

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 241980 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **436383**

(22) Data zgłoszenia: **2020.12.17**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.06.20 BUP 25/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.01.02 WUP 01/2023**

(51) MKP:

G01N 27/403 (2006.01)

G01N 27/26 (2006.01)

G01N 27/27 (2006.01)

G01N 33/14 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

UNIWERSYTET ŁÓDZKI, Łódź, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

KONRAD RUDNICKI, Koluszki, PL

ŁUKASZ PÓŁTORAK, Łódź, PL

KAROLINA SOBCZAK, Zgierz, PL

SŁAWOMIRA SKRZYPEK, Łódź, PL

MAREK ZIELIŃSKI, Łódź, PL

(74) Pełnomocnik:

Wojciech Zajączkowski, Łódź, PL

(54) Tytuł:

Sposób oznaczania chininy

PL 241980 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób oznaczania chininy, w szczególności w napojach typu tonik w celu kontroli jakości produkcji artykułów żywnościowych zawierających chininę oraz do badania preparatów farmaceutycznych.

W artykule F. Reymond oraz pozostali (Frederic Reymond, Pierre-Alain Carrupt, Bernard Testa, Hubert Girault, Chem. Eur. J. 1999, 5, 39–47) ujawniono, że chinina jest elektrochemicznie aktywna na spolaryzowanych granicach cieczowych stworzonych w wyniku zestawienia roztworu wodnego oraz roztworu przygotowanego na bazie 1,2-dichloroetanu. Autorzy przytoczonego artykułu skupili się na badaniach fundamentalnych, które przyczyniły się do poznania szeregu parametrów fizykochemicznych takich jak współczynniki podziału, współczynniki dyfuzji czy też przygotowania wykresu międzyfazowego podziału jonowego.

Znane jest także zastosowanie spolaryzowanych granic cieczowych do badań fizykochemicznych chinidyny. Badania przeprowadzono i opublikowano w roku 1996 (Fredkeric Reymond, Guillaume Steyaert, Alessandra Pagliara, Pierre-Alain Carrupt, Bernard Testa, and Hubert Giraulte, Helv. Chim. Acta. 79, 1996, 1651–1669).

Istnieją konwencjonalne sensory elektrochemiczne bazujące na elektrodach stałych, np. elektrody węglowe, których zasada działania polega na elektrochemicznym utlenianiu chininy. Elektrody te są często modyfikowane nano-materiałami lub materiałami polimerowymi w celu polepszenia parametrów analitycznych. Analiza rejestrowanych prądów pozwala na jakościowe i ilościowe oznaczanie tej substancji (Yin Yu, Yongxin Tao, Baozhu Yang, Datong Wu, Yong Qin, and Yong Kong, Anal. Chem. 89, 2017, 12930–12937; Qing Zhang, Yihan Huang, Liju Guo, Cui Chen, Dongmei Guo, Ya Chen and Yingzi Fu, New J. Chem., 38, 2014, 4600–4606; Mihaela Buleandra, Andreea A. Rabinca, Mihaela C. Cheregi and Anton A. Ciucu, Food Chemistry, 253, 2018, 1–4; F. Azadmehr and K. Zarei, Bioelectrochemistry, 127, 2019, 59–67).

W literaturze istnieje kilka przykładów analitycznego oznaczania chininy przy pomocy sensorów optycznych, np. sensory fluorymetryczne (Rong-Hua Yang, Ke-Min Wang, Dan Xiao, Kan Luo and Xiao-Hai Yang, Analyst, 125, 2000, 877-882; Brian Malile and Jennifer I. L. Chen, Analyst, 141, 2016, 3794–3802; Ali Akdeniz, Lorenzo Mosca, Tsuyoshi Minami and Pavel Anzenbacher, Chem. Commun., 51, 2015, 5770–5773; Ezequiel Vidal, Anabela S. Lorenzetti, Miguel 'Angel Aguirre, Antonio Canalsb and Claudia E. Domini, RSC Adv., 10, 2020, 19713–19719; Silvia Ortega-Algar, Natividad Ramos-Martos, and Antonio Molina-Diaz, Microchim. Acta 147, 2004, 211–217). Sensory te bazują na zjawisku fluorescencji próbki będącej wynikiem interakcji badanych związków chemicznych, w tym wypadku chininy, z promieniowaniem wzbudzającym.

W opisie chińskiego zgłoszenia wynalazku nr 109916974 ujawniono rozwiązanie w postaci opisanej, elektrochemicznej metody oznaczania chininy, stosując tradycyjne techniki woltamperometryczne w połączeniu z komercyjnie dostępną elektrodą z węgla szklanego. Oznaczanie chininy na elektrodach stałych polega na rejestracji prądów utlenienia, których intensywność jest bezpośrednio związana ze stężeniem badanego związku. Pomiary polegają na skonstruowaniu, z reguły, układów trzelektrodowych składających się z elektrody pracującej, w tym wypadku elektrody wykonanej z węgla szklanego, elektrody pomocniczej np. drucika platynowego oraz elektrody odniesienia np. elektrody chlorosrebrowej.

W chińskim opisie zgłoszenia wynalazku nr 106226381 ujawniono metodę przygotowania wrażliwego na temperaturę czujnika chininowego, który został wykorzystany do elektrochemicznej detekcji enancjomeru chininy.

W opisie japońskiego zgłoszenia wynalazku nr 2010107344 przedstawiono sposób szacowania goryczy materiału zawierającego sztuczny słodzik, stosując potencjometryczny czujnik smaku wrażliwy na obecność chlorowodoru chininy.

Opis japońskiego zgłoszenia wynalazku nr 2008304438 ujawnia wytworzenie selektywnego na smak, błonkowego czujnika potencjometrycznego, który umożliwia wykrywanie śladowych ilości chininy w cieczy.

Z chińskiego zgłoszenia wynalazku nr 110404520 znane jest także rozwiązanie w postaci sposobu wytwarzania fazy stacjonarnej w chromatografii, w której chininę polimeryzuje się na powierzchni żelu merkaptopropylorkrzemionkowego poprzez reakcję powierzchniowego rodnikowego przeniesienia łańcuchowego.

W chińskim opisie zgłoszenia wynalazku nr 103197011 zaprezentowano sposób pomiaru zawartości dichlorowodoru chininy za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem ultrafioletowym (HPLC-UV).

W opisie chińskiego zgłoszenia wynalazku nr 105116025 ujawniono opracowaną metodę oraz konstrukcję i projekt aparatury przeznaczonej do szybkiego oraz dokładnego oznaczania stężenia roztworu chininy.

Sposób oznaczania chininy według wynalazku charakteryzuje się tym, że do naczynia elektrochemicznego wypełnionego roztworem fazy wodnej, stanowiącym korzystnie zakwaszony roztwór chlorku sodu, i nakrytego nakrywką posiadającą cztery otwory wprowadza się kolejno elektrodę platynową, elektrodę chlorosrebrową stanowiącą drucik srebrny pokryty chlorkiem srebra oraz zminiaturyzowany nośnik fazy organicznej z zatopionym fragmentem mikrokapilary krzemionkowej stanowiącym nośnik granicy faz ciecz-ciecz. Elektrodę platynową podłącza się do potencjostatu, do dedykowanego przyłącza dla elektrody pracującej i elektrodę chlorosrebrową podłącza się do potencjostatu przy pomocy dedykowanego przyłącza służącego do pomiaru potencjału elektrody pracującej. W zminiaturyzowanym nośniku fazy organicznej umieszcza się roztwór fazy organicznej stanowiący roztwór tetrakis(4-chlorofenylo)boranu bis(trifenylofosforanyliden)amonu w 1,2-dichloroetanie, do którego zanurza się elektrodę wykonaną z platyny i łączy się ją z potencjostatem za pomocą przyłącza dedykowanego dla elektrody odniesienia oraz elektrody pomocniczej. Następnie do fazy wodnej w tak przygotowanym układzie aplikuje się za pomocą pipety poprzez czwarty otwór w nakrywce kilka dodatków produktu zawierającego chininę i dla każdego dodatku rejestruje się woltamperogramy. W kolejnym etapie odmierza się wartości prądowe sygnałów dla przejścia chininy z fazy wodnej do fazy organicznej i z fazy organicznej do fazy wodnej dla wszystkich przygotowanych serii pomiarowych, po czym otrzymane wyniki uśrednia się i następnie, korzystając z równań prostych wzorcowych, wylicza się średnie stężenie chininy w badanej próbce.

W kolejnej wersji wynalazku fazę organiczną stanowi roztwór tetrakis[3,5-bis(trifluorometylo)fenylo]boranu bis(trifenylofosforanyliden)amonu rozpuszczony w nitrobenzenie.

W jeszcze innej wersji wynalazku fazę organiczną stanowi roztwór tetrakis(4-chlorofenylo)boranu tetradodecyloamonu rozpuszczony w eterze 2-nitrofenylo n-oktylowym.

Zaletą sposobu według wynalazku jest to, że chinina może być oznaczana w ciekłych produktach żywnościowych bez konieczności przygotowania próbki. Analiza jest prosta, zajmuje maksymalnie kilkadziesiąt sekund, pozwala na wykrycie chininy o stężeniu od dziesiątej części μM , analiza może zostać zintegrowana z urządzeniami mobilnymi, analiza jest selektywna – związki znajdujące się w ciekłych produktach żywnościowych nie interferują z oznaczaniem chininy.

Dzięki sposobowi według wynalazku można badać ciekłe produkty żywnościowe oraz preparaty farmaceutyczne pod kątem badania ich jakości oraz zgodności z prawem i normami prawa żywnościowego/farmaceutycznego.

Przedmiot wynalazku przedstawiony jest poniżej w przykładach wykonania oraz na rysunku, na którym fig. 1 przedstawia schemat naczynia pomiarowego pozwalającego na oznaczanie chininy, fig. 2 A woltamperogram cykliczny zarejestrowany w roztworze wodnym niezawierającym chininy (krzywa 2) oraz w roztworze chininy o stężeniu $9.90 \mu\text{M}$ (krzywa 1), fig. 2 B schemat przedstawiający międzyfazowe przejście chininy rejestrowane jako prąd faradajowski, fig. 2 C woltamperogramy cykliczne zarejestrowane na spolaryzowanych granicach fazowych typu ciecz-ciecz dla wzrastającego stężenia chininy w fazie wodnej (0.33; 1.66; 4.97; 13.16 oraz $19.1 \mu\text{M}$), a fig. 2 D przedstawia krzywe kalibracyjne (0.33– $19.1 \mu\text{M}$) dla chininy zarejestrowane na spolaryzowanych granicach fazowych typu ciecz-ciecz umieszczonych w zminiaturyzowanym nośniku fazy organicznej.

Przykład 1.

1. Rejestrowanie tzw. „Ślepej próby”

Naczynie elektrochemiczne, w kształcie walca, o pojemności 20 ml, wykonane z plastiku wypełnia się 15 mL roztworem fazy wodnej 1, który stanowi 10 mM roztwór chlorku sodu, gdzie rolę rozpuszczalnika pełni 10 mM roztwór kwasu solnego o $\text{pH} = 2$. Naczynie nakrywa się plastikową nakrywką, posiadającą cztery otwory. Do otworów wprowadza się kolejno elektrodę platynową 3, elektrodę chlorosrebrową 4 stanowiącą drucik srebrny pokryty chlorkiem srebra oraz zminiaturyzowany nośnik fazy organicznej 5 z zatopionym fragmentem mikrokapilary krzemionkowej 7 stanowiącym nośnik granicy faz ciecz-ciecz. Pozostały, czwarty otwór umożliwia wprowadzanie dodatków w postaci próbki rzeczywistej przy użyciu mikropipety. Pomiar prowadzi się przy użyciu potencjostatu 8 pozwalającego na pracę w układach czteroelektrodowych. Elektrodę platynową 3 podłącza się do potencjostatu 8, do dedykowanego przyłącza oznaczonego jako WE (z ang. working electrode). Elektrodę chlorosrebrową 4 podłącza się

do potencjostatu 8 przy pomocy dedykowanego przyłącza służącego do pomiaru potencjału elektrody pracującej, oznaczanego symbolem S (z ang. supporting electrode). W zminiaturyzowanym nośniku fazy organicznej 5 umieszcza się roztwór fazy organicznej 2, który stanowi 5 mM roztwór tetrakis(4-chlorofenylo)boranu-bis(trifenylofosforanylideno)amonu w 1,2-dichloroetanie, do którego zanurza się elektrodę 6 wykonaną z platyny. Elektrodę 6 zanurzoną do fazy organicznej 2 łączy się z potencjostatem 8 za pomocą przyłącza dedykowanego dla elektrody odniesienia RE (z ang. reference electrode) oraz przyłącza dedykowanego dla elektrody pomocniczej CE (z ang. counter electrode). W tak przygotowanym roztworze, stosując technikę woltamperometrii cyklicznej, rejestruje się woltamperogram, który stanowi tzw. ślepą próbę. Zalecane parametry elektrochemiczne: wartości prądów limitujących okno potencjałów nie powinny przekraczać 0.5 nA; zalecana szybkość przemieszczania potencjałem $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

2. Przygotowanie prostej wzorcowej do oznaczania chininy

Początkowo należy postępować jak opisano w punkcie 1. Następnie do fazy wodnej 1 w tak przygotowanym układzie aplikuje się dodatki roztworu wzorcowego chininy, tak aby jej stężenie w fazie wodnej 1 mieściło się w przedziale od $0.33 \mu\text{M}$ do $19.1 \mu\text{M}$.

Dla każdego dodatku rejestruje się minimum 3 woltamperogramy. Następnie odmierza się wartości prądowe sygnałów dla przejścia chininy z fazy wodnej 1 do fazy organicznej 2 – prądy dodatnie – oraz z fazy organicznej 2 do fazy wodnej 1 – prądy ujemne – dla wszystkich przygotowanych serii pomiarowych. Z uśrednionych wartości prądowych przygotowuje się proste dla zależności $I_p = f(C_{Ch})$, gdzie: I_p – wartość prądowa sygnału zaś C_{Ch} – stężenie chininy w naczyniu pomiarowym. Dla prostych wyznacza się linie trendu wraz z ich równaniami.

3. Oznaczanie chininy w próbkach rzeczywistych

Początkowo należy postępować jak opisano w punkcie 1. Następnie do fazy wodnej w tak przygotowanym układzie aplikuje się kilka dodatków, co najmniej 3, np. o objętości 0.5 ml, napoju typu tonic wybranego producenta. Dla każdego dodatku rejestrujemy woltamperogramy. W kolejnym etapie odmierza się wartości prądowe sygnałów dla przejścia chininy z fazy wodnej 1 do fazy organicznej 2 i z fazy organicznej 2 do fazy wodnej 1 dla wszystkich przygotowanych serii pomiarowych. Otrzymane wyniki uśrednia się. Następnie korzystając z przygotowanych wg opisu w punkcie 2. równań prostych wzorcowych, podstawiając w miejscu wartości I_p , wartość prądową dla danego dodatku napoju typu tonic można wyliczyć średnie stężenie chininy w badanej próbce.

Przykład 2.

Postępuje się jak w przykładzie 1 z tą różnicą, że jako fazy organicznej używa się roztworu tetrakis[3,5-bis(trifluorometylo)fenylo]boranu bis(trifenylofosforanylideno)amonu rozpuszczone w nitrobenzenie.

Przykład 3.

Postępuje się jak w przykładzie 1 z tą różnicą, że jako fazy organicznej używa się roztworu tetrakis(4-chlorofenylo)boranu tetradodecyloamonu rozpuszczonego w eterze 2-nitrofenylo n-oktylowym.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób oznaczania chininy, **znamienny tym**, że do naczynia elektrochemicznego wypełnionego roztworem fazy wodnej (1), stanowiącym korzystnie zakwaszony roztwór chlorku sodu, i nakrytego nakrywką posiadającą cztery otwory wprowadza się kolejno elektrodę platynową (3), elektrodę chlorosrebrową (4) stanowiącą drucik srebrny pokryty chlorkiem srebra oraz zminiaturyzowany nośnik fazy organicznej (5) z zatopionym fragmentem mikrokapilary krzemionkowej (7) stanowiącym nośnik granicy faz ciecz-ciecz, elektrodę platynową (3) podłącza się do potencjostatu (8), do dedykowanego przyłącza dla elektrody pracującej i elektrodę chlorosrebrową (4) podłącza się do potencjostatu (8) przy pomocy dedykowanego przyłącza służącego do pomiaru potencjału elektrody pracującej, po czym w zminiaturyzowanym nośniku fazy organicznej (5) umieszcza się roztwór fazy organicznej (2), do którego zanurza się elektrodę (6) wykonaną z platyny i łączy się ją z potencjostatem (8) za pomocą przyłącza dedykowanego dla elektrody odniesienia oraz elektrody pomocniczej, a następnie do fazy wodnej (1) w tak przygotowanym układzie aplikuje się za pomocą pipety poprzez czwarty otwór w nakrywce kilka dodatków produktu zawierającego chininę i dla każdego dodatku rejestruje się woltamperogramy, a w kolejnym etapie odmierza się wartości prądowe sygnałów dla przejścia chininy z fazy wodnej (1) do fazy organicznej (2) i z fazy organicznej (2) do fazy

- wodnej (1) dla wszystkich przygotowanych serii pomiarowych, po czym otrzymane wyniki uśrednia się i następnie, korzystając z równań prostych wzorcowych, wylicza się średnie stężenie chininy w badanej próbce.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że fazę organiczną stanowi roztwór tetrakis(4-chlorofenylo)boranu bis(trifenylofosforanylideno)amonu w 1,2-dichloroetanie.
 3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że fazę organiczną stanowi roztwór tetrakis[3,5-bis(trifluorometylo)fenylo]boranu bis(trifenylofosforanylideno)amonu rozpuszczony w nitrobenzeniu.
 4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że fazę organiczną stanowi roztwór tetrakis(4-chlorofenylo)boranu tetradodecyloamonu rozpuszczony w eterze 2-nitrofenylo n-oktylowym.

Rysunki

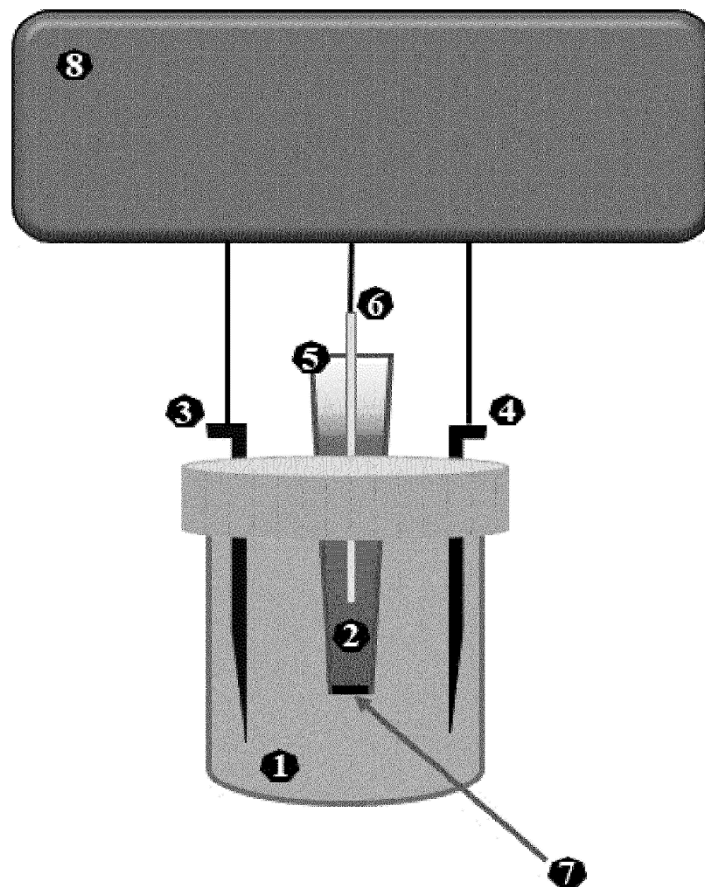


Fig. 1

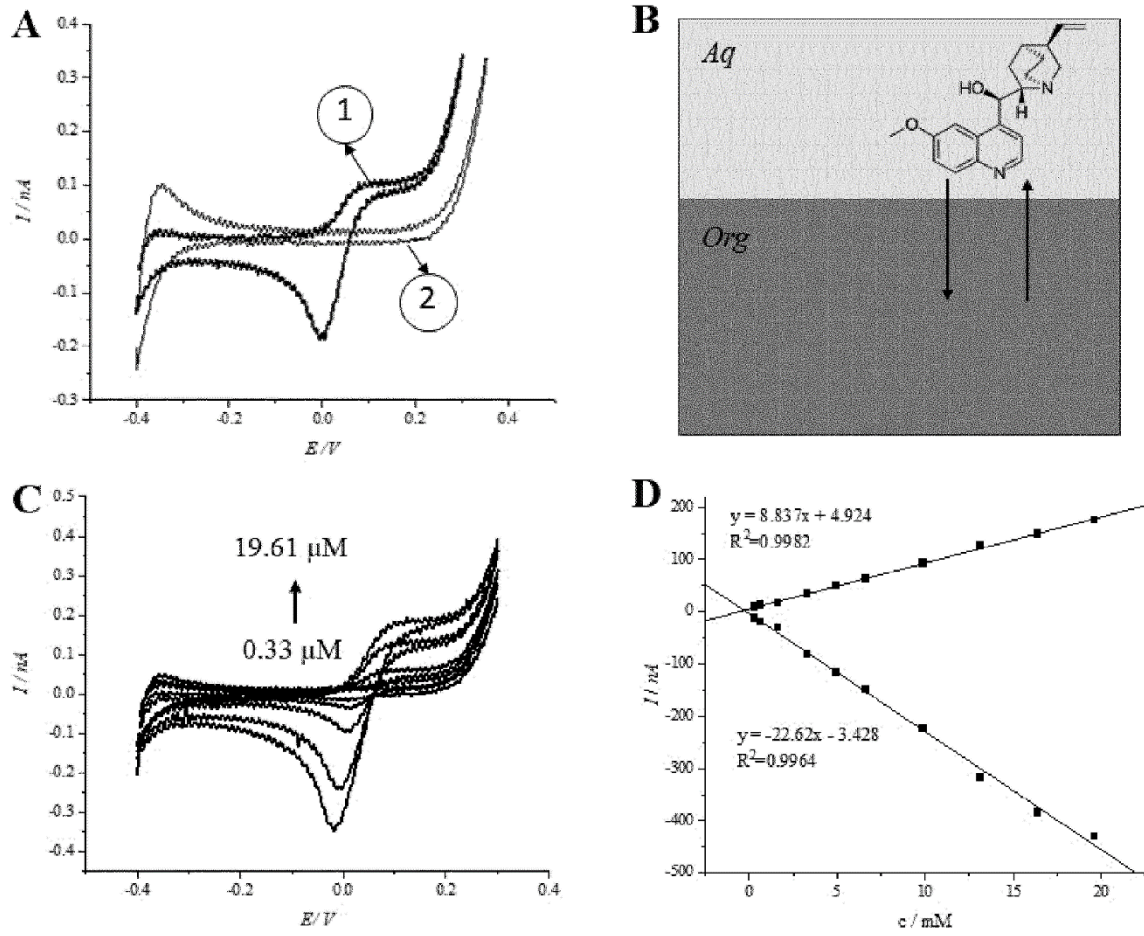


Fig. 2