ISSN 2076-2429 (print)
ISSN 2223-3814 (on line)

УДК 546.65:678.048

С.В. Бельтюкова, д-р хим. наук, проф.
Е.О. Ливенцова, химик,
Одес. нац. акад пищевых технологий,
О.И. Теслюк, канд. хим. наук, доц.,
Физ.-хим. ин-т им. А.В. Богатского НАН Украины

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕГИДРАЦЕТОВОЙ КИСЛОТЫ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ТВЕРДОФАЗНОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

С.В. Бельтюкова, О.О. Лівенцова, О.І. Теслюк. **Визначення дегідрацетової кислоти в харчових продуктах з використанням методу твердофазної люмінесцентної спектроскопії.** Визначено оптимальні умови люмінесценції комплексу Tb(III) з дегідрацетовою кислотою у фазі сорбента — ксерогелю, модифікованого іонами Tb(III). Показано, що інтенсивність люмінесценції іону Tb(III) визначається кислотністю середовища, з якого проводиться сорбція, природою розчинника, присутністю поверхнево-активних речовин та донорно-активної домішки — триоктилфосфіноксиду. Розроблено методику люмінесцентного визначення консерванту дегідрацетової кислоти у ковбасних виробах з використанням сенсибілізованої люмінесценції іонів Tb(III) в фазі сорбенту.
Ключові слова: консерванты, дегидрацетовая кислота, люминесценция, сорбция, ион Tb(III).

С.В. Бельтюкова, Е.О. Ливенцова, О.И. Теслюк. **Определение дегидрацетовой кислоты в пищевых продуктах с использованием метода твердофазной люминесцентной спектроскопии.** Определены оптимальные условия люминесценции комплекса Tb(III) с дегидрацетовой кислотой в фазе сорбента — ксерогеля, модифицированного ионами Tb(III). Показано, что интенсивность люминесценции иона Tb(III) определяется кислотностью среды, из которой проводится сорбция, природой растворителя, присутствием поверхносто-активных веществ и донорно-активной добавки — триоктилфосфиноксида. Разработана методика люминесцентного определения консерванта дегидрацетовой кислоты в колбасных изделиях с использованием сенсибилизированной люминесценции ионов Tb(III) в фазе сорбента.
Ключевые слова: консерванти, дегідрацетова кислота, люмінесценція, сорбція, іон Tb(III).

S.V. Beltyukova, E.O. Liventsova, O.I. Teslyuk. **Determination of dehydroacetic acid in food using the solid-phase luminescence spectroscopy method.** The optimal conditions of the luminescence of the complex Tb (III) with dehydroacetic acid in the sorbent phase — xerogel modified with ions Tb (III) are determined. It has been shown that the luminescence intensity of the ion Tb (III) is determined by the acidity of the medium from which the sorption is carried out, by the nature of the solvent, by the presence of surfactant-active substances and the donor-active additive — trioctylphosphine oxide. The method of luminescence determination of dehydroacetic acid preservative in sausages using sensitized luminescence of Tb (III) ions in the sorbent phase is developed.
Keywords: preservatives, dehydroacetic acid, luminescence, sorption, Tb (III) ion.

Консерванты находят широкое применение в пищевой промышленности для предотвращения микробиологической порчи и увеличения срока годности пищевых продуктов. Сохранению высокого качества пищевых продуктов способствует также использование защитных систем, в частности, полимерных оболочек, включающих специальные составы с консервантами, упаковок, содержащих специальные добавки — консерванты пролонгированного действия, и активно воздействующие не только на продукт, но и на сами полимерные оболочки. В пищевой промышленности для поверхностной обработки колбасных изделий, сыров и оболочек, а также

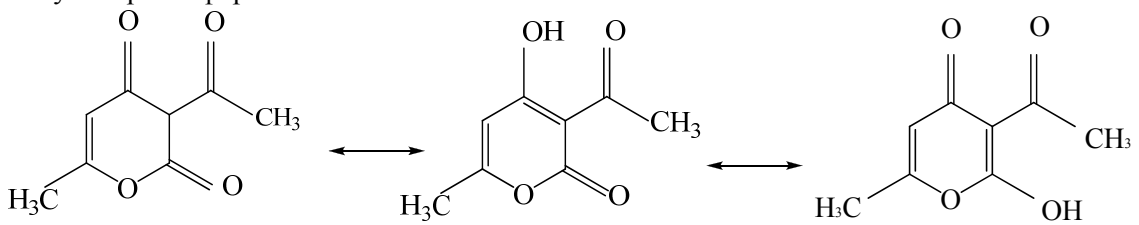
© Бельтюкова С.В., Ливенцова Е.О., Теслюк О.И., 2012

в составе пленок и покрытий для защиты от порчи микроорганизмами широко применяются дегидрацетовая кислота (консервант — Е265, ДГК) и ее водорастворимые соли, в частности, натриевая соль (Е266) [1].

Для определения ДГК в различных продуктах предложены титриметрические и спектрофотометрические [2] методы, однако они не являются селективными. Метод тонкослойной хроматографии после предварительного выделения консерванта смесью диэтилового и петролейного эфиров позволяет полуколичественно определять ДГК в винах [3]. Для более сложных объектов исследования применяют метод газо-жидкостной и высокоэффективной жидкостной [1] хроматографии. Большинство предложенных методик весьма трудоемки, требуют сложной и дорогостоящей аппаратуры.

В настоящей работе изучены люминесцентные свойства сорбата комплекса Tb (III) с дегидрацетовой кислотой и показана возможность использования его для определения ДГК в вареных и копченых колбасах, покрытых защитной оболочкой.

Дегидрацетовая кислота — 3-ацетил-4-окси-6-метил-2пирон относится к трикетонам и в растворах подобно β-дикетонам проявляет кето-енольную таутомерию и может существовать в трех таутомерных формах.



Лиганды, содержащие в своей структуре трикарбонильный фрагмент, вызывают определенный интерес благодаря наличию в их структуре подвижной π-электронной системы, сопряженной с хелатным циклом, что благоприятствует появлению сенсибилизированной люминесценции лантанидов.

Замещая енольный протон, дегидрацетовая кислота образует прочные комплексы со многими двух- и трехзарядными катионами. Показано, что Tb (III) образует с ДГК трис-хелат, содержащий три молекулы воды [5], приведены соответствующие константы устойчивости для всего ряда редкоземельных элементов [4].

Спектр поглощения раствора ДГК характеризуется наличием в УФ-области трех полос с максимумами при 205, 207 и 312 нм, соответственно. Энергия триплетного уровня лиганда (21970 $см^{-1}$), найденная из спектра фосфоресценции, значительно выше энергии возбужденного $5D_4$ уровня тербия (20500 $см^{-1}$), что делает возможным эффективное поглощение и последующую передачу светового возбуждения иону Tb (III). В присутствии ДГК проявляют люминесценцию также ионы Sm (III), Eu (III) и Dy (III), однако их интенсивность значительно ниже. Сенсибилизированная люминесценция Tb (III) в комплексе с ДГК использована в качестве аналитического сигнала при определении консерванта — ДГК в колбасных изделиях.

Установлено, что $I_{люм}$ ионов Tb (III) в присутствии ДГК значительно возрастает в фазе сорбента. Применение сорбционо-люминесцентного определения позволяет провести концентрирование определяемого компонента, и устранить безызлучательные потери энергии вследствие тепловых соударений молекул, которые имеют место в растворах, а также исключить тушение люминесценции молекулами воды, которые содержатся во внутренней или внешней координационной сферах комплекса. Кроме того, использование сорбатов дает возможность проводить определение ДГК визуально-тестовым методом, что значительно упрощает анализ, позволяет повысить чувствительность и экспрессность определения.

Раствор хлорида тербия готовился растворением высокочистого оксида в HCl (1:1) с последующим удалением ее избытка упариванием. Концентрацию Tb (III) устанавливали комплексонометрическим титрованием, использовали ДГК марки “Sigma-Aldrich”, раствор ДГК (0,01 М) готовили растворением точной навески препарата в этаноле. В качестве сорбента ис-

ISSN 2076-2429 (print)
ISSN 2223-3814 (on line)

пользовали ксерогель, который получали по методике [6]. Модифицирование ксерогеля ионами Tb (III) проводилось в процессе его получения с добавлением в реакционную смесь раствора хлорида Tb (III).

Спектры люминесценции сорбатов комплексов тербия с ДГК регистрировали на спектрографе ИСП-51 с фотоэлектрической приставкой ФЭП-1 в области 520...570 нм с максимумом при 545 нм (переход $^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$). Люминесценцию возбуждали светом ртутно-кварцевой лампы СВД-120А, снабженной светофильтром УФС-2. Ионометром ЭВ-74 измеряли pH растворов.

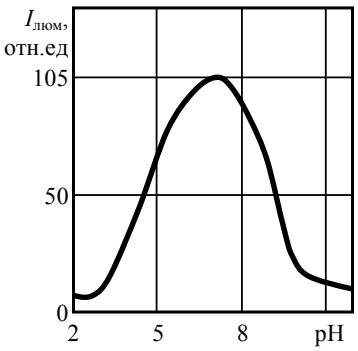


Рис. 1. Зависимость $I_{люм}$ сорбата Tb(III) в комплексе с ДГК от pH раствора

В качестве сорбентов были исследованы силикагели L 100/160 и 100/400, фосфат алюминия, пенополиуретан, ксерогель, модифицированный ионами Tb (III). Установлено, что наибольшая $I_{люм}$ сорбата наблюдается на ксерогеле, который и был выбран для дальнейших исследований.

Интенсивность люминесценции сорбата зависит от pH раствора, из которого проводится сорбция. Наибольшая $I_{люм}$ достигается при pH 6,9…7,2 (рис. 1). Для создания оптимального значения pH раствора использовали 40%-й раствор уротропина.

Характер спектра люминесценции сорбата комплекса Tb (III) — ДГК (рис. 2, *а*) сохраняется таким же, как и у комплекса в растворе. В спектре люминесценции сорбата комплекса наиболее интенсивной является полоса Tb (III), соответствующая сверхчувствительному переходу (СЧП) $^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$, значительно слабее по интенсивности полосы с максимумами при 490, 586 и 620 нм (переходы с уровня $^5D_4$ на $^7F_6$, $^7F_4$ и $^7F_3$, соответственно).

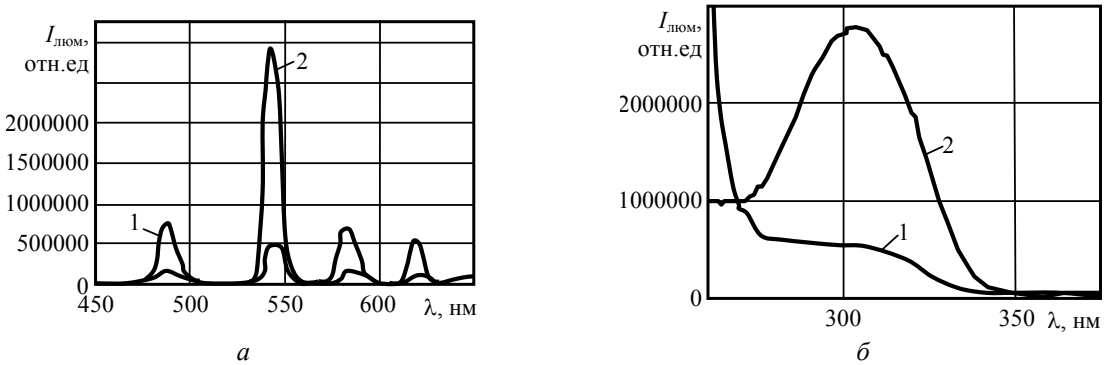


Рис. 2. Спектр люминесценции (а) и спектр возбуждения (б) сорбата комплекса Tb(III) — ДГК (1) и Tb(III) — ДГК в присутствии ТОФО (2) на ксерогеле

Увеличение $I_{люм}$ сорбата Tb (III) в присутствии ДГК является косвенным подтверждением того, что на ксерогеле образуется комплексное соединение. Такое увеличение $I_{люм}$ не наблюдалось бы при диффузном механизме передачи энергии на ион лантанида от органического лиганда в фазе сорбента. Увеличение $I_{люм}$ закрепленного на твердой матрице комплекса Tb (III) с ДГК обусловлено возрастанием жесткости молекулы и уменьшением вследствие этого внутримолекулярных потерь энергии возбуждения.

Интенсивность люминесценции сорбата зависит от времени сорбции ДГК. Для получения максимальной $I_{люм}$ сорбата достаточно проводить сорбцию в течение 10…15 мин. При дальнейшем увеличении времени сорбции $I_{люм.}$ не изменяется.

Изучение влияния температуры и времени высушивания сорбатов показало, что оптимальная $I_{люм}$ достигается при высушивании сорбатов в течение 15…20 мин при температуре 80…100 °С.

Установлено, что $I_{люм}$ сорбата увеличивается с ростом концентрации ионов Tb (III) в фазе сорбента. Однако при этом значительно возрастает и $I_{люм}$ холостой пробы. Наибольшая разница между $I_{люм}$ сорбата комплекса и холостой пробы наблюдается при концентрации Tb (III) $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

При сорбции из водно-органических смесей, содержащих 30 об. % растворителя, интенсивность люминесценции сорбатов возрастает. При сорбции из растворов, содержащих этанол, метанол, изопропанол $I_{люм}$ сорбата увеличивается в 3…5 раз. Диметилформамид практически не изменяет $I_{люм}$ сорбата. Интенсивность люминесценции сорбата зависит также от содержания растворителя в растворе, из которого проводится сорбция. Так, например, наибольшая интенсивность люминесценции достигается при содержании 90 об. % этанола.

Механизм влияния растворителя на спектрально-люминесцентные характеристики очень сложен [7]. Растворитель влияет на химизм реакции, устойчивость комплексов, кислотно-основное равновесие лиганда, пересольватацию иона металла и его комплексных форм в растворе. Увеличение $I_{люм}$ в зависимости от содержания растворителя связано со способностью молекул растворителя вытеснять молекулы воды из внешней, а затем и из внутренней координационной сферы комплексов, что уменьшает процессы дезактивации энергии возбуждения и способствует увеличению интенсивности люминесценции.

Увеличение интенсивности люминесценции сорбатов вызывают также поверхностно-активные вещества (ПАВ) и донорно-активная добавка — триоктилфосфиноксид (ТОФО). Тритон Х-100 и бромид цетилпиридиния вызывают возрастание $I_{люм}$ в 1,5…2 раза, ТОФО — в 2,5 раза. Можно предположить, что ПАВ способствуют дегидратации комплекса, уменьшению безызлучательных потерь энергии возбуждения и соответственно увеличению интенсивности люминесценции. ТОФО является монодентатным гидрофобным лигандом. Благодаря наличию трех октильных цепочек в молекуле, ТОФО гидрофобизирует молекулу и защищает образующийся комплекс, от дезактивирующих люминесценцию влияний молекул воды. Гидрофобное действие ТОФО подтверждается и спектрами возбуждения сорбатов комплекса в присутствии донорно-активной добавки (рис. 2, *б*). В присутствии ТОФО характер спектра не изменяется, увеличивается только его интенсивность, что свидетельствует об уменьшении безызлучательных потерь энергии возбуждения.

Следует отметить также, что в присутствии ТОФО не наблюдается сдвига максимума полосы люминесценции, соответствующей СЧП, ни его расщепления (см. рисунок 2, *а*), что может служить косвенным доказательством того, что молекула ТОФО не входит во внутреннюю сферу комплекса.

Подтверждением того, что молекула ТОФО не входит во внутреннюю сферу комплекса, является и тот факт, что в спектре поглощения иона Nd (III) в комплексе с ДГК в присутствии ТОФО не происходит ни сдвига максимума полосы, соответствующей сверхчувствительному переходу $^4I_{9/2} \rightarrow {}^{2,4}G_{7/2,\,5/2}$ (λ=575,2 нм), ни ее увеличение по интенсивности.

Линейная область зависимости $I_{люм}$ сорбатов комплекса от концентрации ДГК наблюдается в диапазоне концентраций 0,1…60 мкг/мл. Интенсивность люминесценции сорбатов устойчива во времени и не изменяется при излучении УФ-светом в течение 15 мин, что делает возможным использование сорбата полученного комплексного соединения в качестве аналитической формы для люминесцентного твердофазного определения дегидрацетовой кислоты.

На основании проведенных исследований разработана методика определения консерванта — дегидрацетовой кислоты в вареных и копченых колбасах, покрытых защитной оболочкой.

Методика определения.

От образца пищевого продукта (вареные или копченые колбасы) отделяли оболочку, пленку или покрытие, продукт дважды пропускали через мясорубку, тщательно перемешивали в блендере и отбирали навеску массой 20 г (из поверхностного слоя колбасы толщиной 5 мм и из середины батона).

Навеску образца пищевого продукта массой 20±0,01 г, измельченного на мясорубке и перемешанного в блендере, помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, добавляли

ISSN 2076-2429 (print)
ISSN 2223-3814 (on line)

100…120 мл горячей (70…80 °С) дистиллированной воды и встряхивали на аппарате 30 мин. Полученную массу охлаждали до комнатной температуры, добавляли 20 мл раствора ацетата цинка, встряхивали, доводили дистиллированной водой до метки, тщательно перемешивали. Если продукт нежирный, содержимое колбы фильтровали через складчатый фильтр «синяя лента» и фильтрат анализировали, если жирный, содержимое колбы фильтровали через складчатый фильтр “красная лента”, фильтрат (около 50 мл) помещали в делительную воронку и дважды встряхивали с гексаном (около 30 мл), после разделения слоев нижний слой фильтровали через складчатый фильтр “синяя лента” и анализировали. При плохом расслаивании жидкостей в воронку добавляли немного сухого хлорида натрия и содержимое повторно встряхивали. При необходимости экстракты фильтровали через целлюлозный или капроновый фильтр с размером пор до 0,45 мкм. При анализе использовали аликвоты по 1 мл, которые разбавляли дистиллированной водой до 10 мл. Определение проводили по методу добавок. В три пробирки помещали по 60 мг ксерогеля, модифицированного ионами Tb (III), добавляли по 0,2 мл разбавленного анализируемого раствора, в две из них добавлял стандартный раствор ДГК в таком количестве, чтобы $I_{люм}$ пробы возросла в 2 и 3…4 раза, соответственно. Затем во все три пробирки добавляли по 0,2 мл раствора ТОФО ($1\cdot10^{-2}$ моль/л), 0,2 мл раствора уротропина 4 %-го и дистиллированную воду до 5 мл. Сорбцию проводили при перемешивании в течение 15 мин. Затем сорбент отфильтровывали и высушивали при температуре 90 °С в течение 10 мин. Интенсивность люминесценции сорбата Tb (III) измеряли при $\lambda_{излуч}$=545 нм ($\lambda_{возб}$=365 нм). Параллельно готовили раствор “холостой” пробы, которая содержит все компоненты, кроме дегидрацетовой кислоты. При расчете интенсивности люминесценции сорбата исследуемого раствора учитывали $I_{люм}$ “холостого” опыта. Содержание дегидрацетовой кислоты рассчитывали по формуле

$$C_x = \frac{I_x}{I_{x+доб} - I_x} \cdot C_1, \text{ мкг/мл},$$

где C_X — концентрация ДГК в анализируемой пробе, мкг/мл;

C_1 — концентрация стандартного раствора ДГК (добавка), мкг/мл;

I_x — интенсивность люминесценции сорбата комплекса анализируемой пробы;

$I_{x+доб}$ — интенсивность люминесценции сорбата комплекса анализируемой пробы с добавкой стандартного раствора ДГК.

В анализируемых образцах вареной (“Докторская”) и сырокопченой (“Московская”) колбас в поверхностном слое толщиной 5 мм было обнаружено 4,2 и 2,5 мкг/г ДГК, соответственно. В слое колбасы из середины батона ДГК не обнаружена.

Правильность определения контролировали методом “введено-найдено”. При этом в анализируемые образцы колбас, измельченные на мясорубке и перемешанные в блендере, добавляли различные количества раствора ДГК, проводили образцы через всю схему анализа. Результаты определения показали, что разработанная методика позволяет определять ДГК с удовлетворительной правильностью и воспроизводимостью (см. таблицу).

Проверка правильности определения дегидрацетовой кислоты в образцах колбас (n=5, P=0,95)

Объект анализа	Введено, мкг/г	Найдено, мкг/г	Sr
Колбаса вареная (“Докторская”)	—	4,2±0,250	0,06
	4,0	8,0±0,480	0,06
	8,0	12,1±0,605	0,05
Колбаса сырокопченая (“Московская”)	—	2,5±0,175	0,07
	2,0	4,5±0,270	0,06
	4,0	6,6±0,396	0,06

Нижняя граница определяемых содержаний ДГК составляет 0,001 мкг/мл.

Определение ДГК можно проводить и визуально-тестовым методом. В этом случае ДГК идентифицируют в слое сорбента по появлению зеленой люминесценции иона Tb (III) при освещении образца ртутно-–кварцевой лампой со светофильтром УФС-2, визуально сравнивая $I_{люм}$ пробы и стандартных образцов.

Изучены люминесцентные свойства сорбатов комплекса Tb (III) с дегидрацетовой кислотой в присутствии донорно-активной добавки — триоктилфосфиноксида. Разработаны методики визуально-тестового и сорбционно-люминесцентного определения консерванта — дегидрацетовой кислоты в колбасных изделиях.

Литература:

1. Определение дегидрацетовой кислоты и ее натриевой соли в продуктах питания и полимерных оболочках / К.И. Эллер, В.В. Пименова, С.В. Волкович и др. // Вопр. питания. — 2006. — Т. 75, № 6. — С. 72 — 78.
2. Полянский, Н.Г. Применение алкалиметрии и спектрофотометрии в ультрафиолетовой области для определения примесей уксусного ангидрида и дегидрацетовой кислоты в дикетене / Н.Г. Полянский, Г.Ф. Мещеряков, В.А. Брагин // Журн. аналит. хим. — 1968. — Т. 23, № 11. — С. 1725 — 1728.
3. Сборник международных методов анализа и оценки вин и сусел. — М.: Пищевая пром-сть, 1993. — 300 с.
4. Желтвай, И.И. Устойчивость комплексов редкоземельных элементов с дегидрацетовой кислотой / И.И. Желтвай, М.А. Тищенко, З.А. Хафаги // Журн. неорган. химии. — 1988. — Т. 33, № 3. — С. 592 — 596.
5. Люминесцентое определение тербия с дегидрацетовой кислотой / С.В. Бельтюкова, Е.Т. Денисенко, А.В. Егорова, И.И. Желтвай // Журн. аналит. химии. — 1998. — Т. 53, № 9. — С. 929 — 931.
6. Великородный, А.А. Ксерогели на основе диоксида кремния, модифицированные кобальтом (III), твердофазно–спектрофотометрическое определение нафтолов в растворах / А.А. Великородный, Е.И. Моросанова // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 5, № 8. — С. 808 — 815.
7. Влияние растворителей на соотношение интенсивностей полос спектров люминесценции ионов европия в некоторых комплексных соединениях / Л.И. Кононенко, С.В. Бельтюкова, С.Б. Мешкова и др. // Докл. АН УССР. Сер. Б. — 1975. — № 9. — С. 816 — 818.

References

1. Opredelenie degidratsetovoy kisloty i ee natrievoy soli v produktakh pitaniya i polimernykh obolochkakh [Determination of dehydroacetic acid and its sodium salt in food and polymer membranes] / K.I. Eller, V.V. Pimenova, S.V. Volkovich and others. // Voprosy pitaniya [Nutrition Problems]. — 2006. — Vol. 75, # 6. — pp. 72—78.
2. Polyanskiy, N.G. Primenenie alkalimetrii i spektrofotometrii v ul'trafioletovoy oblasti dlya opredeleniya primesei uksusnogo angidrida i degidratsetovoy kisloty v diketene [Practice of alkalimetry and spectrophotometry in the ultraviolet domain for the determination of impurities of acetic anhydride and dehydroacetic acid in the diketene] / N.G. Polyanskiy, G.F. Meshcheryakov, V.A. Bragin // Zhurn. analit. khim. [J. of Analyt. Chem.] — 1968. — Vol. 23, # 11. — pp. 1725 — 1728.
3. Sbornik mezhdunarodnykh metodov analiza i otsenki vin i susel [Collection of international methods of analysis and evaluation of wines and worts]. — Moscow, 1993. — P. 300.
4. Zheltvai, I.I. Ustoichivost' kompleksov redkozemel'nykh elementov s degidratsetovoy kislotoy [Stability of the complexes of rare earth elements with dehydroacetic acid] / I.I. Zheltvai, M.A. Tishchenko, Z.A. Khafagi // Zhurn. neorgan. chimii. [J. of Inorg. Chem.] — 1988. — Vol. 33, # 3. — pp. 592 — 596.
5. Lyuminestsentoe opredelenie terbiya s degidratsetovoy kislotoy [Luminescent determination of terbium with dehydroacetic acid] / S.V. Bel'tyukova, E.T. Denisenko, A.V. Egorova, I.I. Zheltvai // Zhurn. analit. khimii [J. of Analyt. Chemistry]. — 1998. — Vol. 53, # 9. — pp. 929 — 931.
6. Velikorodnyy, A.A. Kserogeli na osnove dioksida kremniya, modifitsirovannye kobal'tom (III), tverdofazno–spektrofotometricheskoe opredelenie naftolov v rastvorakh [Xerogels based on silica modified with cobalt (III), solid-phase spectrophotometric determination of naphthols in solutions] / A.A. Veliko-

ISSN 2076-2429 (print)
ISSN 2223-3814 (on line)

rodnyi, E.I. Morosanova // Zhurn. analit. Khimii [J. of Analyt. Chemistry]. — 2000. — Vol. 5, # 8. — pp. 808 — 815.

7. Vliyanie rastvoriteley na sootnoshenie intensivnostey polos spektrov lyuminestsentsii ionov evropiya v nekotorykh kompleksnykh soedineniyakh [The influence of solvents on the ratio of the band intensities of the luminescence spectra of europium ions in some complex compounds] / L.I. Kononenko, S.V. Bel'tyukova, S.B. Meshkova and others. // Dokl. AN USSR. Ser. B. [Reports of the Ukrainian Academy of Sciences. Ch. B.] — 1975. — # 9. — pp. 816 — 818.

Рецензент д-р хим. наук, проф. Физ.-хим. ин-та им. А.В. Богатского НАН Украины Ефрюшина Н.П.

Поступила в редакцию 11 июля 2012 г.