

Как видно из таблицы, с добавлением экстракта кожуры в апельсиновый сок повышается содержание азотистых веществ, в частности, общего азота, формольного числа, пролина, а также хлораминовое число и лишь незначительно повышается содержание золы. В то же время щелочность золы сравнительно снижается, значительно увеличивая щелочное число.

Выводы

Изучены физико-химические показатели апельсиновых соков: массовая доля растворимых сухих веществ, титруемых кислот, сахаров, в т.ч. общих, глюкозы, фруктозы, сахарозы, золы и её щелочности, щелочного числа золы, азотистые вещества, в том числе массовая концентрация общего и аминного азота и их соотношение, массовая концентрация общих фенолов, аскорбиновая кислота, рН, массовая концентрация пролина. Составлены таблицы предельных, средних значений этих компонентов, а также стандартных отклонений и коэффициентов вариаций природной изменчивости плодов апельсинов.

Сделан вывод, что наилучшими показателями, характеризующими натуральность апельсиновых соков, являются: массовая концентрация общего и аминного азота (формольного числа); и их соотношение, массовая доля золы, её щелочность и щелочное число, хлораминовое число и массовая концентрация пролина.

Сделан вывод, что разбавление натурального апельсинового сока сахарным сиропом вызывает уменьшение показателей натуральности ниже минимальных значений. Фальсификация сока экстрактом кожуры, наоборот, резко увеличивает значения отдельных показателей апельсиновых соков до и выше максимальных.

Литература

1. Э.Ш. Нижарадзе – «Проблема фальсификации цитрусовых соков и методы её обнаружения», Монография, Батуми, 2011.
2. Э. Ш. Нижарадзе – «Способ определения аминного азота (формольного числа) в цитрусовых соках», Патентное свидетельство на изобретение № 405;
3. Э.Ш. Нижарадзе «Способ контроля натуральности мандариновых соков» – Патент №1793372 33/02 33/14.
4. Э. Ш. Нижарадзе – «Способ определения количественного содержания пролина в фруктовых соках», Патентное свидетельство на изобретение № 292.

УДК 535.37:546.65:541.183

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ СЕНСОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ

**Бельтюкова С.В., д-р хим. наук, профессор, Ливенцова Е.О., ассистент
Одесская национальная академия пищевых технологий, г. Одесса**

Изучена возможность определения сорбиновой кислоты (СК) в икре лососевой зернистой люминесцентным методом. Показано, что в присутствии СК наблюдается тушение люминесценции иона Tb(III) в комплексном соединении с триоктилфосфиноксидом в среде неионного поверхностно-активного вещества Тритон X-100. Линейная зависимость тушения люминесценции наблюдается в интервале концентраций СК 0,05-0,5 мг/мл.

The possibility of the determination of sorbic acid (SA) in caviar salmon grainy by luminescence method was investigated. It has been shown that the SA decreases the luminescence of the Tb(III)-trioctylphosphine oxide 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.

Ключевые слова: люминесцентный сенсор, тербий (III), консерванты, сорбиновая кислота.

Химические сенсоры в последнее время привлекают внимание исследователей в связи со своей низкой стоимостью, небольшими размерами, возможностью в специальных условиях селективно определять различные вещества как в лабораторном, так и при внелабораторном применении. Сенсоры находят применение в различных областях промышленности, медицины, сельском хозяйстве, при экологическом мониторинге и т.д. [1].

Особый интерес представляют люминесцентные сенсоры на основе ионов лантанидов (III) – европия (III) и тербия (III), в которых в комплексах с органическими лигандами осуществляется внутримолеку-

лярный перенос энергии от молекулы органического лиганда к иону лантанида, благодаря чему интенсивность люминесценции последних значительно возрастает. Введение в систему лантанид–лиганд–сенситизатор различных органических соединений может приводить как к тушению, так и к увеличению интенсивности люминесценции ($I_{\text{люм}}$) иона лантанида.

Эффект тушения $I_{\text{люм}}$ лантанидного сенсора используют для определения фосфатсодержащих органических лигандов – 2,3 – бисфосфоглицерата [2], щелочной фосфатазы [3], аденозинтрифосфата [4,5], лецитина [6,7], а также косвенного определения нервнопаралитических отравляющих веществ (зарина, замана) [8].

В данной работе в качестве люминесцентного сенсора для определения консерванта – сорбиновой кислоты нами выбрано комплексное соединение иона $Tb(III)$ с триоктилфосфиноксидом (ТОФО) в растворе неонного поверхностно–активного вещества Тритон X–100.

Консерванты находят широкое применение в производстве пищевых продуктов, защищая последние от неприятного запаха и вкуса, плесневения и образования токсинов микробного происхождения [9]. 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 [10]. 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 [11]. Допустимое содержание СК в пищевых продуктах составляет 0,1–0,3% [9,10].

Стандартизованным методом определения СК и сорбатов в пищевых продуктах является спектрофотометрический, основанный на измерении собственного поглощения СК при $\lambda=256$ нм [12]. Описаны методы ВЭЖХ [13–15], газовой хроматографии [16]. 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. Кроме того, хроматографические методы требуют дорогостоящего и не всегда доступного оборудования. 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 неонного поверхностно–активного вещества (НПАВ) Тритон X–100 в присутствии СК. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать условия комплексообразования, оптические характеристики комплексов, механизм передачи энергии в системе $Tb(III)$ –ТОФО–Тритон X–100 и установить возможность применения данного соединения для определения сорбиновой кислоты.

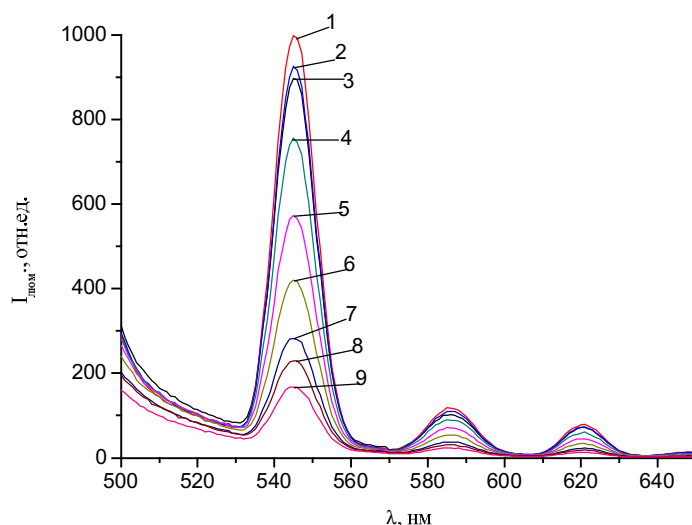
Хлорид тербия готовили растворением высокочистого оксида (99,988 %) в хлористоводородной кислоте (1:1) с последующим удалением ее избытка упариванием. Концентрацию $Tb(III)$ устанавливали комплексонометрическим титрованием. Раствор СК и ТОФО готовили растворением точных навесок веществ в спирте этиловом (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). Установлено, что в водной среде ион $Tb(III)$ с ТОФО образует соединение, обладающее люминесценцией. В присутствии Тритон X–100 аналитический сигнал усиливается в 137 раз. Величины энергий триплетных уровней (E_T) ТОФО и Тритон X–100, рассчитанные из спектров фосфоресценции при 77 К, составляют 21980см^{-1} и 20750см^{-1} соответственно, что выше энергии резонансного уровня иона тербия (20500см^{-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 $Tb(III)$. В данном случае возможна безизлучательная потеря энергии возбуждения, что подтверждается невысокой $I_{\text{люм}}$ соединения $Tb(III)$ –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.

В спектре люминесценции иона $Tb(III)$ наблюдаются полосы, соответствующие энергетическим переходам: $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ (487,5 нм), $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ (545 нм), $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$ (585 нм), $^5D_4 \rightarrow ^7F_3$ (620 нм). Наибольшей

інтенсивністю обладает полоса, соответствующая переходу $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ с максимумом люминесценции при $\lambda=545$ нм (рис. 1).



$C_{СК}=0$ 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)

Рис. 1 – Спектры люминесценции люминесцентного сенсора Tb-ТОФО- Тритон X-100 в присутствии различных концентраций СК

Комплексообразование иона тербия с ТОФО происходит 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. Максимальная люминесценция наблюдается при концентрации Tb(III) $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л и ТОФО $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Оптимальное количество Тритон X-100 составляет 0,4 мл (1 % раствор).

В присутствии различных концентраций СК наблюдается снижение $I_{\text{люм}}$ иона Tb(III) в комплексе с ТОФО и Тритон X-100 (рис. 1.). Согласно литературным данным [17] 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 см^{-1} , что ниже E_T ТОФО (21980 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 [18] и, очевидно, энергия возбуждения, которая передается от ТОФО на ее триплетный уровень, расходуется на эти превращения. В результате мы наблюдаем тушение люминесценции.

Полученный эффект тушения люминесценции иона Tb(III) был использован для определения СК в различных пищевых продуктах, в частности в икре зернистой лососевой. При этом применяли градуировочный график.

Тушение люминесценции люминесцентного сенсора на основе комплекса иона Tb(III) с ТОФО в мицеллярном растворе Тритон X-100 в присутствии СК наблюдается в интервале концентраций последней 0,01 – 1,0 мг/мл (рис. 2.).

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 моль/л), 0,3 мл этанольного раствора ТОФО (0,01 моль/л), 0,4 мл 1 %-го водного раствора Тритон X-100 и 0,2 мл 40 %-го водного раствора уротропина. Объем раствора в каждой пробирке доводили дистиллированной водой до метки и перемешивали. Интенсивность люминесценции этих растворов измеряли при $\lambda=545$ нм.

По полученным данным строили градуировочный график для определения СК (рис 3 (1)). Линейность наблюдается в интервале концентраций СК 0,05–0,5 мг/мл ($R=0,982$) На рис.3(2) приведен также градуировочный график в координатах Штерна – Фольмера.

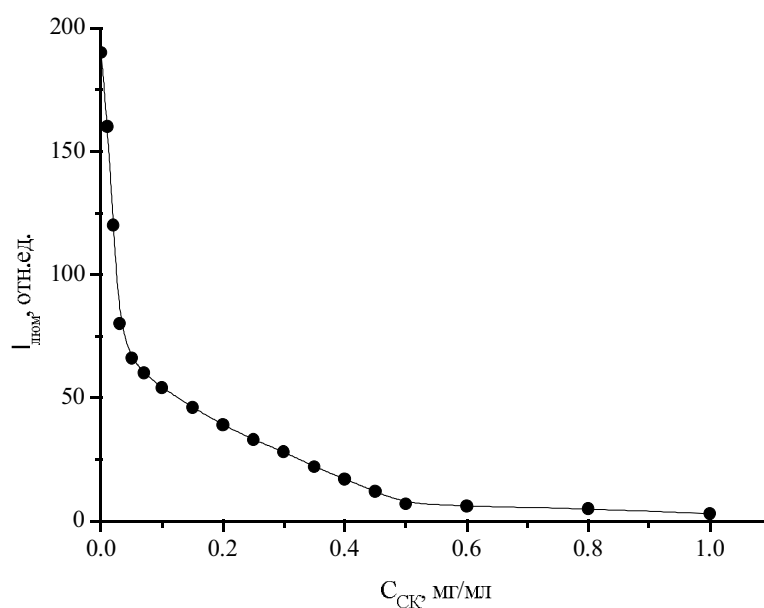


Рис. 2 – Зависимость $I_{люом}$ $Tb(III)$ в комплексе с ТОФО и Тритон X-100 в присутствии различных количеств СК.

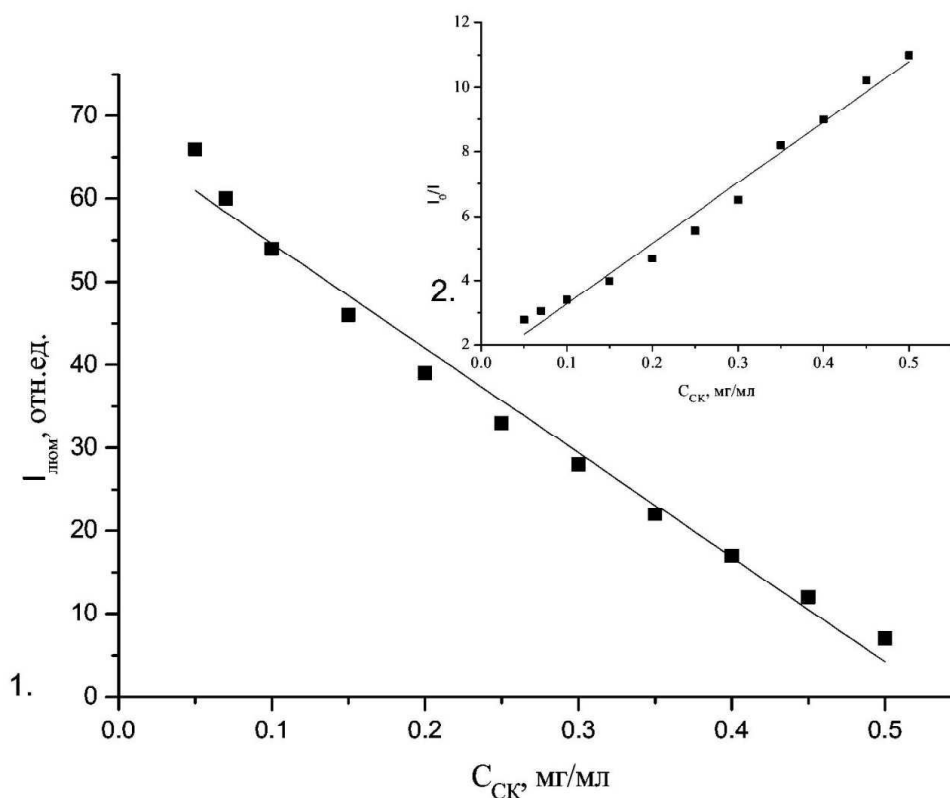


Рис. 3 – Градуировочный график для определения СК (1) и градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера (2)

Ход анализа. Навеску исследуемого образца икры зернистой лососевой массой ($5 \pm 0,001$) г тщательно измельчают и растирают стеклянной палочкой с резиновым наконечником, помещают в стакан вме-

стимостью 50 мл и постепенно приливают 25 мл дистиллированной воды. Полученную смесь выдерживают 25 мин при периодическом помешивании.

Мешающее влияние белковых компонентов устраняли их предварительным осаждением. Для этого в полученную водную вытяжку добавляли 1 мл 1,7 моль/л раствора уксусной кислоты и 1 мл 1 моль/л раствора ацетата натрия, добавляли 25 мл дистиллированной воды и нагревали на водяной бане при 40 °С в течении 5 мин при перемешивании. Затем раствор охлаждали до комнатной температуры, переносили в мерную колбу на 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой, фильтровали через двойной бумажный фильтр «синяя лента», предварительно обработанный горячей водой. Определение сорбиновой кислоты проводили в фильтрате. Для создания рН 6,8–7,2, фильтрат подщелачивали раствором гидроксида калия 0,1 моль/л.

В мерную пробирку вместимостью 10 мл вносят 1 мл раствора фильтрата и далее добавляют все реактивы, как при построении градуировочного графика. Интенсивность люминесценции растворов изменяют при $\lambda_{\text{макс}}=545$ нм. Концентрацию СК определяют по градуировочному графику.

Правильность результатов анализа проверяли методом "введено–найдено". Предел обнаружения СК составляет 0,1 мкг/мл.

Результаты определения СК в икре лососевой зернистой приведены в табл.1. Точность и достоверность определения проверена методом статистической обработки результатов анализа. При $n=5$, $P=0,95$ величина относительного стандартного отклонения составила 0,058–0,06.

Таблица 1 – Результаты определения сорбиновой кислоты в икре лососевой зернистой ($n = 5$; $P = 0,95$)

Торговая марка	Найдено, мг/ г	S_r , %
ТМ «Икра по–правилам»	1,12±0,06	5,8
ТМ «Красная Прекрасная»	1,21±0,07	6,1
ТМ «Flagman»	0,99±0,05	5,6

Выводы

Полученные экспериментальные результаты показывают возможность применения исследованного люминесцентного сенсора Tb(III)–ТОФО–Тритон X–100 для определения консерванта – сорбиновой кислоты в пищевых продуктах.

Литература

1. Власов, Ю.Г. Химические сенсоры и их системы / Ю.Г. Власов, Ю.Е. Ермоленко, А.В. Легин, А.М. Рудицкая, В.В. Колодников // Журнал. аналит. химии. – 2010. – Т.65, №9. – С. 900–919.
2. Best, M.D. Fluorescent sensor for 2,3–bisphosphoglycerate using a europium tetra–n–oxide bis–bipyridine complex for both binding and signaling purposes/ M.D. Best, E.V.A Anslyn. // Chem. Eur. J. – 2003. – V.9, №1. – P. 51–57.
3. Schrenkhammer, P. Time–resolved fluorescence–based assay for the the determination of alkaline phosphatase activity and application to the screening of its inhibitors application to the screening of its inhibitors/ P. Schrenkhammer, I.C. Rosniecek, A. Duerkop, O.S. Wolfbeis, M. Schaferling // J. Biomol. Screen. – 2008. – V. 13, №1. – P. 9–16.
4. Штыков, С.Н. Определение аденозинтрифосфорной кислоты по тушению флуоресценции дикетонадного хелата европия (III) в мицеллах неионного ПАВ Бридж – 35/ С.Н. Штыков, Т.Д. Смирнова, Ю.Г. Былинкин // Журн. аналит. хим. – 2004. – Т.59, №5. – С. 495–499.
5. Скрипинец, Ю.В. Люминесцентное определение некоторых биологически активных веществ с помощью комплексов лантанидов с производными оксихинолин–3–карбоновой кислоты: Дис.канд.хим.наук: 02.00.02. – Одесса., 2007. – 175 с.
6. Bian, W. Highly sensitive spectrofluorimetric determination of trace amounts of lecithin using a norfloxacin– terbium probe / Bian W., Jiang C. // Clin Chim. Acta. – 2006. – V. 368. – P. 144–148.
7. Bian, W. Highly sensitive spectrofluorimetric determination of trace amounts of lecithin / Bian W., Jiang C. // Anal. Bioanal. Chem. – 2006. – V. 385, №5. – P. 861–865.
8. Menzel, E. Schwierking J. Rapid fluorphosphate nerve agent detection with lanthanides/ E. Menzel, L. Menzel // Talanta. – 2005. – V. 67. – P. 383–387.
9. Люк Э., Ягер М. Консерванты в пищевой промышленности. Свойства и применение. – Санкт–Петербург: ГНОРД. – 1998. – 256 с.
10. Сарафанова, Л. А. Пищевые добавки: Энциклопедия. 2–е изд. – Санкт–Петербург: ГИОРД, 2004. – 809 с.
11. Нечаев, А.И. Пищевые добавки / А.И. Нечаев, А.А. Кочеткова, А.Н. Зайцев // М.: Колос. – 2001. – 256 с.

12. ГОСТ 26181–84–Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения сорбиновой кислоты.
13. Techakriengkrai, I. Analysis of benzoic acid and sorbic acid in Thai wines and distillates by solid–phase sorbent extraction and performance liquid chromatography / I. Techakriengkrai, R. Surakarnkul //J. Food Composition and Analysis. – 2007. –V 20. – P.220–225.
14. Saad, B. Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high– performance liquid chromatography/ B. Saad, Md. Bari, M. Saleh // J. Chromatography A. – 2005. –V.1037. – P.393–397.
15. Дулина, Е. Определение консервантов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е. Дулина, В.Литинская //Вісник Харківського нац. університету. – 2005. – Вип 13(36). – №669. – С.134–138.
16. Dong Ch. Headspace solid–phase microextraction applied to the simultaneous determination of sorbic and benzoic acid in beverages / Ch. Dong, W. Wang //Anal. Chim. acta. – 2006. – V.562. – P.23–29.
17. Калиновская, И.В. Флуоресцентные свойства разнолигандных карбоксилатов европия / И.В. Калиновская, А.Н. Задорожная, Ю.М. Николенко, В.Е. Карасев // Журн. неорган. химии. – 2006. – 51, №3. – С. 505–509.
18. Барлтроп, Дж., Койл Дж. Возбужденные состояния в органической химии. Пер. с англ. – М.: Мир, 1978. – 446 с.

УДК 664.149:579.67

ИЗУЧЕНИЕ СТЕПЕНИ СЕЛЕКТИВНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТ-ПОДЛОЖЕК К РАЗЛИЧНЫМ ГРУППАМ БАКТЕРИЙ

Мельникова Л.А., канд. биол. наук, Журня А.А., н.с.

Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию, г. Минск

Колосовская Л.С., директор, Сыс И.Е., инженер-микробиолог

Государственное предприятие «Белтехнолеб» РУП Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, г. Минск

В статье приведены результаты изучения степени селективности и чувствительности тест-подложек к различным группам микроорганизмов в сравнении с традиционными методами посева на агаровые среды.

In article results of studying of degree of selectivity and sensitivity of test substrates are resulted in various groups of microorganisms in comparison with traditional methods of crops on agar environments

Ключевые слова: тест-подложки, микроорганизмы, селективность, чувствительность, питательные среды.

Современные требования к качеству и безопасности сырья, полуфабрикатов, готовой продукции и соответственно к срокам хранения обуславливают необходимость постоянного санитарно-микробиологического контроля на всех критических этапах ее производства и хранения. Производство безопасной пищевой продукции высокого качества может быть обеспечено лишь при соблюдении санитарно-гигиенических условий с использованием современных высокоэффективных и простых экспресс-методов санитарно - микробиологического контроля. Традиционные методы качественного и количественного анализа санитарно-показательных микроорганизмов трудоемки, малопроизводительны и не могут быть использованы для оперативного контроля, особенно на предприятиях, где отсутствуют аккредитованные на техническую компетентность бактериологические лаборатории. Поэтому возникает необходимость изыскания более простых, объективных, высокопроизводительных методов санитарно-микробиологического контроля. В последние годы ведущие производители микробиологических питательных сред предлагают более экономичные и простые в использовании питательные среды нового поколения. Одной из таких разработок являются микробиологические подложки, покрытые специальными питательными средами, использование которых позволит проводить упрощенные микробиологические исследования с наименьшими временными и финансовыми затратами.