННОТАЦИЯ

**Бас Ю. П. Фосфатные гетерополикислоты как твердофазные окислительно-восстановительные реагенты для определения катехоламинов, полифенолов и оценки антиоксидантной активности** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2013.

Диссертационная работа Бас Ю.П. посвящена разработке твердофазных индикаторных систем на основе кремнеземов, последовательно функционализированных высокомолекулярной четвертичной аммониевой солью и фосфатными разнолигандными гетерополианионами, для твердофазно-спектроскопического и визуально-тестового определения катехоламинов и полифенолов, а также такого интегрального показателя, как антиоксидантная активность. Исследованы условия иммобилизации на органо-минеральных кремнеземных сорбентах окисленных форм молибдотибибиофосфатной и молибдовольфрамфосфатной (реактив Фолина) ГПК.

Методом ЯМР-спектроскопии установлено, что в условиях одновременного присутствия молибдата, фосфата и тибия(III) в растворе образуется разнолигандная молибдотибибиофосфатная ГПК. Методами адсорбции, молекулярной спектроскопии и термодесорбции исследована природа закрепления гетерополианионов на поверхности модифицированного высокомолекулярной четвертичной аммониевой солью кремнезема. Показано, что прочное удерживание ГПК на поверхности сорбента в условиях образования монослоя достигается за счет ионно-ассоциативного взаимодействия гетерополианиона с иммобилизованной солью при участии активных групп самой кремнеземной матрицы. Это способствует стабилизации окисленных форм ГПК, что, в свою очередь, приводит к увеличению избирательности твердофазной ГПК по сравнению с нативной формой в растворе и расширению рабочего диапазона в направлении увеличения pH раствора. Именно эти качества иммобилизованной таким способом молибдотибибиофосфатной ГПК были положены в основу разработки аналитической формы для твердофазно-спектрофотометрического определения катехоламинов. Предел обнаружения адреналина и дофамина составляет 1,7 и 10 мг/л, соответственно. Определению катехоламинов не мешают многие восстановители, содержащиеся в лекарственных формах катехоламинов и биологических жидкостях. Для твердофазно-спектрофотометрического определения более слабых восстановителей – полифенолов и оценки антиоксидантной активности предпочтительной аналитической формой оказался реактив Фолина (молибдовольфрамфосфатная ГПК). Более высокая чувствительность достигается в случае ГПК, иммобилизованной в форме полимолекулярных слоев. Предел обнаружения полифенолов составляет 1,0 и 14 мг/л (при использовании в качестве стандартов кверцетин и танин соответственно). Разработаны цветные тест-шкалы для визуального определения, в частности адреналина, в интервале концентраций 3,0–34 мг/л и экспресс-оценки антиоксидантной активности, что соответствует содержанию кверцетина и танина в объекте соответственно 1,0–36 и 14–179 мг/л. Предложенные методики определения катехоламинов, полифенолов и антиоксидантной активности апробированы при анализе препаратов местных анестезий и биологических жидкостей (мочи и сыворотки крови), фито препаратов и фруктовых соков.

*Ключевые слова:* твердофазные реагенты, гетерополикислоты, катехоламины, полифенолы, адреналин, дофамин, кверцетин, танин, антиоксидантная активность, твердофазная спектрофотометрия, визуальное тест-определение.

### ABSTRACT

**Bas J. P. Phosphate heteropolyacids as solid-phase redox reagents for the determination of catecholamines, polyphenols and assessment of antioxidant activity**  
– The Manuscript.

The thesis for a Candidate's degree in chemical science in speciality 02.00.02 – analytical chemistry. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, MES of Ukraine, Kyiv, 2013.

The dissertation is devoted to the developing of the solid-phase indicator systems based on silica sequentially functionalized with macromolecular quaternary ammonium salt and phosphate mixed-ligand heteropolyanions for the solid-phase spectroscopic and visual test determination of catecholamines and polyphenols, and such integral index as antioxidant activity. Conditions of the immobilization of oxidated forms of molybdoantimonyphosphate and molybdotungstenphosphate (Folin's reagent) HPA on organo-silica sorbents were studied. The nature of fixation of heteropolyanion on silica surface was explored using adsorption, NMR and molecular spectroscopy, and thermal desorption methods.

The solid-phase redox reagent based on immobilized Folin's reagent was worked out for solid-phase spectroscopic and visual test methods for the determination of polyphenols and assessment of antioxidant activity with a limit of determination 1,0 mg/l (standard – quercetin), and 14 mg/l (standard – tannin). The solid-phase spectrophotometric and visual test method based on immobilized molybdoantimonyphosphate HPA was proposed for the determination of catecholamines with a limit of determination of 1.7 mg<sub>adrenaline</sub>/l. Proposed techniques for determination of catecholamines, polyphenols and antioxidant activity were tested in the analysis of local anesthesia drugs and biological fluids (urine and serum), plant-based remedies and fruit juices.

*Keywords:* solid-phase reagents, heteropoly acid, catecholamines, polyphenols, epinephrine, dopamine, quercetin, tannin, antioxidant activity, solid-phase spectrophotometry, visual test determination.