

Invenția se referă la un procedeu de determinare a concentrației de tomatozidă în extractul uscat din semințe de tomate și poate fi utilizată în chimie și medicină.

Este cunoscut un procedeu de determinare a glicozidelor furostanolice, de exemplu, din extractul frunzelor dioscoreii, folosind p-aminobenzaldehida (PABA) în mediu acid ce presupune pregătirea în calitate de standard a soluției deltazide în 70% etanol și a extractelor apoase din materie vegetală, 1 ml soluție cercetată se volatilizează “până la capăt”, adăugând la reziduu 0,2 ml reactiv Ehrlich (RE), prezentat în calitate de soluție de 1% p-dimetilaminobenzaldehidă în amestec $\text{CH}_3\text{OH}:\text{HCl}_{\text{conc}}=66:34\%$ vol., termostatarea amestecului reactant la $t=65^\circ\text{C}$ în decurs de 3...5 min, adăugând 3,8 ml metanol și măsurând densitatea optică (D_k) a soluției complexului colorat, după care se calculează concentrația oligofurostanozidelor [1].

Dezavantajul procedurii este exactitatea joasă a determinării, explicată prin faptul că la temperatura termostatării egală cu 65°C , paralel cu formarea complexului colorat decurge procesul hidolizei acide a glicozidei furostanolice și de asemenea distrucția parțială a complexului format. Totodată intensitatea colorației soluției complexului la început crește, apoi scade în timp, adică este instabilă. Ca rezultat se obține reproducerea joasă a datelor ce influențează exactitatea rezultatelor finale. Mai mult ca atât, componența cunoscută a reactivului Ehrlich nu permite obținerea sensibilității destul de înalte a reacției de formare a complexului tomatozidei cu p-dimetilaminobenzaldehidă, ceea ce de asemenea se răsfrânge asupra exactității rezultatelor.

Problema pe care o rezolvă invenția dată constă în creșterea exactității de determinare a concentrației tomatozidei (TMZ) în extractul uscat din semințe de tomate, care a fost numit pacovirină (PCV).

Problema se soluționează prin aceea că procedeu de determinare a concentrației de tomatozidă în preparatul pacovirină presupune pregătirea soluțiilor lor alcoolice sau apoase, evaporarea soluțiilor utilizate și uscarea reziduuului la 105°C ceea ce aduce la mărirea exactității de determinare a concentrației de tomatozidă.

Condițiile termostatării amestecului reactant cu reactivul Ehrlich $t=40^\circ\text{C}$ timp de 40 min asigură stabilitatea colorării soluției fotometrate a complexului format pe o perioadă îndelungată, ce duce la creșterea exactității și siguranței procedurii. Sensibilitatea reacției crește cu 55%.

În afară de aceasta, sensibilitatea reacției de formare a complexului tomatozidă cu reactivul Ehrlich conduce la creșterea în el a concentrației HCl. Totodată stabilitatea colorației soluției complexului fotometrat se menține timp îndelungat doar prin mărirea în RE până la 40% vol. HCl_{conc} și micșorarea concentrației metanolului până la 60% vol. Aproape de limită se

prezintă și creșterea până la 2% a conținutului PABA în reactivul Ehrlich, care de asemenea influențează asupra exactității și sensibilității procedurii (fig. 2). Creșterea în continuare a concentrației PABA este limitată de solubilitatea lui. Astfel, pentru o sensibilitate satisfăcătoare a reacției date, conținutul optim al reactivului Ehrlich este soluția de 2% PABA în amestec $\text{CH}_3\text{OH}:\text{HCl}_{\text{conc}}=60:40\%$ vol.

Așadar, rezultatul invenției constă în mărirea exactității și sensibilității procedurii.

Exemplu de realizare a invenției

Se pregătește soluția alcoolică sau apoasă de pacovirină cu concentrația de 0,5 mg/ml, iar pentru construirea graficului de calibrare se pregătește soluția alcoolică sau apoasă de tomatozidă în limitele concentrației 0,1...1,0 mg/ml. Câte 1 ml soluție de TMZ sau PCV se introduce în eprubetă și se evaporă în soba de uscare la $t=105^\circ\text{C}$. După răcirea până la temperatura camerei la reziduul uscat se adaugă 0,2 ml reactiv Ehrlich, care prezintă o soluție de 2% p-dimetilaminobenzaldehidă în amestec de $\text{CH}_3\text{OH}:\text{HCl}_{\text{conc}}=60:40\%$ vol. Eprubeta cu amestecul reactant se închide cu un dop ermetic și se termostatează la $t=40^\circ\text{C}$ timp de 40 min. Apoi amestecul se răcește, adăugând 3,8 ml alcool metilic.

Densitatea optică maximă de absorbție D_K a soluției complexului colorat se înregistrează la spectrometru la $\lambda=518\pm 2$ nm, grosimea stratului de absorbție a cuvelor fiind de 0,5 cm. Pentru calcularea C_{TMZ} în preparatul pacovirină conform D_K se determină coeficientul proporționalitate al TMZ (K_{TMZ}) și după el se calculează C_{TMZ} . Au fost efectuate cercetări pentru determinarea parametrilor optimi de evaluare a procedurii, în particular s-a determinat temperatura optimă pentru obținerea reziduului uscat, temperatura și durata termostatării, precum și cel mai eficient în raport cantitativ conținut al reactivului Ehrlich.

În calitate de cea mai apropiată soluție a servit procedeul de determinare a glicozidelor furostanolice, în care reziduul uscat a fost obținut prin distilarea laborioasă a soluției, unde reactivul Ehrlich folosit prezintă soluția de 1% p-dimetilaminobenzaldehidă în amestec $\text{CH}_3\text{OH}:\text{HCl}_{\text{conc}}=66:34\%$ vol., termostatarea fiind efectuată la $t=65^\circ\text{C}$, timp de 3...5 min [1].

Datele cercetărilor sunt prezentate în tab. 1, 2 și 3.

Analiza fig. 1 și tab. 1 demonstrează că condițiile optime de termostatare sunt la $t=40^\circ\text{C}$ la o durată de 40 min.

Aceasta asigură o exactitate mai înaltă a analizei rezultatelor în baza obținerii stabilității colorației soluției complexului nou-format pe o perioadă lungă de timp, care ar fi imposibil de obținut la folosirea procedurii standard, deoarece la $t=65^\circ\text{C}$ intensitatea colorației soluției scade brusc în timp, iar adaosul cinetic al densității optice D_K trece prin maximum, din cauza accelerării simultane a hidrolizei glicozidei furostanolice și determinării parțiale a

complexului nou-format, ceea ce în final se răsfrânge asupra exactității și reproducerii rezultatelor.

Tabelul 1

Dependența densității optice (D_K) a soluției complexului colorat de temperatură și durata termostatării lor $C_{PCV}=0,5$ mg/ml

Timpul (τ , min)	D_K (1 cm)			
	65°C	50°C	40°C	30°C
4	0,92	0,95	0,66	0,22
8	1,00	1,13	0,92	0,43
12	0,95	1,19	1,06	0,59
20	0,67	1,27	1,30	0,91
30	-	1,25	1,42	1,18
40	-	1,23	1,43	1,38
60	-	-	1,43	1,59

Tabelul 2 demonstrează dependența densității optice D_K a soluției alcoolice a complexului colorat de C_{TMZ} liniară.

Coeficientul de proporționalitate se calculează conform relației:

$$K_{TMZ} = \frac{D_{TMZ}}{C_{TMZ} \cdot l}, \text{ unde}$$

C_{TMZ} - concentrația TMZ (mg/ml),

l - grosimea stratului de absorbție (cm),

D_K - densitatea optică a soluției complexului colorat TMZ.

Valoarea medie: $K_{TMZ}=4,46 \pm 0,06$ ml·mg⁻¹·cm⁻¹ [Зайдель А.Н. Элементарные оценки ошибок измерений, Ленинград, Наука, 1968].

Tabelul 2

Dependența densității optice (D_K) de C_{TMZ} în soluția studiată

Indicii	C_{TMZ} (mg/ml)					Valori medii
	0,1000	0,2500	0,5000	0,7500	1,0000	
D_K (0,5 cm)	0,2413	0,5924	1,1249	1,6890	2,1928	$\bar{K}_{TMZ} = 4,46$
	0,2302	0,5884	1,1085	1,6449	2,2662	$\Delta K_{TMZ} = 0,04$
	0,2423	0,5068	1,1168	1,6975	2,2038	$S_n = 0,05$
	0,2128	0,5441	1,0925	1,6902	2,3155	$\bar{S}_n = 0,02$
	0,2013	0,5113	1,1019	1,6770	2,2479	$t_{p,n} = 2,8$
						$(p = 0,95$ $n = 5)$
$D_{K\text{medie}}$	0,2256	0,5486	1,1089	1,6797	2,2452	$\varepsilon_p = \pm 0,06$
K_{TMZ}	4,5120	4,3888	4,4356	4,4792	4,4904	$\varepsilon_r = 1,3\%$
ΔK_{TMZ}	0,0508	0,0724	0,0256	0,0180	0,0292	

Concentrația TMZ în % în preparatul PCV este calculată după formula:

$$C_{\text{TMZ}} = \frac{D_K \cdot 100}{K_{\text{TMZ}} \cdot C_0 l} = \frac{D_K \cdot 100}{4,46 \cdot C_0 l} = \frac{22,4 \cdot D}{C_0 l}, \text{ unde}$$

D_K - densitatea optică în maximumul de absorbție a soluției complexului TMZ în preparatul PCV,

C_0 - concentrația PCV cercetată în soluția de etanol (mg/ml),

l - grosimea stratului absorbant (cm),

K_{TMZ} - valoarea medie a coeficientului de proporționalitate = $4,46 \text{ ml} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Rezultatele determinării concentrației de TMZ (C_{TMZ}) în extractul uscat din semințe de tomate (PCV)

Tabelul 3

Nr. d/o	PCV, mg	C_{PCV} , mg/ml	$D_{K(0,5 \text{ cm})}$	Conținutul TMZ(X), %	Valori medii
1	12,50	0,50	0,7525	67,42	$\bar{X} = 67,82$ $\Delta \bar{X} = 0,77$ $S_n = 0,96$ $\bar{S}_n = 0,30$ $t_{p,n} = 2,3$ <p>($p = 0,95$; $n = 10$)</p> $\varepsilon_p = \pm 0,70$ $\varepsilon_r = \pm 1,09$
			0,7417	66,46	
2	12,00	0,48	0,7421	69,26	
			0,7327	68,38	
3	13,10	0,52	0,8014	68,52	
			0,7824	66,90	
4	14,00	0,56	0,8625	69,00	
			0,8537	68,30	
5	12,70	0,51	0,7681	67,75	
			0,7624	67,24	

Tabelul 3 demonstrează că rezultatele determinării conținutului procentual al tomatozidei în pacovirină foarte bine se realizează. Eroarea relativă a cercetărilor $\varepsilon_r = \pm 1,09\%$ adică de 2,5 ori mai joasă comparativ cu procedeul standard [1], unde ea constituie $\pm 2,6\%$.

Conținutul TMZ în preparatul PCV - $68,0 \pm 0,7\%$.