

## Визначення меламіну та продуктів його деструкції в субстанції та молочних продуктах електрохімічними методами

О.В. Волнянська, О.В. Лабяк, В.І.Ткач

ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», 49005, Дніпропетровськ-5, пр. Гагаріна, 8; E-mail: tkachVI@ukr.net

*Вивчена взаємодія органічного катіона меламіну з гетерополіаніонами структури Кеггіна  $PMo_{12}O_{40}^{3-}$  методами УФ-, ІЧ-спектроскопії та амперометричного титрування. Досліджено фізико-хімічними методами (УФ-, ІЧ-спектроскопія) характер зв'язку ОК-ГПА у сполуках  $(MeIH_2)_3(PMo_{12}O_{40})_2$  та визначено співвідношення спектрофотометричним методом. Встановлені стехіометричні співвідношення реагуючих речовин методом амперометричного титрування та спектрофотометричним методом свідчать про утворення іонних асоціатів. Отримані малорозчинні іонні асоціати можуть бути використані при синтезі пластифікованих мембран для іонселективних електродів, оборотних до визначуваних органічних катіонів. Нові синтезовані малорозчинні асоціати були застосовані як електродноактивні речовини для конструювання плівкових полівінілхлоридних мембран іонселективних електродів, оборотних до ОК меламіну та продукту його деструкції – аммеліну, на основі мембранного розчинника-пластифікатора – дибутилфталату. Розроблені методики кількісного визначення меламіну та аммеліну у молочній продукції методом прямої потенціометрії, з використанням розроблених іонселективних електродів, які характеризуються достатньою чутливістю, селективністю, простотою і експресністю.*

*O.V. VOLNYANSKA, O. V. LABYAK, V.I.TKACH. DETERMINATION OF MELAMINE AND PRODUCTS OF ITS DESTRUCTION IN SUBSTANCE AND MILK PRODUCTS BY ELECTROCHEMICAL METHODS. We analyzed the interaction of organic cations melamine with heteropolyanions of Keggin's structure by methods of UV- IR spectroscopy and amperometric titration. We studied by physico-chemical methods (UV- IR spectroscopy) the nature of connection OK-GPA in the combinations  $(MeIH_2)_3(PMo_{12}O_{40})_2$  and we determined the correlation by spectrophotometric method. We defined stoichiometric relation of the reactants by amperometric titration and spectrophotometric methods. It indicates the formation of ion associated. These soluble ion associated can be used in the synthesis of plasticized ISE membranes, reversed to definable compounds. New synthesized soluble associated were used as materials for the construction of electrodoaktyvni the film ISE PVC membrane electrodes reversible to the organic cation, melamine and degradations product ammeline based on membrane solvent plasticizer – dibutyl phthalate. It is developed methods of quantitative determination of melamine and ammeline in dairy products by direct potentiometry. The method use ion selective electrodes, which possess enough high sufficiency, sensitivity, selectivity, simplicity and the express.*

**Ключові слова:** меламін, аммелін, іон-селективний електрод, гетерополіаніон, органічний катіон, деструкція

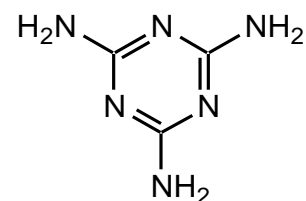
**Keywords:** melamin, ammeline, ionselective electrode, heteropolyanion, organic cations, destruction.

Меламін – тример цианаміду, триаміно похідна 1,3,5-триазину. Константи дисоціації у водних розчинах при 20°C:  $K_1=1,26 \cdot 10^{-9}$ ,  $K_2=1,58 \cdot 10^{-14}$ ,  $K_3=1 \cdot 10^{-17}$  [1].

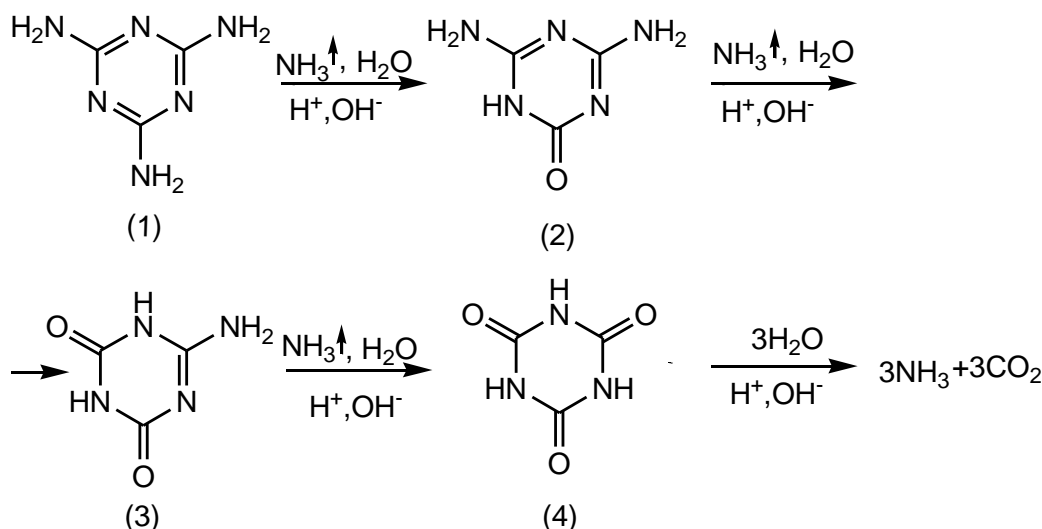
Емпірична формула:  $C_3H_6N_6$ , молекулярна маса меламіну:  $M_r=126,13$  г/моль.

Синоніми: 2,4,6-триаміно-1,3,5-триазин, цианурамід, циануро-триамід, циануротриамін, цимел.

У водних та лужних розчинах меламін (1) поступово гідролізується до аммеліну (2), аммеліду (3), цианурової кислоти (4) та на кінцевій стадії – до  $NH_3$  та  $CO_2$  (схема 1) [9].



Необхідність контролю вмісту меламіну в молочних та кондитерських виробках обумовлена тим, що деякі виробники додають меламін у свою продукцію (молоко, дитячі молочні суміші, йогурти, цукерки, шоколад), щоб імітувати високий вміст білка, завдяки наявності в молекулі меламіну шести атомів Нітрогену.



**Рис. 1.** Гідроліз меламіну

Так, як в молочному виробництві продукти, що містять білки, контролюються по вмісту Нітрогену методом Кьельдаля-Дюма (метод визначення загального Нітрогену), тому можливі фальсифікації молочних продуктів на вміст білка за рахунок введення токсичного меламіну до складу переліченої харчової продукції [7,8].

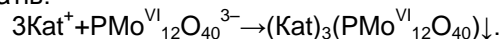
З літературних даних відомі фізико-хімічні (кількісне визначення меламіну методом високоефективної рідинної хроматографії, імуоферментні, спектрофотометричні, полярографічні) та хімічні методи кількісного визначення меламіну [2–6, 18–20]. Деякі методи характеризуються низькою чутливістю, селективністю [6], інші – тривалістю експерименту [2–5, 18–20]. Перевагами цих методів є універсальність, висока ефективність та можливість автоматизації у сполученні з іншими фізико-хімічними методами. Недоліком є складність та тривалість пробопідготовки, використання токсичних та летких речовин, а також коштовність обладнання. Таким чином, актуальною проблемою є розробка альтернативних способів кількісного визначення меламіну у харчовій продукції.

Використання електрохімічних методів аналізу (амперометрії та потенціометрії) є альтернативою існуючим методикам і дає можливість розробити прості та експресні способи кількісного визначення меламіну.

Метою даної роботи було розробити методики кількісного визначення меламіну у молочній продукції методами амперометричного титрування та прямої потенціометрії з використанням іон-селективних електродів, чутливих до органічного катіону меламіну та продуктів його деструкції.

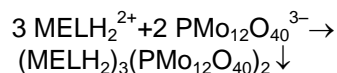
Для визначення багатьох нітрогеновмісних органічних речовин, які містять основний атом Нітрогену, широко застосовуються як

аналітичний реагент гетерополікислоти (ГПК) структури Кегіна [11–13]. Використання гетерополікислот структури Кегіна в амперометричному титруванні базується на окисно-відновних властивостях гетерополіаніонів (ГПА) та їх здатності осаджувати велику кількість неорганічних та органічних нітрогеновмісних катіонів з утворенням стійких малорозчинних іонних асоціатів:

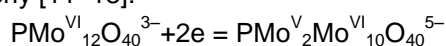


Таким чином, утворення осаду в реакції взаємодії між ГПА структури Кегіна та нітрогеновмісними органічними катіонами та наявність при цьому ефективного аналітичного сигналу (різкої зміни граничного дифузійного струму при електрохімічному відновленні ГПА), дають змогу використовувати даний аналітичний реагент для аналізу нітрогеновмісних органічних речовин за методом амперметричного титрування.

Реакція взаємодії між гетерополіаніоном  $\text{P}\text{Mo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}$  і органічним катіоном меламіну з утворенням малорозчинного асоціату проходить стехіометрично у водному розчині при рН 6,0–7,0:



При вольтамперметричному вивченні електрохімічної поведінки органічного катіону меламіну виявилось, що при катодній поляризації в інтервалі від +0.5 до –0.5 В він є неелектроактивною хімічною сполукою. В тих же умовах гетерополіаніон 12-молібдофосфатної кислоти при використанні в якості фонового електроліту 0.1 М розчину натрій сульфату дає чітку хвилю електровідновлення двох атомів молібдену [11–13]:



Величина сили граничного струму даного електродного процесу лінійно залежить від концентрації МФК до  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Виходячи з того, що титрант є електроактивною речовиною то проходить реакція утворення малорозчинної сполуки між визначуваною речовиною та титрантом, тобто можливе амперометричне титрування розчинів меламіну розчином МФК із індикацією точки еквівалентності за силою дифузійного струму електровідновлення аніону 12-молібдофосфатної гетерополікислоти.

Вивчення реакції взаємодії МФК з органічним катіоном(ОК) меламіну дало змогу використувати дану реакцію, як аналітичну, при амперометричному титруванні, а малорозчинні продукти даних реакцій з іонно-асоціативним характером зв'язку між ГПА і ОК – як електродноактивні речовини(ЕАР) при розробці іон-селективних електродів (ІСЕ), оборотних до визначуваних катіонів.

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

В даній роботі були використані наступні хімічні реактиви:

1. 12-молібдофосфатна кислота марки «ч.д.а.» ( $H_3PMo_{12}O_{40} \cdot 26H_2O$ ).

2. Меламіну, фармокопейної чистоти.

Для отримання продуктів деструкції меламіну(аммелін, аммелід та цианурової кислоти, схема 1) були використані наступні методики [10].

Аммелін – перший деструктат меламіну, отримували шляхом лужного гідролізу (вихід склав 54%). Для визначення амеліну розроблено ІСЕ, зареєстровано електродні характеристики та апробовано розроблену методику прямої потенціометрії на молочній продукції. Амелід(схема 1) є нестійким проміжним продуктом деструкції меламіну, тому отримати його не вдалось. Шляхом кислотного гідролізу було отримано цианурову кислоту (вихід склав 86%). Отриманий продукт ідентифікували спектрофотометричним методом.

3. Амперометричне титрування проводили на приладі АУ-4М, який складається з наступних вузлів: мікроамперметр М-95, блок живлення, система з двох електродів: індикаторний – торцевий графітовий електрод з діаметром робочої поверхні 5 мм (швидкість обертання 660 об/сек) та електрод порівняння – насичений каломельний напівелемент.

#### *Методика амперометричного визначення меламіну.*

Кількісне визначення меламіну 12-молібдофосфатною гетерополікислотою проводять методом зворотнього титрування. Для цього готують розчин МФК концентрацією  $1 \cdot 10^{-2}$ М, відбирають аліквоту(5 мл) та додають 5 мл дистильованої води.

Розчин кількісно переносили в електрохімічну комірку з системою електродів: мікроелектрод – обертовий графітовий електрод; макроелектрод – насичений каломельний напівелемент, на яку накладали потенціал +0.10 В (виміри проводили при перемішуванні розчину). Після встановлення значення нульового струму пробу титрували  $1 \cdot 10^{-2}$  М розчином меламіну, фіксуючи при цьому величину граничного струму ( $I_{гр}$ ) через 30с після додавання чергової порції титранту. Титрування закінчують після встановлення постійного значення сили дифузійного струму. Об'єм титранту, який був використаний на титрування, визначають графічно.

4. Для виготовлення мембран ІСЕ використовували наступні реактиви:

Полівінілхлорид(ПВХ) марки С-70 "х.ч." – матриця мембрани, циклогексанон(ЦГ) марки "ч.д.а." – розчинник матриці, як мембранний розчинник-пластифікатор використовували дибутилфталат (ДБФ) марки "х.ч.", як електродноактивну речовину – асоціат органічного катіона меламіну з ГПА ( $(MELH_2)_3(PMo_{12}O_{40})_2$ ).

5. Пластифіковані полівінілхлоридні мембрани на основі ДБФ для ІСЕ синтезували за стандартною методикою [11]: 0.45 г ПВХ розчиняли в 4.5 мл ЦГ при слабкому нагріванні на водяній бані при перемішуванні до повного розчинення. Окремо готували розчин ЕАР (0.010 г в 1.1 мл розчину мембранного розчинника-пластифікатора) на водяній бані при перемішуванні до повного розчинення. Отримані розчини переносили до чашки Петрі діаметром 50 мм. Після повного випаровування ЦГ з суміші під витяжною шафою (3–4 доби) отримували прозору, слабко-жовтого забарвлення еластичну плівку пластифікованої полівінілхлоридної мембрани.

6. Для побудови градувальних графіків (Е, мВ - рС) готували серію водних розчинів меламіну та амеліну з концентраціями від  $10^{-6}$  до  $10^{-2}$  моль/л. Значення рН підтримували розчинами  $H_2SO_4$  та NaOH. Перед використанням ІСЕ вимочували в розчині з концентрацією, яка відповідає середині діапазону вмісту речовини, що визначається. Для реєстрації електродних характеристик використовували електрохімічну комірку:

$Ag|AgCl, KCl(нас.)|$ Визн. розчин ( $MELH_2^{2+}$ ,  $AMELH_2^{2+}$ )|Мембрана|Станд. розчин ( $MELH_2^{2+}$ ,  $(AMELH_2^{2+})(10^{-3}M)$ )|KCl(нас.), AgCl|Ag.

Потенціометричні дослідження проводили на іономері ЕВ-74 та застосовували систему електродів: індикаторний – ІСЕ на органічний катіон меламіну або амеліну, електрод порівняння – хлоридсрібний електрод.

### Методика іонометричного визначення меламіну/аммеліну.

Наважку визначуваної речовини розчиняють в дистильованій воді до концентрації на рівні  $10^{-4}$ – $10^{-3}$  моль/л і переносять у мірну колбу на 25 мл, розчин доводять до мітки водою і кількісно переносять в електрохімічну комірку з системою електродів: ІСЕ оборотний до органічного катіона меламіну або аммеліну, як індикаторний, і хлоридсрібний – як електрод порівняння. За допомогою іономеру вимірюють електрорушійну силу і за градуовальним графіком визначають вміст меламіну/аммеліну.

7. Оптичну густину досліджуваних розчинів вимірювали на спектрофотометрі СФ-46. Спектри поглинання реєстрували в діапазоні 200–340 нм в кварцових кюветках з товщиною шару 1 см. Як розчинник та розчин порівняння для меламіну використовували дистильовану воду.

8. Для встановлення складу асоціату меламіну з ГПА проводили пряме насичення  $10^{-5}$  моль/л водного розчину молібдофосфатної кислоти розчином меламіну з такою ж концентрацією.

### Визначення складу асоціату меламіну з ГПА методом УФ-спектроскопії.

Для встановлення співвідношення реагуючих компонентів  $[\text{MELH}_2^{2+}]:[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}]$  у мірні колби об'ємом 25.0 мл додавали по 4.0 мл розчину МФК з концентрацією  $10^{-5}$  моль/л і вводили в кожну колбу різну кількість водного розчину меламіну ( $10^{-5}$  моль/л) при рН=6.0: 1.0; 2.0; 3.0; 4.0; 5.0; 6.0; 7.0; 8.0; 9.0; 10.0 мл; доводили об'єм кожної колби до мітки водою і визначали оптичну густину отриманих розчинів при  $\lambda=236$  нм,  $l=1$  см. За результатами визначення будували криву насичення і визначали співвідношення реагуючих компонентів.

9. ІЧ-спектри реєстрували на ІЧ-спектрометрі NICOLET (Impact-400) з Фур'є-перетворенням в інтервалі 4000–400  $\text{см}^{-1}$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Співвідношення реагуючих компонентів при взаємодії меламіну з МФК визначали за результатами амперометричного титрування ( $n=5$ ,  $R=0.95$ )  $[\text{MELH}_2^{2+}]:[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}]=3:2$ . Додаткова протонізація молекули меламіну до загального заряду +2 відбувається в процесі титрування або осадження меламіну при додаванні розчину МФК, яка є кислотою середньої сили. Виходячи з результатів амперометричного титрування можна зробити висновок про утворення малорозчинного у воді іонного асоціату із загальною формулою  $(\text{MELH}_2^{2+})_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-})_2$ .

УФ-спектри водних розчинів меламіну в широкому інтервалі рН характеризуються наявністю інтенсивних смуг поглинання в

діапазоні 200–340 нм (рис. 1). Смуга середньої інтенсивності з максимумом поглинання при 200–210 нм відповідає переходу  $n \rightarrow \sigma^*$  переходу за рахунок вільної пари електронів в атомі Нітрогену в молекулі меламіну.

В інтервалі 230–240 нм для водних розчинів меламіну спостерігається смуга поглинання невеликої інтенсивності, яку можна віднести до  $\pi \rightarrow \pi^*$  і  $n \rightarrow \pi^*$  переходів за рахунок наявності в молекулі даної сполуки групи  $\text{C}=\text{N}$ . Згідно літературних джерел [14], водні розчини меламіну мають два максимуми поглинання при довжині хвилі 203 нм та 236 нм. Спектри поглинання 12-молібдофосфатної кислоти характеризуються наявністю інтенсивної смуги поглинання в інтервалі 207–220 нм, що належить електронному переносу з орбіталей, локалізованих на атомах Оксигену, на атом металу кінцевих зв'язків  $\text{O}=\text{Me}$  ( $\text{Me}=\text{Mo}$ ) [15–17], і менш інтенсивних смуг переносу заряду по місткових зв'язках  $\text{Me}-\text{O}-\text{Me}$  (260–280 і 320–330 нм).

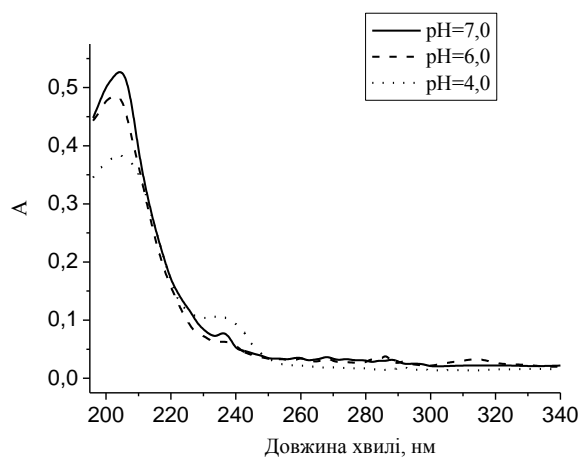


Рис. 2 Спектри поглинання розчинів меламіну при різних рН ( $C_{\text{меламіну}}=1 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $l=1$  см)

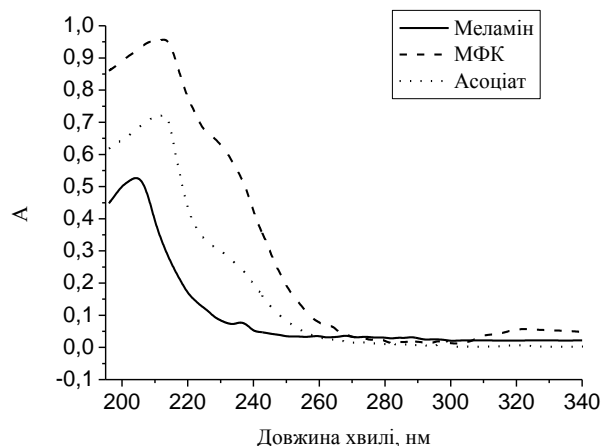
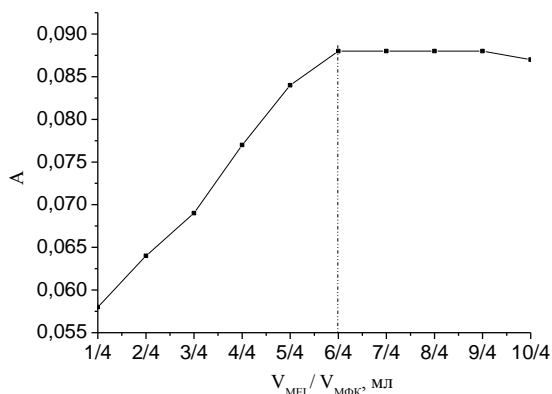
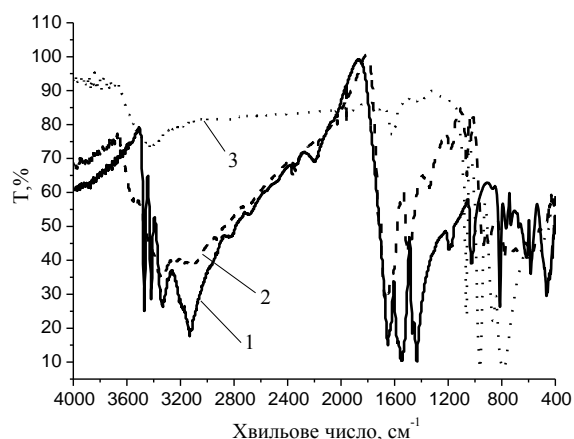


Рис. 3 Спектри поглинання меламіну, МФК та асоціату  $(\text{MELH}_2^{2+})_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-})_2$  при рН=7.0 ( $C_{\text{меламіну}}=10^{-5}$  моль/л,  $l=1$  см)



**Рис. 4.** Залежність поглинання системи MEL–МФК від концентрації меламіну ( $V_{\text{МФК}}=4$  мл;  $C_{\text{МФК}}=C_{\text{меламіну}}=10^{-5}$  моль/л,  $\lambda=236$  нм;  $l=1$  см)



**Рис. 5.** ІЧ спектр поглинання: 1 – меламіну, 2 – МФК, 3 – сполуки MEL з  $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^3$  в таблетці КВг

УФ-спектри водного розчину асоціату сполук  $(\text{MELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$  (рис. 3) містять смуги поглинання, характерні для взаємодіючих речовин (ГПА, MEL), що свідчить про незмінність хромофорної системи в ході реакції і підтверджує асоціативний характер взаємодії. Визначення складу утворених асоціатів проводили методом молярних відношень. Для

встановлення можливого складу асоціату меламіну з ГПА проводили пряме насичення водного розчину МФК розчином меламіну.

За результатами вимірювань будували криву насичення (рис. 3) і визначали співвідношення реагуючих компонентів. Співвідношення компонентів у комплексі за результатами визначення складо  $[\text{MELH}_2^{2+}]:[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{3-}]=3:2$ , отже утворюється асоціат складу  $(\text{MELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$ .

Для ідентифікації одержаних органічних катіонів та дослідження характеру їх взаємодії з ГПА був використаний метод ІЧ-спектроскопії.

З літературних даних [15] відомі групи зв'язків у молекулі гетерополікіслот структури Кеггіна, що мають коливання: зв'язків  $\text{Me}=\text{O}$ , місткові зв'язки  $\text{Me}-\text{O}-\text{Me}$ ,  $\text{Me}-\text{O}-\text{X}$ , в яких один з атомів Оксигену об'єднує три атоми металу-ліганду і центральний атом-комплексоутворювач знаходиться в тетраедричному, а атоми металу-ліганду – в октаедричному оточенні Оксигену. Смуги поглинання, які відповідають коливанням  $\text{C}=\text{N}$  та групи  $\text{NH}_2$  в спектрі меламіну (рис. 5) зберігаються і в спектрах його сполук з ГПА –  $(\text{MELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$ , що доводить незмінність структури органічного катіону меламіну (табл. 1).

В ІЧ-спектрах асоціату  $(\text{MELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$  (рис. 5) зберігаються характеристичні смуги, що зумовлені валентними коливаннями зв'язку  $\text{Me}=\text{O}$  в інтервалі  $1100\text{--}400$   $\text{cm}^{-1}$ , зберігаються, що свідчить про незмінність структури гетерополіаніону (табл. 1).

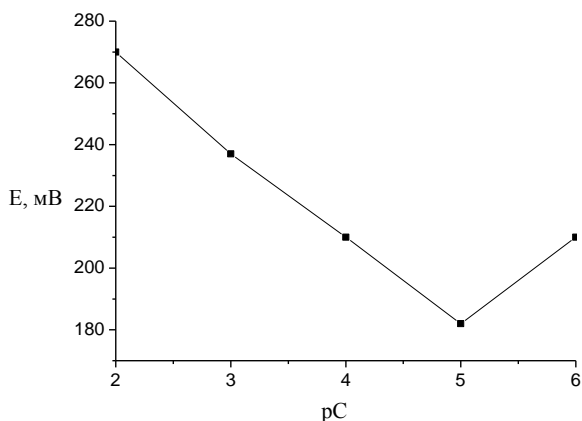
Порівняльний аналіз УФ- та ІЧ-спектрів меламіну показав наявність спільних смуг поглинання, що підтверджує можливість меламіну виступати як ОК і утворювати малорозчинний асоціат при взаємодії з ГПА. Результати УФ-, ІЧ-спектороскопічних досліджень реакцій взаємодії ГПА з органічним катіоном меламіну а також дані про стехіометричні співвідношення реагуючих компонентів дозволили нам синтезувати малорозчинні, стійкі асоціати ГПА з ОК меламіну.

**Таблиця 1.** Віднесення смуг поглинання в ІЧ-спектрах 12-молібдофосфатної гетерополікіслоти, меламіну та її сполук з ГПА

Сполука	ц.а-О	Me=O <sub>1</sub>	Me-O <sub>2</sub> -Me	Me-O <sub>3</sub> -Me	Me-ц.а.	N-H	C=N	C-N	NH <sub>2</sub>
Хвильове число, $\text{cm}^{-1}$									
$\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}\cdot 26\text{H}_2\text{O}$	1065	960	872	790	465	–	–	–	–
Меламін	–	–	–	–	–	1440	1660	814	3343
						1560	2228	1030	3420
						3130		1200	3470
$(\text{MELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$	1062	945	903	782	440	1348	1668	1060	3354
						1508	2367	1192	
						3118			

**Таблиця 2.** Основні електродні характеристики ICE з ЕАР на основі ОК меламіну, аммеліну та  $\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}^{VI-3-}$

Пластифікатор	Склад ЕАР	Вміст ЕАР у мембрані, г	S, мВ/рС	Інтервал лінійності, моль/л	$C_{\min}$ , моль/л	Час життя, доба
ДБФ	$(\text{MELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$ $(\text{AMELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$	0.010	29.3 28.7	$10^{-2}$ – $10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$	80–100



**Рис. 6** Залежність потенціалу ICE від рС меламіну (мембрана з вмістом ЕАР 0.010 г; МР – ДБФ;  $\text{pH}_{\text{мел}}=7.0$ )

Завдяки цьому були розроблені іонселективні електроди (ICE), чутливі до органічного катіона меламіну ( $\text{MELH}_2^{2+}$ ) та аммеліну ( $\text{AMELH}_2^{2+}$ ) з пластифікованою полівінілхлоридною мембраною, в котрій як ЕАР використано іонні асоціати  $(\text{MELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$  та  $(\text{AMELH}_2)_3(\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})_2$ .

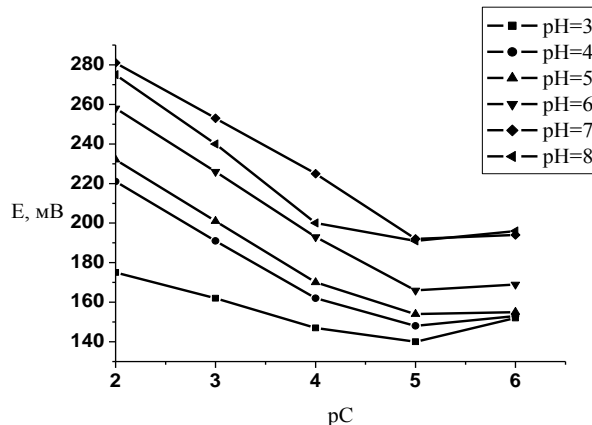
Електродні характеристики одержаних ICE оборотних до органічних катіонів меламіну(або аммеліну) наведено в табл. 2.

Оборотність синтезованих мембран до ОК меламіну та аммеліну спостерігається в інтервалі концентрацій від  $10^{-2}$  до  $10^{-5}$  моль/л (рис. 6). Таким чином, розроблені іонселективні електроди на меламін та аммелін, мають катіонну функцію з нахилом, близьким до теоретичного для двозарядних катіонів.

Досліджено вплив величини рН на крутизну електродної функції ICE, чутливих до органічних катіонів меламіну та аммеліну (рис. 7). Крутизна функції розробленого ICE на аммелін залишається практично незмінною, лінійність порушується в слабко лужному  $\text{pH}=8$  і кислому  $\text{pH}=3.0$  середовищі. Тому оптимальною кислотністю середовища для іонометричного визначення аммеліну є інтервал рН в межах 6–7 (рис. 7).

Однією з найважливіших електродних характеристик іонселективного електрода є потенціометричний коефіцієнт селективності  $K_{ij}$ .

Коефіцієнт селективності показує можливість потенціометричного визначення іона, що



**Рис. 7.** Залежність потенціалу ICE від рС аммеліну при різних значеннях рН (мембрана з вмістом ЕАР 0.010 г; МР – ДБФ).

досліджується(*i*) в присутності іонів, що заважають(*j*). Чим менший коефіцієнт селективності, тим з більшою вибірковістю відносно іонів, що досліджуються у присутності заважаючих іонів працює даний ICE. Якщо коефіцієнт селективності  $K_{ij}$  більше одиниці, то в цьому випадку електрод більш чутливий до заважаючого іону *j*, у порівнянні з іоном *i*, що визначається. Якщо  $K_{ij} < 1$ , то електрод є селективним до іону *i*, що визначається.

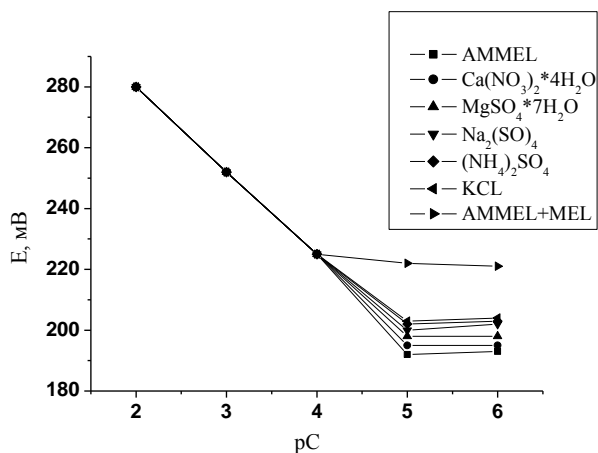
Коефіцієнти селективності розроблених ICE відносно заважаючих неорганічних іонів  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$  та продуктів деструкції меламіну були визначені методом змішаних розчинів. В основі методу покладено вимірювання потенціалу у змішаних розчинах з постійним вмістом заважаючого іона *j* при змінній концентрації іона *i*. Коефіцієнти обчислюються за формулою:  $K_{ij} = a_i/a_j$ .

Величину  $a_i$  знаходили за точкою на експериментальній кривій (рис. 8), розраховані коефіцієнти селективності розроблених ICE, наведені в табл. 3

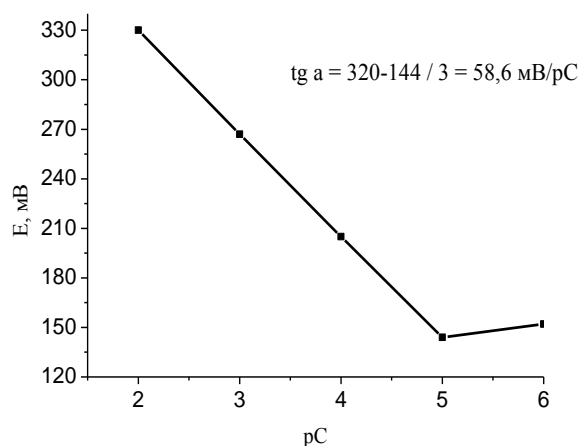
Таким чином, селективність розроблених ICE на органічні катіони меламіну та аммеліну на фоні заважаючих іонів  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$  складає  $10^{-2}$ , а на фоні продукту деструкції  $10^{-1}$ , що дозволяє проводити прямі потенціометричні виміри меламіну та аммеліну в присутності стократного надлишку  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ -іонів та десятикратного надлишку заважаючого органічного катіону.

**Таблиця 3.** Потенціометричні коефіцієнти селективності  $K_{ij}$  ICE, оборотних до аммеліну ( $i$  – визначуваний катіон,  $j$  – заважаючий катіон)

ОК	$K_{ij}$						
	(MEL)	(AMEL)	$K^+$	$Na^+$	$Ca^{2+}$	$Mg^{2+}$	$NH_4^+$
Меламін (MEL)	–	0.1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Аммеллін (AMEL)	0.1	–	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01



**Рис. 8.** Визначення потенціометричного коефіцієнту селективності  $K_{ij}$  ICE на аммелін методом змішаних розчинів у присутності заважаючих іонів.



**Рис. 9.** Залежність потенціалу ICE від  $pC_{NH_4Cl}$

Час відгуку розроблених ICE визначено методом зміни концентрації потенціалвизначуваного іона на порядок і він становить при малих концентраціях, відповідно, 100–120 с та 80–100 с; на великі концентрації меламіну та аммеліну ( $10^{-3}$ – $10^{-2}$  моль/л). Стабільність і відтворюваність результатів показників ICE з часом не змінюються більше як  $\pm(1.5$ – $2.5)$  мВ/добу. Час життя ICE залежить від способу їх зберігання: найдовшим (80–100 діб) він був у електродів, які зберігали в сухому стані, а за 40 хв до вимірювання вимочували в розчині з концентрацією, яка відповідає середині діапазону вмісту визначуваної речовини ( $10^{-3}$ – $10^{-4}$  моль/л).

Оскільки при проведенні гідролізу меламіну на кожній стадії процесу виділяється аміак, а якщо провести кислотний гідроліз до кінця при відповідних умовах, то можна отримати амонієву сіль, яку також можна визначати як кінцевий деструктат меламіну. Тому було розроблено ICE, оборотний до катіону амонію та зареєстровано його електродну функцію. Моделювання ICE, оборотного до катіону амонію, та реєстрацію електродних характеристик здійснюють аналогічно до меламіну та аммеліну. Нахил градувального графіка ICE має вигляд:

$$S = \frac{2.303 \cdot R \cdot T}{z \cdot F} = \frac{59.16 \text{ mV}}{z}, \quad (1)$$

згідно отриманої графічної залежності (рис. 9) нахил дорівнює 58,6 мВ, отже іон амонію близький до теоретичного однозарядного.

Правильність результатів визначення ОК меламіну була перевірена методом добавок (табл. 4). До аліквоти 25 мл аналізованого розчину додавали по 1 мл стандартного розчину ОК з концентрацією 1 мг/мл і вимірювали електродний потенціал після кожної добавки. Одержанні дані, що підтверджують правильність результатів визначення меламіну в субстанції та відсутність систематичної помилки.

**Таблиця 4.** Результати визначення меламіну в субстанції та перевірка правильності методом прямої потенціометрії ( $n=7$ ,  $P=0.95$ )

$m$ , мг	добавка, мг	$(x \pm \delta)$ , мг	$S_r$
3,15	–	$3.14 \pm 0,04$	0.01
	1.00	$4.12 \pm 0,06$	0.02
	2.00	$5.15 \pm 0,08$	0.02
	3.00	$6.11 \pm 0,09$	0.02

Розроблені ICE з електродно-активною речовиною на основі органічного катіону меламіну та ГПА були використані в аналізі молочної продукції. З асортименту молочної продукції було обрано два продукти: вершки ультрапастеризовані питні «President» (10% жирності, склад білків 3.1 г/100г) та домашнє молоко. Для запобігання погіршення характеристик електродів після контакту з молочними продуктами використовували ацетатний буфер для відокремлення білків.

Пробопідготовка.

Сквашування продуктів проводять наступним чином: в колбу на 100 мл вносять 40 мл досліджуваної рідини та додають по краплям ацетатний буфер (рН=4.54).

Розчин витримують при 40<sup>0</sup>С протягом 5 хв до повного осадження білка. Осад відфільтровують, а фільтрат кількісно переносять в мірну колбу на 50 мл і доводять до мітки дистильованою водою. Шляхом введення меламіну в сироватку молочної продукції було змодельовано досліджуваний розчин меламіну в сироватці молочної продукції.

Методика визначення.

Вимірюють потенціал ICE, оборотного до катіону меламіну в стандартних розчинах меламіну в інтервалі концентрацій від 10<sup>-6</sup> до 10<sup>-2</sup> моль/л. Потім вимірюють потенціал досліджуваного розчину меламіну в сироватці сквашених вершків (E=254 мВ – в перерахунку на масовий вміст меламіну отримане значення складає 0.5 мг меламіну на 50 мл вершків), та – в сироватці сквашеного домашнього молока (E=256 мВ в перерахунку на масовий вміст меламіну отримане значення складає 0,6 мг меламіну на 50 мл молока). Концентрацію меламіну в пробі знаходять за градувальним графіком.

**Таблиця 5.** Результати визначення меламіну у молочної продукції методом прямої потенціометрії з ICE (n=5, P=0,95)

Об'єкт аналізу	№ п/п	Введе но, мг	Знай дено , мг	Метрологічні характеристики
Вершки	1	0.50	0.51	$\bar{x}=0,502$ $S^2=0,00007$ $S_x=0,008$ $S_r=0,020$ $\bar{x} \pm \delta=0,502 \pm 0,009$
	2		0.49	
	3		0.51	
	4		0,50	
	5		0,50	
Молоко	1	0.60	0,59	$\bar{x}=0,596$ $S^2=0,00003$ $S_x=0,005$ $S_r=0,008$ $\bar{x} \pm \delta=0,596 \pm 0,006$
	2		0,60	
	3		0,60	
	4		0,60	
	5		0,59	

Результати кількісного визначення меламіну у сквашених молочних продуктах іонометричним методом характеризується високою чутливістю (10<sup>-5</sup> моль/л) та доброю відтворюваністю результатів (табл.. 5). Розрахунки проводять за формулою:

$$m(\text{Mel}) = \frac{C(\text{Mel}) \cdot V(\text{ал}) \cdot M(\text{Mel})}{1000}, \quad (2)$$

де m(Mel) – маса меламіну, що визначається, г; C(Mel) – концентрація меламіну, моль/л; V(ал) – аліквотна частина досліджуваного розчину, мл; M(Mel) – молярна маса меламіну (M=126.15 г/моль).

Результати визначення меламіну в молочної продукції методом прямої потенціометрії порівнюють з результатами стандартної методики ВЕРХ (табл. 6).

**Таблиця 6.** Результати визначення меламіну в молочної продукції методом прямої потенціометрії та методом ВЕРХ (n = 7, P = 0,95)

Досліджуваний зразок	Методика	S <sub>r</sub>
Молоко	Пряма потенціометрія	0,016
	ВЕРХ	0,042

Менші величини відносних стандартних відхилень при використанні методу прямої потенціометрії свідчать про більш високу надійність отриманих результатів. Крім того, розроблена методика більш експресна, простіша у виконанні, відсутність довготривалих, багатостадійних та складних етапів експерименту, не потребує застосування коштовних реактивів і обладнання.

*Кількісне визначення амеліну у харчовій продукції*

Розроблені ICE з електродно-активною речовиною на основі органічного катіону амеліну та гетерополіаніону 12- молібдо-фосфатної гетерополікислоти були використані в аналізі молочної продукції.

Методика визначення.

Проводять попереднє відділення сироватки вершків від білка, шляхом осадження білка в оцтовокислому середовищі за методикою, що наведена вище. Шляхом введення амеліну в сироватку молочної продукції було змодельовано досліджуваний розчин амеліну в сироватці молочної продукції.

Вимірюють потенціал ICE, оборотного до катіону амеліну в стандартних розчинах амеліну в інтервалі концентрацій від 10<sup>-6</sup> до 10<sup>-2</sup> моль/л. Потім вимірюють потенціал досліджуваного розчину амеліну в сироватці сквашених вершків (E=215 мВ – в перерахунку



на масовий вміст меламіну отримане значення складає 0,4 мг аммеліну на 50 мл вершків), та – в сироватці сквашеного домашнього молока ( $E=219$  мВ в перерахунку на масовий вміст меламіну отримане значення складає 0,5 мг аммеліну на 50 мл молока). Концентрацію аммеліну в пробі знаходять за калібрувальним графіком.

Результати кількісного визначення аммеліну у сквашених молочних продуктах іонометричним методом характеризується високою чутливістю ( $10^{-5}$  моль/л) та доброю відтворюваністю результатів. Розрахунки проводять наступним чином:

$$m(\text{Ammel}) = \frac{C(\text{Ammel}) \cdot V(\text{ал}) \cdot M(\text{Ammel})}{1000}, \quad (3)$$

де  $m(\text{Ammel})$  – маса аммеліну, що визначається, г;  $C(\text{Ammel})$  – концентрація аммеліну, моль/л;  $V(\text{ал})$  – аліквотна частина досліджуваного розчину, мл;  $M(\text{Ammel})$  – молярна маса аммеліну ( $M=127$  г/моль). Результати визначення аммеліну у молочній продукції наведені в табл. 7.

Таким чином, дослідження реакції взаємодії органічного катіона меламіну та продукту його деструкції аммеліну з гетерополіаніонами структури Кеггіна розроблені нові методики їх кількісного визначення в субстанції та молочній продукції з оптимальними аналітичними та метрологічними параметрами за допомогою сучасних електрохімічних методів аналізу.

**Таблиця 7.** Результати визначення аммеліну у молочній продукції методом прямої потенціометрії з ICE ( $n=5$ ,  $P=0,95$ )

Об'єкт аналізу	№ п/п	Введено, мг	Знайдено, мг	Метрологічні характеристики
Вершки	1		0,41	$\bar{x}=0,398$
	2		0,40	$S^2=0,00007$
	3	0,40	0,39	$S_x=0,008$
	4		0,39	$S_r=0,020$
	5		0,40	$\bar{x} \pm \delta=0,398 \pm 0,008$
Молоко	1		0,50	$\bar{x}=0,498$
	2		0,49	$S^2=0,00007$
	3	0,50	0,51	$S_x=0,008$
	4		0,50	$S_r=0,02$
	5		0,49	$\bar{x} \pm \delta=0,498 \pm 0,008$

Методики апробовані на реальних об'єктах молочної продукції і відповідають всім вимогам сучасного аналізу – вони прості та експресні, безпечні та доступні, мають достатню точність, чутливість і селективність. Ці методики відрізняються високими метрологічними характеристиками і дозволяють експресно здійснювати контроль кількісного вмісту меламіну у молочній продукції з використанням простого обладнання.

## ЛІТЕРАТУРА

- Кнунянц И.Л. Краткая химическая энциклопедия. Изд-во Советская энциклопедия: Москва, 1964. 3, С.108
- Онищенко Г.Г. Методы контроля. Химические факторы. Определение меламина в молоке и молочных продуктах: Методические указания МУК 4.1.2420 – 08 / Г.Г. Онищенко. Москва: Мир, 2008. С. 12.
- R.C. Hirt, F.T. King, R.G. Schmitt Detection and estimation of melamine in west-strength paper by ultraviolet spectrophotometry *Analytical Chemistry*. 1954. 26(8), 1273–1274.
- Ying Huang, Li Ping, Shique Xiang, Wu Gaoxu. The study process to determine melamine by polarography with a single scan. *Analytical Chemistry*. 1993. 29(25), 270–272
- Doehlemann E. Analytische Bestimmung von Melamin. *Angew. Chemie*. 1954. 66(19), 606.
- Заваров Г.В. К аналитической химии меламина. *Заводская лаборатория*. 1954, № 20, Вып.7, 811–815.
- ГОСТ 23327 – 98. Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка. Взамен ГОСТ 23327 – 78. Введ. 1998–12–11. – Москва: Изд-во стандартов, 1998. С. 8.
- ГОСТ 25179 – 90. Молоко. Методы определения белка. Взамен ГОСТ 25179 – 82. Введ. 2009 – 01 – 10. – Москва: Изд-во стандартов, 2009. С.9.
- Карлик В.М., Заграничный В.И. Кинетика гидролиза триазинов. Гидролиз циануровой кислоты. *Журн. всеос. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева*. 1971, 16(1), С.111.
- Вирпша З., Бжезинский Я. Аминопласты. Москва: Химия, 1972. С. 344.
- Ткач В.І. Гетерополіаніони як аналітичні реагенти на азотвміщуючі органічні речовини. Дніпропетровськ: ДДУ, 1995. С. 196.
- Никитина Е.А. Гетерополисоединения. Москва: Госхимиздат, 1962. С. 305.
- Никольский Б.П., Матерова Е.А. Ионселективные электроды. Л.: Химия, 1980. С. 240.
- Малкина Н.И., Финкельштейн А.И. Спектры поглощения в ультрафиолетовой области, молекулярное строение и анализ

аммелина и аммелида. *Журн. Физ. Химии*. 1974, 48(10), 2413 – 2415.

15. So H., Pope M.T. Origin of some charge-transfer spectra. Oxo compounds of vanadium, molybdenum, tungsten and niobium including heteropolyanions and heteropoly blues. *Inorg. Chem.* 1972. 11(6), 1441–1443.

16. Яцимирский К.Б., Алексеева И.И. Спектры поглощения изополимолибденовых кислот в растворе. *Журн. неорг. химии*. 1963, 8(11), 2513–2517.

17. Казанский Л.П., Торченкова Е.А., Спицин В.И. Электронные спектры поглощения растворов гетерополимолибденовых кислот церия, тория и урана (VI) Докл. АН СССР. 1973, 213(1), 118–121.

18. Ibanez M., Sancho J., Hernandez F. Determination of melamine in milk-based product and other food and beverage product by ion-pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry acta*. 2009. 649(1), 91–97.

19. Venkatasami Gopalakrishnan, Sowa John R.Jr. A rapid, acetonitrile-free, HPLC method for determination of melamine in infant formula. *Analytica Chimica Acta*. 2010. 665(2), 227-230.

20. Liu Yating, Deng Jian, An Lin, Liang Jun, Chen Fei, Wang Hui Spectrophotometric determination of melamine in milk by rank annihilation factor analysis based on pH gradual change-UV spectral data. *Food Chem.* 2011. 126(2), 745-750.