Люминесцентное определение сорбиновой кислоты в соках и безалкогольных напитках

О.И.Теслюк[1], С.В.Бельтюкова[2], Е. О. Ливенцова[2]

[1] Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины, 65080, Одесса, Люстдорфская дорога,86 e-mail: olgateslyuk@rambler.ru
[2] Одесская государственная академия пищевых технологий, 65033,Одесса, Канатная, 112, e-mail: liventsova_helen@mail.ru

Поступила: 25 декабря 2009 г./ Принята к публикации: 20 января 2010 г.

Изучена возможность определения сорбиновой кислоты (СК) в соках и безалкогольных напитках 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 Х-100. Линейная зависимость тушения люминесценции наблюдается в интервале концентраций СК 0,05-0,5 мг/мл. Предел обнаружения СК в соках и безалкогольных напитках составляет 0,1 мкг/мл.

O.I.Teslyuk, S.V.Beltyukova, Y.O.Liventsova. Luminescence determination of sorbic acid in juice and soft drinks *- The possibility of the determination of sorbic acid (SA) in juice and soft drinks by luminescence method was investigated. It has been shown that the SA decreases the 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 juice and soft drinks was 0,1 μg/ml .*

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

Keywords: *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 λ=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 триоктил-фосфиноксидом (ТОФО) в среде неионного поверхностно-активного вещества (НПАВ) Тритон Х-100 в присутствии СК.

Известно [9, 10], что ион Tb(III) в присутствии ТОФО образует разнолигандные комплексные соединения, в которых ТОФО выступает в качестве второго лиганда, вызывающего значительную

сенсибилизацию люминесценции лантанида. Реакции часто проходят в мицеллярной среде. Комплексное соединение Tb(III) с триоктилфосфиноксидом в растворе неионного ПАВ Тритон Х-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 Х-100 и установить возможность применения данного соединения для определения сорбиновой кислоты.

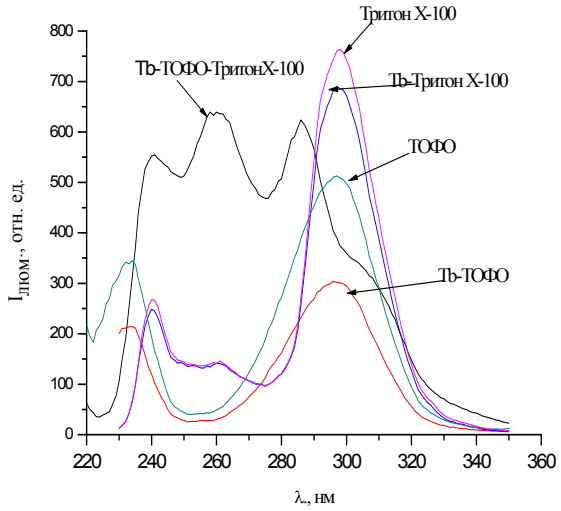

Рис.1. ***Спектры возбуждения люминесценции ТОФО, Тритон Х-100 и их соединений с ионом Tb(III).***

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 ТритонХ-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 Х-100.

Установлено, что в водной среде ион Tb(III) с ТОФО образует соединение, обладающее люминесценцией. В присутствии Тритон Х-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. Максимальная люминесценция наблюдается при концентрации Tb(III) $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л и ТОФО $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Оптимальное количество НПАВ составляет 0,4 мл (1% раствор).

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

Спектры возбуждения люминесценции органических лигандов и их соединений с ионом Tb(III) представлены на рис 1.

Из рис 1. видно, что в присутствии Tb(III) отмечается некоторое снижение интенсивности в спектрах возбуждения лиганда.

В спектре возбуждения люминесценции соединений Tb(III) с ТОФО имеются две полосы с максимумами при 233 и 297 нм, которые перекрываются с полосами возбуждения Тритон Х-100 (240 и 297 нм). При этом в комплексе в мицеллярном растворе появляется широкая полоса в области 230-340 нм с максимумами при λ 240,260 и 286 нм, которые могут быть отнесены к $\pi^* \leftarrow n$ переходам в молекулах лигандов.

Следует отметить значительное возрастание интенсивности полос с λ=240нм и λ=260 нм (последняя в спектре возбуждения Тритона Х-100 невелика). Широкая полоса возбуждения при λ=297 нм сдвигается в область более коротких длин волн (λ=286 нм). Взаимное перекрывание полос спектров возбуждения соединений Tb – ТОФО и Tb в мицеллярном растворе Тритон Х-100 обусловливает значительное увеличение эффективности внутримолекулярного переноса энергии и вследствие этого интенсивности люминесценции комплекса. Кроме того, в микрогетерогенных мицеллярных средах происходит солюбилизация комплекса Tb(III) в мицеллах ПАВ, которая сопровождается его концентрированием, увеличением константы устойчивости комплекса, устранением влияния посторонних тушителей и уменьшением гидратации иона металла [11].

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

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

Величины энергий триплетных уровней ($E_т$) ТОФО и Тритон Х-100, рассчитанные из спектров фосфоресценции при 77 К, составляют 21980см$^{-1}$ и 20750 см$^{-1}$ соответственно, что выше энергии резонансного уровня иона тербия (20500 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 Tb(III). В данном случае возможна безызлучательная потеря энергии возбуждения, что подтверждается невысокой интенсивностью люминесценции ($I_{люм}$) соединения Tb(III) –ТОФО. В связи с этим можно предположить, что значительное увеличение люминесцентного сигнала в присутствии Тритон Х-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).

Гашение люминесценции в системе

Tb-ТОФО-Тритон Х-100 в присутствии СК

В присутствии различных концентраций СК наблюдается снижение $I_{люм}$ иона Tb(III) в комплексе с ТОФО и Тритон Х-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.

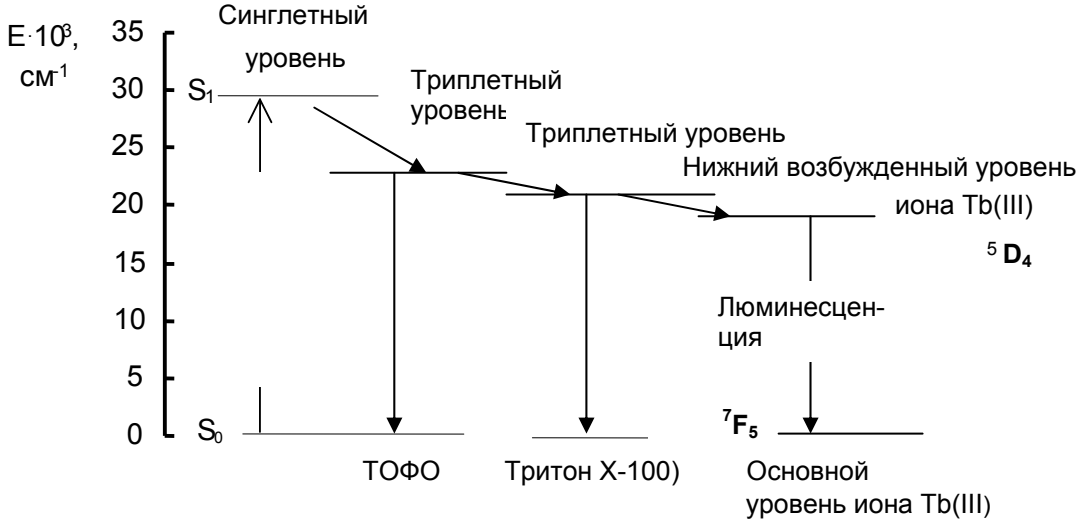

Рис.2. ***Схема процесса передачи энергии в соединении Tb-ТОФО- Тритон Х-100.***

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 [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 возбужденного состояния $^5D_4$ иона Tb(III) уменьшается. Так при добавлении 0,15 мг/мл СК τ 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:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{дин}[Q]$$

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

$K_{дин}$- константа динамического тушения

[Q] – концентрация тушителя

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

Аналитическое применение.

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

Тушение люминесценции Tb(III) в комплексе с ТОФО в мицеллярном растворе Тритон Х-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 фруктовых соках и напитках на их основе.

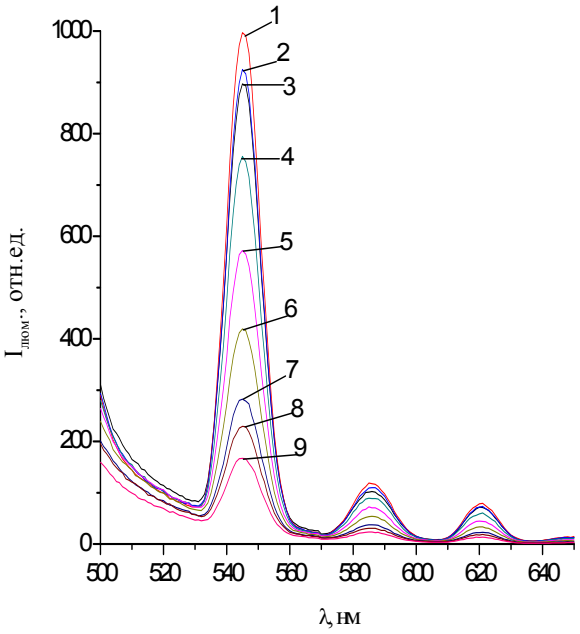

Рис.3. ***Спектры люминесценции комплекса Tb-ТОФО- Тритон Х-100 в присутствии различных концентраций СК ($С_{СК}$=0 мг/мл (1); 0,01 мг/мл (2); 0,02 мг/мл (3); 0,03 мг/мл (4); 0,05 мг/мл (5); 0,07 мг/мл (6); 1,0 мг/мл (7); 1,2 мг/мл (8);***
1,5 мг/мл (9)).

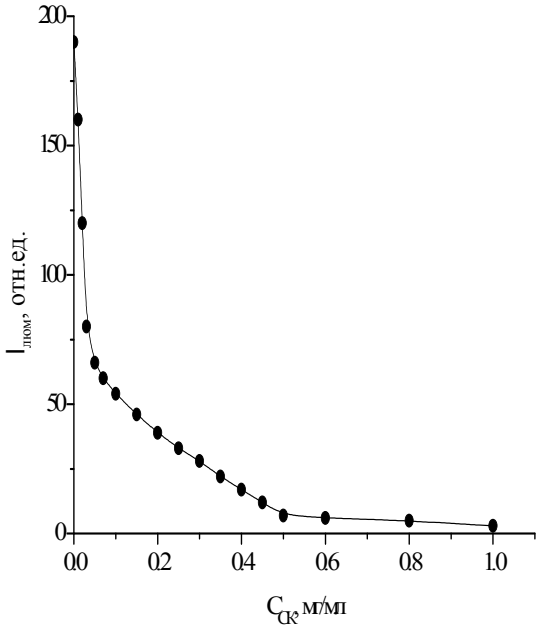

Рис.4. ***Зависимость $I_{люм}$ Tb(III) в комплексе с ТОФО и Тритон Х-100 в присутствии различных количеств СК.***

Построение градуировочного графика.

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).

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

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 Х-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 λ=545нм.

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.

Ход анализа.

Для приготовления рабочего раствора анализируемого напитка 10 мл сока (или фруктовой воды) вносили в колбу объемом 100 мл и доводили дистиллированной водой до метки (раствор А).

Для приготовления модельных растворов в мерные пробирки вместимостью 10 мл вносили по 1; 1,5; 2 мл рабочего раствора СК (1 мг/мл), по 1 мл раствора А, и далее добавляли все реактивы, как при построении градуировочного графика. Интенсивность люминесценции этих растворов измеряли при λмакс=545 нм. Концентрацию СК определяли по калибровочному графику.

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

Результаты определения СК в напитках 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 0,03-0,07.

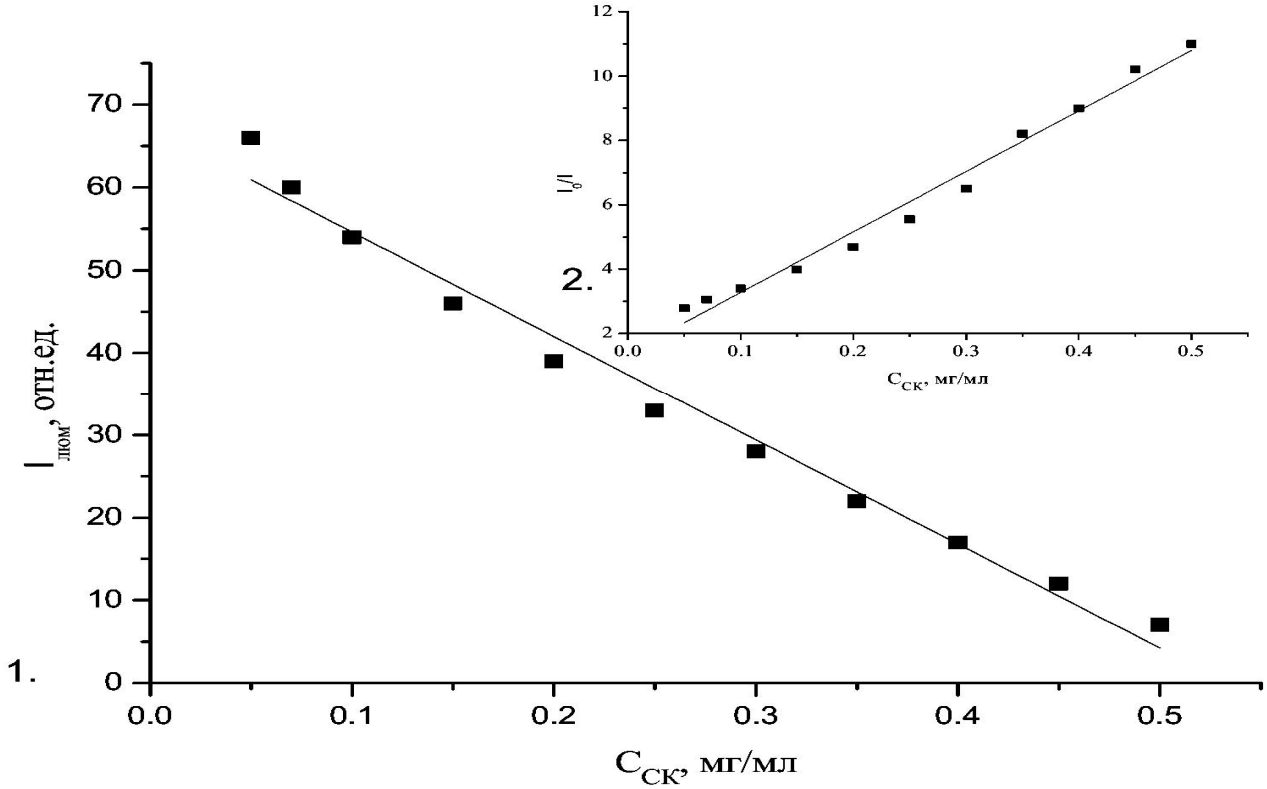

Рис.5. ***Градуировочный график для определения СК (1) и градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера. (2)***

Таблица 1 ***Результаты определения сорбиновой кислоты в соках и безалкогольных напитках методом "введено-найдено" (n = 5; P = 0,95)***

Объект анализа	Введено мг/мл	Найдено мг/мл	S_r%
Сок яблочный "Биола"	0,1	0,112±0,045	6,1
-	0,2	0,205±0,098	3,3
Сок яблочный " Jaffa "	0,1	0,118±0,056	5,9
-	0,2	0,220±0,090	4,8
Сок яблочно-виноградный "Одесский консервный завод"	0,1	0,098±0,041	5,1
-	0,2	0,205±0,088	3,9
Сок мультивитаминный "Sandora"	0,1	0,096±0,067	6,0
-	0,2	0,197±0,099	4,2
Вода фруктовая "Ананас" "Биола"	0,1	0,115±0,066	6,8
-	0,2	0,210±0,095	4,5

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.- 256с.

4. ГОСТ 26181-84-Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения сорбиновой кислоты.

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.

9. Теслюк О.І., Єгорова А.В., Бельтюкова С.В. Кількісне визначення піроксикаму та мелоксикаму люмінесцентним методом // Фарм. журн. – 2004. - 4. - С.65-70.

10. Egorova A., Beltyukova S., TeslyukO., Karpinchik V. Application of f-f-luminescence of terbium ion for determination of non-steroidal anti-inflammatory drug-niflumic acid // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2001. – 24. – P. 1081-1085.

11.Штыков С.Н, Смирнова Г.Д., Молчанова Ю.В. Синергические эффекты в системе европий (III) – теноилтрифторацетон - 1,10 фенантролин в мицеллах блоксополимеров неионных поверхностно-активных веществ и их аналитическое применение // Журн. аналит. химии. – 2001. – 56, №10. – С. 1052-1057.

12.Калиновская И.В., Задорожная А.Н., Николенко Ю.М., Карасев В.Е. Флуоресцентные свойства разнолигандных карбоксилатов европия // Журн. неорган. химии. – 2006. – 51, №3. – С. 505-509.

13.Барлтроп Дж., Койл Дж. Возбужденные состояния в органической химии. Пер. с англ. – М.: Мир, 1978. – 446 с.

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