

БЕЛЬТЮКОВА С.В., д-р хим. наук, профессор, ЛИВЕНЦОВА Е.О., аспирант

Одесская национальная академия пищевых технологий

ТЕСЛЮК О.И. канд.хим.наук, научный сотрудник

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, г. Одесса

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПО ТУШЕНИЮ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ИОНОВ ТЕРБИЯ (III)

Изучена возможность определения сорбиновой кислоты (СК) в хлебобулочных изделиях люминесцентным методом. Показано, что в присутствии СК наблюдается тушение люминесценции иона Tb(III) в комплексном соединении с триоктилфосфиноксидом (ТОФО) в среде неионного поверхностно-активного вещества (ПАВ) Тритон X-100. Линейная зависимость тушения люминесценции наблюдается в интервале концентраций СК 0,05-0,5 мг/мл. Предел обнаружения СК в хлебобулочных изделиях составляет 0,1 мкг/мл.

**Ключевые слова:** люминесценция, тербий, консерванты, сорбиновая кислота.

The possibility of the determination of sorbic acid (SA) in bakegoodss by luminescence method was investigated. It has been shown that the SA luminescence of the Tb(III)-trioctylphosphine oxide (TOPO) complexes in the presence of nonionic surfactants Triton X-100. The luminescence quenching is proportional to the concentration of SA within the range 0,05-0,5 mg/ml. The detection limit of SA in bakegoodss was 0,1 µg/ml.

**Key words:** luminescence, terbium (III) ion, preservatives, sorbic acid.

Консерванты находят широкое применение в производстве пищевых продуктов, защищая последние от неприятного запаха и вкуса, плесневения и образования токсинов микробного происхождения [1]. В качестве консервантов применяют сорбиновую, бензойную, дегидрацетовую кислоты, а также эфиры галловой кислоты. Сорбиновая кислота не изменяет органолептических свойств пищевых продуктов, не обладает токсичностью и не обнаруживает канцерогенных свойств, в связи с чем является одним из наиболее часто применяемых консервантов и разрешена к применению во всех странах мира [2]. СК применяется для предотвращения плесневения безалкогольных напитков, плодово-ягодных соков, хлебобулочных кондитерских изделий, мармелада, джемов, варенья, кремов, зернистой икры, сыров, полукопченых колбас, при производстве сгущенного молока, а также для обработки упаковочных материалов для пищевых продуктов [3]. Допустимое содержание СК в пищевых продуктах составляет 0,1-0,3% [1, 2].

Стандартизованным методом определения СК и сорбатов в пищевых продуктах является спектрофотометрический, основанный на измерении собственного поглощения СК при  $\lambda=256$  нм [4]. Описаны методы ВЭЖХ [5-7], газовой хроматографии [8]. Практически во всех предложенных методах проводят предварительное выделение СК из пищевых продуктов путем перегонки с водяным паром, что значительно усложняет проведение анализа и требует больших затрат во времени. Предел обнаружения СК составляет 0,1-5 мг/л.

В данной работе изучена возможность определения сорбиновой кислоты по тушению люминесценции иона Tb(III) в соединении с донорно-активным реагентом триоктилфосфиноксидом (ТОФО) в среде неионного поверхностно-активного вещества (НПАВ) Тритон X-100 в присутствии СК.

Известно [9, 10], что ион Tb(III) в присутствии ТОФО образует разнолигандные комплексные соеди-

нения, в которых ТОФО выступает в качестве второго лиганда, вызывающего значительную сенсibiliзацию люминесценции лантанида. Реакции часто проходят в мицеллярной среде. Комплексное соединение Tb(III) с триоктилфосфиноксидом в растворе неионного ПАВ Тритон X-100 выбрано нами в качестве флуоресцентного сенсора для определения сорбиновой кислоты. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать условия комплексообразования, оптические характеристики комплексов, механизм передачи энергии в системе Tb-ТОФО-Тритон X-100 и установить возможность применения данного соединения для определения сорбиновой кислоты.

Экспериментальная часть. Хлорид тербия готовили растворением высокочистого оксида (99,988%) в хлористоводородной кислоте (1:1) с последующим удалением ее избытка упариванием. Концентрацию Tb(III) устанавливали комплексонометрическим титрованием. Раствор СК и ТОФО готовили растворением точных навесок веществ в спирте этиловом (96%). Точную навеску ТритонX-100 растворяли в бидистиллированной воде. Спектры люминесценции иона Tb(III) регистрировали в области 530-630 нм с помощью спектрометра Cary Eclipse "Varian" (Австралия) с двойным источником света (ксеноновая лампа 150-W сплошного спектра и импульсная лампа).

Значения энергии триплетных уровней органических реагентов определяли регистрацией спектров фосфоресценции их комплексов с иттрием при 77 К. Спектры поглощения растворов реагентов регистрировали на спектрофотометре UV-2401 PC "Shimadzu" (Япония).

Результаты и их обсуждение. Условия комплексообразования в системе Tb-ТОФО-Тритон X-100. Установлено,

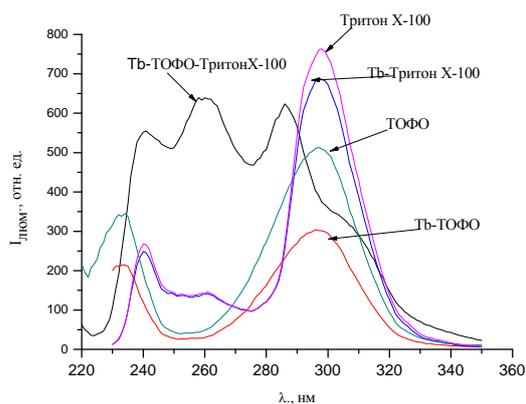


Рис.1. Спектры возбуждения люминесценции ТОФО, Тритон X-100 и их соединений с ионом Tb(III)

что в водной среде ион Tb(III) с ТОФО образует соединение, обладающее люминесценцией. В присутствии Тритон X-100 аналитический сигнал усиливается в 137 раз. Комплексообразование тербия с ТОФО наблюдается в широком интервале значений pH (3-9) с максимумом люминесценции при pH 6,7-7,0, которое достигается добавлением 0,2 мл 40%-го раствора уротропина.

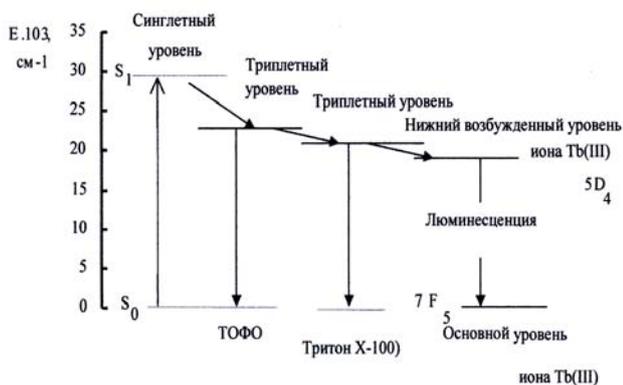


Рис.2. Схема процесса передачи энергии в соединении Тб-ТОФО- Тритон X-100

Максимальная люминесценция наблюдается при концентрации Тб(III)  $1 \cdot 10^{-4}$  мол/л и ТОФО  $3 \cdot 10^{-4}$  мол/л. Оптимальное количество НПАВ составляет 0,4 мл (1% раствор).

Спектрально-люминесцентные характеристики органических лигандов и их соединений с ионом Тб(III).

Спектры возбуждения люминесценции органических лигандов и их соединений с ионом Тб(III) представлены на рис 1. Из рис. видно, что в присутствии Тб(III) отмечается некоторое снижение интенсивности в спектрах возбуждения лиганда.

В спектре возбуждения люминесценции соединений Тб(III) с ТОФО имеются две полосы с максимумами при 233 и 297 нм, которые перекрываются с полосами возбуждения Тритон X-100 (240 и 297 нм). При этом в комплексе в мицеллярном растворе появляется широкая полоса в области 230-340 нм с максимумами при 240,260 и 286 нм, которые могут быть отнесены к  $\pi^* \leftarrow n$  переходам в молекулах лигандов. Следует отметить значительное возрастание интенсивности полос с  $\lambda=240$  нм и  $\lambda=260$  нм (последняя в спектре возбуждения Тритона X-100 невелика). Широкая полоса возбуждения при  $\lambda=297$  нм сдвигается в область более коротких длин волн ( $\lambda=286$  нм). Взаимное перекрывание полос спектров возбуждения соединений Тб – ТОФО и Тб в мицеллярном растворе Тритон X-100 обуславливает значительное увеличение эффективности внутримолекулярного переноса энергии и вследствие этого интенсивности люминесценции комплекса. Кроме того, в микрогетерогенных мицеллярных средах происходит соллобилизация комплекса Тб(III) в мицеллах ПАВ, которая сопровождается его концентрированием, увеличением константы устойчивости комплекса, устранением влияния посторонних тушителей и уменьшением гидратации иона металла [11].

Одной из основных характеристик люминесценции является ее длительность, которая определяется временем жизни возбужденного состояния ( $\tau$ ). В связи с этим, была изучена кинетика затухания люминесценции иона Тб(III) в комплексах с органическими лигандами. Время жизни возбужденного состояния ТОФО составляет 32  $\mu$ s. В соединении ТОФО с ионом тербия  $\tau$  увеличивается в 22 раза. При образовании соединения Тб(III) – ТОФО в мицеллярном растворе Тритон X-100 время жизни возбужденного состояния значительно увеличивается (2025  $\mu$ s), что является подтверждением эффективной передачи энергии от лигандов к

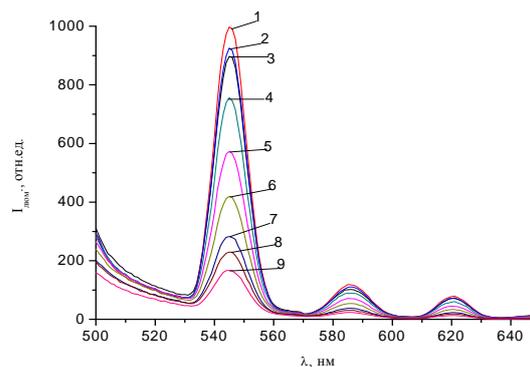


Рис.3. Спектры люминесценции комплекса Тб-ТОФО- Тритон X-100 в присутствии различных концентраций СК ( $C_{СК}=0$  мг/мл (1); 0,01 мг/мл (2); 0,02 мг/мл (3); 0,03 мг/мл (4); 0,05 мг/мл (5); 0,07 мг/мл (6); 1,0 мг/мл (7); 1,2 мг/мл (8); 1,5 мг/мл (9))

иону Тб(III).

Величины энергий триплетных уровней ( $E_T$ ) ТОФО и Тритон X-100, рассчитанные из спектров фосфоресценции при 77 К, составляют  $21980 \text{ см}^{-1}$  и  $20750 \text{ см}^{-1}$  соответственно, что выше энергии резонансного уровня иона тербия ( $20500 \text{ см}^{-1}$ ). Это делает возможным эффективный перенос энергии возбуждения от молекул органических лигандов к иону лантанида. Следует отметить, что величина энергии триплетного уровня ТОФО значительно превышает величину энергии излучательного уровня иона Тб(III). В данном случае возможна безызлучательная потеря энергии возбуждения, что подтверждается невысокой интенсивностью люминесценции ( $I_{\text{люм}}$ ) соединения Тб(III) – ТОФО. В связи с этим можно предположить, что значительное увеличение люминесцентного сигнала в присутствии Тритон X-100 достигается в результате межмолекулярного переноса энергии возбуждения от ТОФО к НПАВ и затем к иону лантанида. Схему процесса передачи энергии можно представить следующим образом (рис.2).

Тушение люминесценции в системе Тб-ТОФО-Тритон X-100 в присутствии СК

В присутствии различных концентраций СК наблюдается снижение  $I_{\text{люм}}$  иона Тб(III) в комплексе с ТОФО и Тритон X-100 (рис 3.).

При увеличении концентрации сорбиновой кислоты наблюдается изменение характера спектров возбуждения люминесценции комплекса, что говорит об изменении процесса передачи энергии в этом флуорофоре. Согласно литературным данным [12] процесс переноса энергии между лигандами (карбоксилатными и нейтральными) в разнолигандных комплексах возможен в том случае, если энергетическое положение триплетного уровня карбоксилатного лиганда выше триплетного уровня нейтрального лиганда. Величина энергии триплетного уровня СК составляет  $21505 \text{ см}^{-1}$ , что ниже  $E_T$  ТОФО ( $21980 \text{ см}^{-1}$ ). Таким образом, в рассматриваемом соединении возможна передача энергии возбуждения только от органического нейтрального лиганда ТОФО на ион тербия. В то же время, сорбиновая кислота способна к фотохимическим превращениям [13] и, очевидно, энергия возбуждения, которая передается от ТОФО на ее триплетный уровень, расходуется на эти превращения. В результате мы наблюдаем тушение люминесценции.

Изучение кинетики затухания люминесценции показало, что с увеличением концентрации СК время жизни

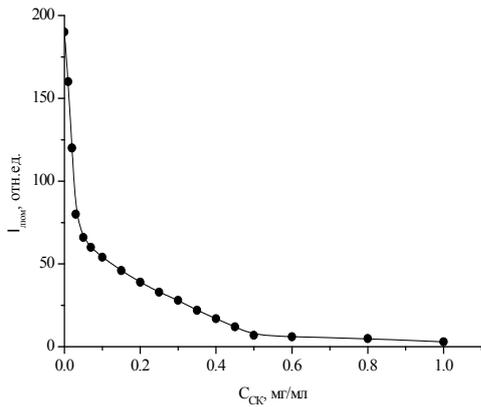


Рис.4. Зависимость  $I_{\text{люм}}$  Тб(III) в комплексе с ТОФО и Тритон X-100 в присутствии различных количеств СК

возбужденного состояния  $^5D_4$  иона Тб(III) уменьшается. Так при добавлении 0,15 мг/мл СК  $\tau$  уменьшается в 2,1 раза. Согласно существующим представлениям о типах тушения люминесценции [1], можно предположить, что в данном случае имеет место динамическое тушение, которое описывается уравнением Штерна-Фольмера:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{\text{дин}}[Q]$$

где  $I_0$  и  $I$  – интенсивность люминесценции пробы в отсутствие и присутствии тушителя, соответственно

$K_{\text{дин}}$  – константа динамического тушения

$[Q]$  – концентрация тушителя

Значение константы динамического тушения, рассчитанное из уравнения Штерна-Фольмера составило  $1,38 \text{ M}^{-1}$ .

Аналитическое применение.

Полученный эффект тушения люминесценции можно применить для определения СК в различных пищевых продуктах.

Тушение люминесценции Тб(III) в комплексе с ТОФО в мицеллярном растворе Тритон X-100 в присутствии СК наблюдается в интервале концентраций последней 0,01 – 1,0 мг/мл (рис.4). Это явление использовано для разработки методики определения СК в хлебобулочных изделиях. Определение проводили на модельных растворах.

При построении градуировочного графика для определения СК поступали следующим образом:

В мерные пробирки объемом 10 мл помещали 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0 мл стандартного раствора СК (1 мг/мл). В каждую пробирку добавляли по 1 мл раствора хлорида тербия (0,01 М), 0,3 мл этанольного раствора ТОФО (0,01 М), 0,4 мл 1%-го водного раствора тритон X-100 и 0,2 мл 40%-го водного раствора уротропина. Объем раствора в

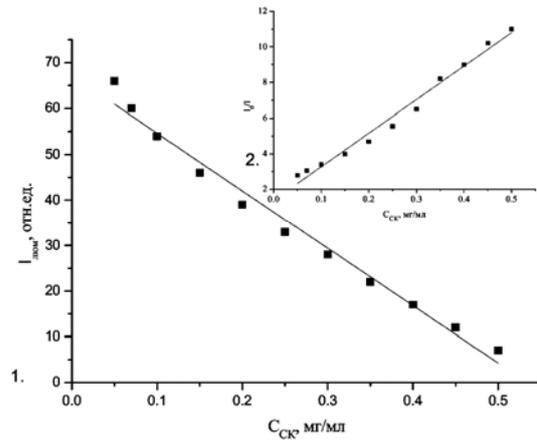


Рис.5. Градуировочный график для определения СК (1) и градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера (2)

каждой пробирке доводили дистиллированной водой до метки и перемешивали. Интенсивность люминесценции этих растворов измеряли при  $\lambda=545\text{нм}$ .

По полученным данным строили градуировочный график для определения СК (рис.5(1)). Линейность наблюдается в интервале концентраций СК 0,05–0,5 мг/мл ( $R=0,982$ ) На рис.5(2) приведен градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера.

Методика определения. Взвешивают ( $25 \pm 0,01$ ) г мякиша анализируемого хлеба, переносят в сухую коническую колбу, добавляют 50 мл дистиллированной воды и растирают стеклянной палочкой до однородной массы. К полученной смеси добавляют 200 мл воды, колбу закрывают пробкой, встряхивают 2 мин. И выдерживают при комнатной температуре 10 мин. Затем смесь интенсивно перемешивают в течение 2 мин. И выдерживают 8 мин. Отстоявшийся жидкий слой сливают через сито или марлю в сухой химический стакан. Из стакана отбирают по 5 мл фильтрата, в который вносят различное количество сорбиновой кислоты от 0,01 до 1,0 мг/мл. В мерные пробирки вносят по 1 мл экстракта (с добавкой СК) и далее добавляют все реактивы, как при построении градуировочного графика. Интенсивность люминесценции этих растворов измеряют при  $\lambda=545\text{нм}$ . Концентрацию СК определяют по градуировочному графику. Правильность результатов анализа проверяли методом "введено-найдено". Предел обнаружения СК составил 0,1 мкг/мл.

Точность и достоверность определения проверены методом статистической обработки результатов анализа. При  $n=5$ ,  $P=0,95$  величина относительного стандартного отклонения составила 0,03–0,07.

Поступила 02. 2010

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Люк Э., Ягер М. Консерванты в пищевой промышленности. Свойства и применение. – Санкт-Петербург: ГНОРД, 1998. – 256 с.
2. Сарафанова Л. А. Пищевые добавки: Энциклопедия. 2-е изд. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2004. – 809 с.
3. Нечаев А.П., Кочеткова А.А., Зайцев А.Н. Пищевые добавки. – М.: Колос, 2001. – 256 с.
4. ГОСТ 26181-84 (СТ СЭВ 4228-83) Продукты переработки плодов и овощей: Метод определения сорбиновой кислоты. – (Взамен ГОСТ 659-79; Введ. 01.07.85.) – М.: Изд-во стандартов, 1984. – 8 с.
5. Techakriengkrai I., Surakarnkul R. Analysis of benzoic acid and sorbic acid in Thai wines and distillates by solid-phase sorbent extraction and performance liquid chromatography // J. Food Composition and Analysis. – 2007. – V 20. – P.220-225.
6. Saad B., Bari Md., Saleh M. at al. Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high- performance liquid chromatography // J. Chromatography A. – 2005. – V.1037. – P.393-397.
7. Дулина Е., Литинская В. Определение консервантов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Вісник Харківського нац. університету. – 2005. – Вип 13(36). – №669. – С.134-138.
8. Dong Ch., Wang W. Headspace solid-phase microextraction applied to the simultaneous determination of sorbic and benzoic acid in beverages // Anal. Chim. acta. – 2006. – V.562. – P.23-29.