Сорбционно - люминесцентное определение бензойной кислоты в соках и безалкогольных напитках

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

Одесская национальная академия пищевых технологий, 65039,Одесса, Канатная, 112,
e-mail: liventsova_helen@mail.ru

*Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины, 65080, Одесса, Люстдорфская дорога,86
e-mail: olgateslyuk@rambler.ru

Поступила в редакцию: 30 декабря 2010г. / Принята к публикации: 20 февраля 2011 г.

Изучены люминесцентные свойства сорбата комплекса Tb (III) с бензойной кислотой и 2,2'–дипиридилом на силикагеле. Показана возможность прямого люминесцентного определения бензойной кислоты в соках и безалкогольных напитках по сенсибилизированной твердофазной люминесценции иона Tb (III).

BELTYUKOVA S.V., LIVENTSOVA E.O., TESLYUK O.I. SOLID–PHASE LUMINESCENCE DETERMINATION OF BENZOIC ACID IN JUICE AND SOFT DRINKS - Luminescent properties of the Tb(III) sorbates with benzoic acid and 2,2'–dipyridyl on silicagel was studied. The possibility of the determination of benzoic acid in juice and soft drinks by use Tb (III) ion sensitized solid-phase luminescence has been shown.

Ключевые слова: люминесценция, тербий, консерванты, бензойная кислота

Keywords: luminescence, terbium (III) ion, preservatives, benzoic acid

ВВЕДЕНИЕ

Консерванты находят широкое применение в производстве пищевых продуктов, защищая последние от неприятного запаха и вкуса, плесневения и образования токсинов микробного происхождения. В качестве консервантов применяют сорбиновую, бензойную, дегидрацетовую кислоты, а также эфиры галловой кислоты [1]. Бензойная кислота (БК) используется в качестве консерванта для маргаринов, майонезов, хлебобулочных и кондитерских изделий, сыров, а также при консервировании фруктовых соков, предназначенных для дальнейшей переработки фруктовых пульп, чистых фруктовых соков и напитков на их основе, вин. Содержание бензойной кислоты составляет (0,05-0,2)% в зависимости от вида сока и срока хранения [1].

Бензойную кислоту и её соли применяют также при производстве лекарственных и косметических средств, для пропитки упаковочных материалов [2]. В качестве химических консервантов применяют только малотоксичные вещества, в то же время избыточные количества любых химических консервантов могут привести к токсичности пищи, аллергическим реакциям, а также к дисбалансу активных химических веществ в организме. Введение избытка консервантов ухудшает качество продуктов вследствие изменения кислотности, консистенции, вкуса, запаха, цвета и др. показателей. Недостаточные концентрации консервантов не обеспечивают сохранения высокого качества сырья и продукции. Консерванты поступают в организм человека с пищей практически в течении всей жизни, поэтому особенно нежелательны негативные воздействия их избыточных количеств. Бензойная кислота считается нетоксичной, однако способна вызывать аллергические реакции даже при низких концентрациях. Бензоат, содержащийся в качестве консерванта в напитках, может провоцировать приступы астмы у астматиков [1, 2].

Для определения БК предложены титриметрические, спектрофотометрические и различные хроматографические методы.

Титриметрические методы позволяют определять высокие содержания бензоата (0,06-0,15) г/г, предполагают его предварительную экстракцию диэтиловым эфиром [3] и не находят широкого применения.

В спектре БК имеются четкие максимумы поглощения в УФ-области, что позволяет определять её по величине оптической плотности при λ = 272 нм, а также при 228, 238 нм. Для получения надежных результатов измеряют оптическую плотность экстрактов при нескольких длинах волн с максимальным и минимальным поглощением, сравнивая полученные данные со спектрами растворов сравнения, и рассчитывают содержание БК [4] .

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

Стандартизованным методом определения БК в пищевых продуктах является спектрофотометрический, основанный на отгонке бензойной кислоты из продукта водяным паром, взаимодействии БК с гидрохлоридом гидроксиламина и пероксидом водорода в присутствии Cu^{2+} с образованием окрашенного о-нитрозофенольного производного, интенсивность окраски которого измеряют фотометрически при λ = 320нм [5].

Предложен [6] хемилюминесцентный метод, основанный на каталитическом эффекте бензоата в реакции люминол – H_2O_2 в присутствии карбоната меди (II), который обеспечивает низкий предел обнаружения (0,01 мкг/мл), но является мало селективным. Недостаточная избирательность спектрофотометрических методов определения БК ограничивает их использование.

Наиболее широкое применение получили хроматографические методы, позволяющие достаточно полно отделить определяемый компонент от примесных соединений и проводить идентификацию и количественное определение. Тонкослойную хроматографию БК проводят на силикагеле, полиамиде, целлюлозе, а также на смесях силикагеля с кизельгуром, полиамидом и других сорбентах, часто содержащих флуоресцентный индикатор $УФ_{254}$. Вследствие достаточно интенсивного поглощения БК в УФ - области на ярко флуоресцирующем фоне четко видно темное пятно БК [7].

В соках и напитках БК определяют методом тонкослойной хроматографии, предварительно проведя экстракцию с помощью этилацетата [8]. Обнаружить БК на хроматографической пластинке можно также по реакции с пероксидом водорода и хлоридом железа [7].

Методика полуколичественного определения бензоата на бумажной хроматограмме предложена в [9]. В качестве проявляющего используют раствор пирогаллола А и фотосенсибилизатор трис-(2,2'-бипиридилат) рутения, после опрыскивания которым хроматограмму облучают лампой накаливания. Бензоат детектируется как светлое пятно на коричневом фоне. Методика позволяет определять бензоат-ион в напитках на уровне $10^{-4} – 10^{-3}$ М.

Описаны методы ВЭЖХ [10,11,12], газовой хроматографии [13]. Практически все методы предусматривают предварительное выделение БК из пищевого продукта, что ведет к значительным затратам во времени, кроме того, эти методы весьма дороги и не всегда доступны.

Таким образом, существующие методы мало пригодны для экспрессного скринингового определения бензойной кислоты, так как инструментальные – часто дороги и не всегда доступны, а более простые химические – в основном неселективны и малочувствительны.

В связи с этим представляется целесообразным разработка экспрессных, простых и в то же время достаточно чувствительных методик определения бензойной кислоты в продуктах питания.

Ранее [14] нами было показано, что сорбаты комплекса Tb (III) с бензойной кислотой и её производными на цеолите, обладающие интенсивной люминесценцией, могут быть использованы в качестве светорегуляторов и светотрансформаторов, поглощающих энергию в УФ - области спектра и преобразующих её в видимое излучение. Нам представлялось возможным использовать сенсибилизированную бензойной кислотой твердофазную люминесценцию тербия для решения обратной задачи – определения органического лиганда.

Целью данной работы являлось изучение люминесцентных свойств сорбата Tb(III) с бензойной кислотой и 2,2'- дипиридилом на силикагеле и разработка быстрой, простой и чувствительной методики определения БК в соках и напитках на их основе.

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. Растворы бензойной кислоты и 2,2' - дипиридила готовили растворением точных навесок веществ в спирте этиловом (96%).

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 согласно методике [15]. Спектры поглощения растворов реагентов регистрировали на спектрофотометре UV-2401 PC “Shimadzu” (Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Люминесценция комплекса Tb(III) с БК в растворе практически не обнаруживается, что может быть связано с присутствием тушащих молекул воды, находящихся во внутренней координационной сфере иона лантанида.

Известно [16] что, введение молекул донорно-активных веществ (ДАВ) ведет в ряде случаев к образованию разнолигандных комплексов, и вытеснению молекул воды из внутренней сферы комплекса, что соответственно уменьшает безызлучательные потери энергии возбуждения, благодаря чему интенсивность люминесценции возрастает. В качестве ДАВ были использованы 1,10–фенантролин (Фен), 2,2' - дипиридил (Дип), триоктилфосфиноксид (ТОФО), дифенилгуанидин (Дфг).

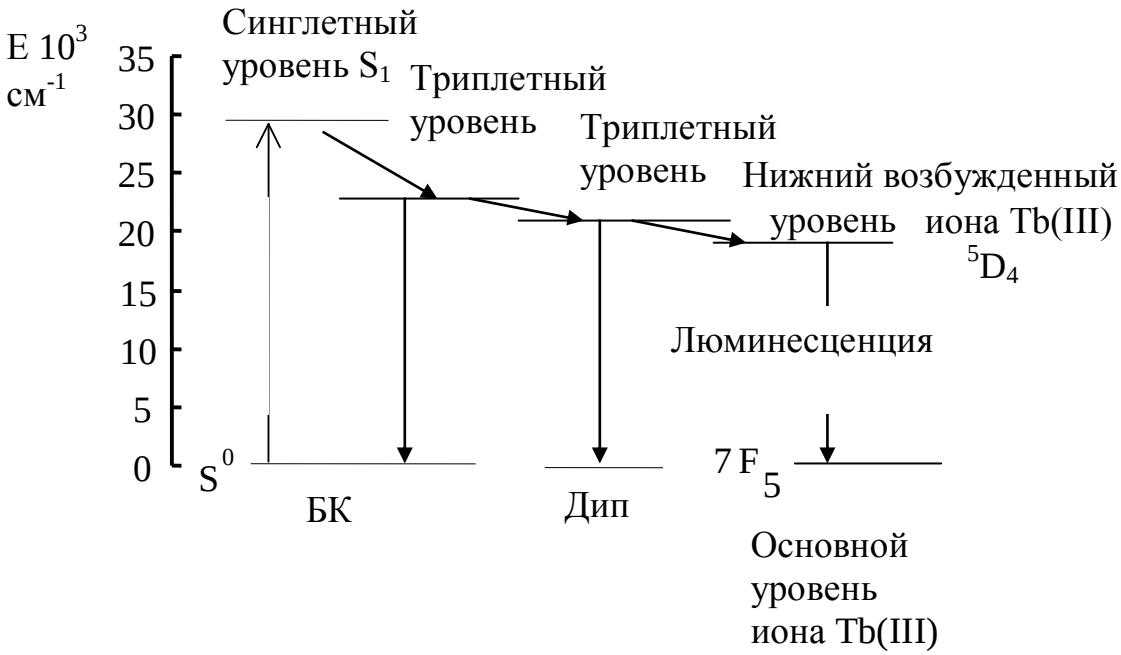


Рис. 1. Схема передачи энергии возбуждения в разнолигандном комплексе Tb(III) с бензойной кислотой и 2,2`-дипиридилом

Было найдено, что наибольшее увеличение интенсивности люминесценции достигается в присутствии Дип.

Установлено, что $I_{люм}$ комплекса значительно усиливается на сорбентах. В качестве сорбентов были использованы пенополиуретан, цеолиты (CaA, NaA), фосфат алюминия, силикагель, ксерогель. Наибольшее значение $I_{люм}$ сорбата Tb(III) достигалось при использовании в качестве твердой матрицы силикагеля L 100/160. Значительное возрастание люминесцентного сигнала иона Tb(III) в присутствии БК и Дип на несколько порядков является косвенным подтверждением того, что на силикагеле образуется комплексное соединение. Такое увеличение интенсивности люминесценции не наблюдалось бы при диффузном механизме передачи энергии на ион лантанида от органического лиганда. Увеличение $I_{люм}$ закрепленного на твердой матрице разнолигандного комплекса Tb(III) обусловлено возрастанием жесткости молекулы и уменьшением вследствие этого внутримолекулярных потерь энергии возбуждения, а также концентрированием комплекса на силикагеле.

Согласно литературным данным [16] фотолюминесцентные свойства разнолигандных комплексов зависят от взаимного расположения энергетических уровней лигандов относительно резонансного уровня лантанида. Величина энергии триплетного уровня Дип (20550 $см^{-1}$) находится ближе к значению энергии резонансного уровня иона Tb (III) (20500 $см^{-1}$), чем значение энергии триплетного уровня бензойной кислоты (21280 $см^{-1}$). Вероятно, в этом случае происходит внутримолекулярный перенос энергии с триплетного уровня БК на энергетический уровень Дип, а затем к излучательному уровню иона тербия, что вызывает снижение безызлучательных потерь энергии возбуждения и $I_{люм}$ значительно возрастает (рис.1).

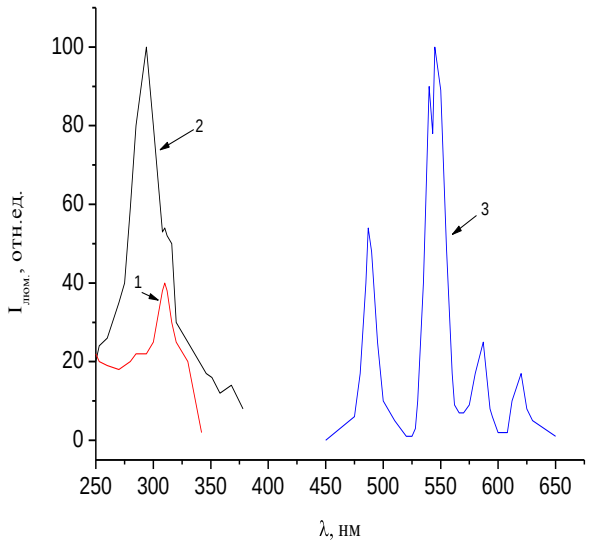


Рис. 2. Спектры возбуждения : раствора комплекса Tb(III) с бензойной кислотой и 2,2`-дипиридилом (1); сорбата комплекса на силикагеле(2) и спектр люминесценции сорбата комплекса Tb(III) с бензойной кислотой и 2,2`-дипиридилом ($л_{возб}$ = 365 нм) (3). (C_{Tb}= $1\cdot10^{-5}$ моль/л, $C_{БК}$=$4\cdot10^{-5}$ моль/л, $C_{Дип}$=$4\cdot10^{-5}$ моль/л).

Следует отметить, что спектры возбуждения сорбата комплекса смещены в более длинно-

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

волновую область (рис.2а(2)) по сравнению со спектром возбуждения раствора комплекса (рис.2а(1)). Для спектров возбуждения сорбатов характерно также их уширение по сравнению со спектрами возбуждения в растворе. Это позволяет заключить, что рассматриваемые сорбаты будут поглощать энергию возбуждения в более широком спектральном диапазоне длин волн, чем растворы комплексов, и это может способствовать более эффективной трансформации УФ излучения в видимое, что и вызывает значительное возрастание $I_{люм}$ в фазе сорбента.

В спектре люминесценции сорбата комплекса (рис.2 (б)) наблюдаются полосы, соответствующие энергетическим переходам иона Tb (III): $^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$ (487,5 нм), $^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$ (544,25 нм), $^5D_4 \rightarrow {}^7F_4$ (585 нм), $^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$ (620 нм). Наиболее интенсивной является полоса, соответствующая переходу $^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$, для которой характерно расщепление на два максимума (λ = 541,5 нм и 544,25 нм), что указывает на образование разнолигандного комплекса Tb(III) с БК и Дип.

Максимум люминесценции сорбата при сорбции из раствора наблюдается при pH 6,9–7,2, которое создавали добавлением 4 %-ного раствора уротропина (рис. 3).

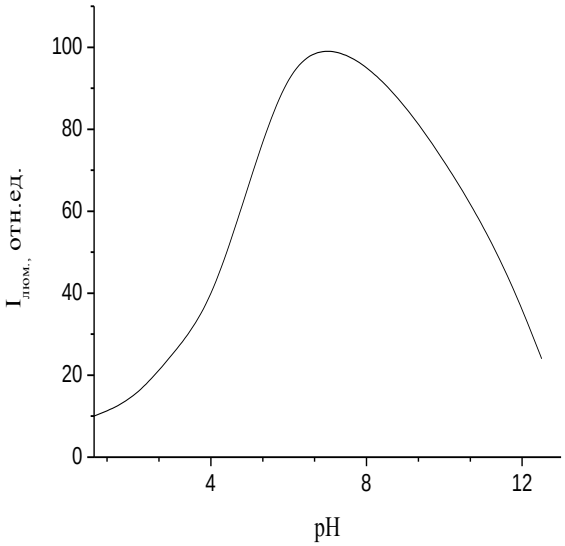


Рис. 3. Зависимость $I_{люм}$ сорбата комплекса Tb (III) с бензойной кислотой и 2,2`-дипиридилом от pH раствора (C_{Tb}= $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{БК}$=$4 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{Дип}$=$4 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

Интенсивность люминесценции сорбатов не изменяется при сорбции из водно-органических смесей и в присутствии поверхностно - активных веществ. Величина $I_{люм}$ сорбата комплекса Tb (III) зависит от концентрации иона Tb (III) и 2,2' -дипиридила в растворе, из которого ведется сорбция. Наибольшая $I_{люм}$ наблюдается при содержании Tb (III) – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, Дип – $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л. При больших содержаниях Tb (III) значительно возрастает $I_{люм}$ холостой пробы.

Интенсивность люминесценции сорбата зависит от времени сорбции. Для получения максимальной $I_{люм}$ сорбата достаточно проводить сорбцию в течении 15 минут (рис.4(1)). При дальнейшем увеличении времени сорбции $I_{люм}$ несколько уменьшается. Изучение влияния температуры и времени высушивания сорбатов показало, что наибольшая $I_{люм}$ достигается при высушивании сорбатов в течении 10 минут при температуре 80-100˚С (рис.4(2)). При высушивании в микроволновой печи время высушивания уменьшается до 3-х минут.

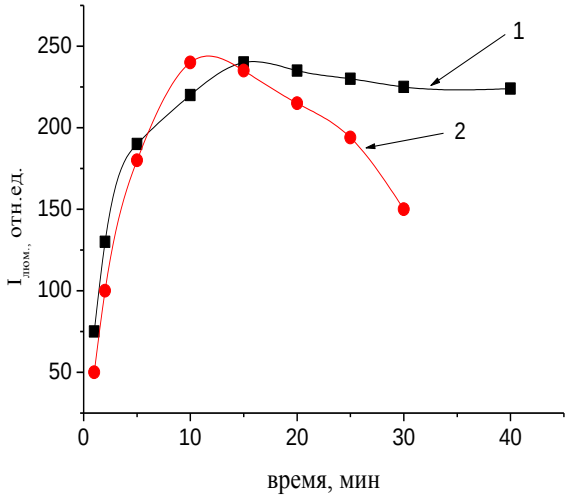


Рис. 4. Зависимость интенсивности люминесценции сорбата комплекса Tb (III) с бензойной кислотой и 2,2`-дипиридилом (1 – от времени сорбции; 2 – от времени высушивания)

Оптимальное количество силикагеля, необходимое для достижения максимальной интенсивности люминесценции сорбата при извлечении БК из 5 мл раствора составляет 70 мг (рис.5(1)). При неизменном времени контакта фаз и ростом объема раствора, из которого ведется сорбция, наблюдается уменьшение $I_{люм}$ сорбата. Для дальнейших исследований выбран объем водной фазы 5 мл (рис.5(2)). Полнота извлечения комплекса Tb(III)-БК-Дип силикагелем из раствора составила 97%.

На основании проведенных исследований разработана методика определения бензойной кислоты в соках и безалкогольных напитках.

Состав соков и безалкогольных напитков весьма разнообразен и включает различные неорганические и органические компоненты. Главное место в составе плодов фруктов занимают сахара (глюкоза, фруктоза, сахароза).

Предварительно установлено, что эти компоненты оказывают мешающее влияние на определение БК лишь при концентрациях, превышающих $5 \cdot 10^{-1}$ моль/л, снижая $I_{люм}$ на (10–20)%. Из органических кислот в зависимости от рода фруктов, преобладают: яблочная, лимонная и

аскорбиновая кислоты, которые снижают $I_{люм}$ сорбата комплекса на (20–30) % при концентрациях, превышающих $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Из неорганических катионов в соках преобладает калий, который не влияет на $I_{люм}$ сорбата. В анализируемых объектах указанные выше вещества присутствуют в меньших количествах и не мешают определению. Бензойную кислоту в соках и безалкогольных напитках на их основе определяли методом добавок.

Методика определения

Аликвотную часть анализируемой пробы (1 мл) разбавляли дистиллированной водой до 10 мл. В три пробирки помещали по 70 мг силикагеля, добавляли по 0,3 мл разбавленного анализируемого раствора, в две из них добавляли стандартный раствор бензойной кислоты в таком количестве, чтобы $I_{люм}$ пробы возросла в 2 и 3–4 раза соответственно. Затем во все три пробирки добавляли по 0,1 мл раствора хлорида тербия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, 0,2 мл 0,3% -ного раствора 2,2'- дипиридила, 0,2 мл раствора уротропина 4%-ного и дистиллированную воду до 5 мл. Сорбцию проводили при перемешивании в течение 15 минут. Затем сорбент отфильтровывали и высушивали при температуре 90°С в течение 10 минут. Интенсивность люминесценции сорбата Tb (III) измеряли при λ = 545нм ($\lambda_{возб}$ = 365нм). Параллельно готовили раствор контрольной пробы, которая содержит все компоненты, кроме бензойной кислоты. Содержание бензойной кислоты рассчитывали по формуле метода добавок:

$$C_x = \frac{I_x}{I_{x+доб} - I_x} \times C_1, \text{ мг/л}$$

где C_X – концентрация бензойной кислоты в безалкогольном напитке, мг/л;

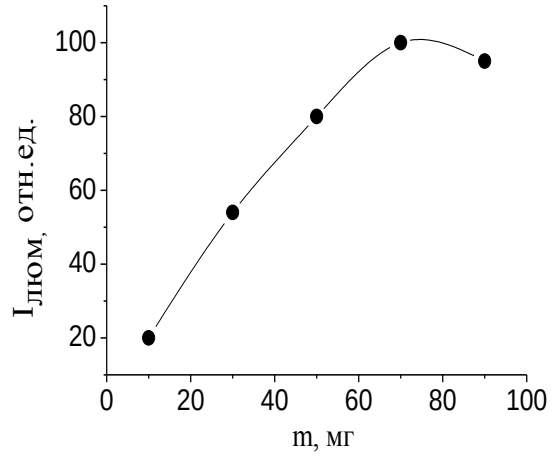
C_1 – концентрация стандартного раствора бензойной кислоты (добавка), мг/л;

I_x – интенсивность люминесценции сорбата пробы, которую анализируют;

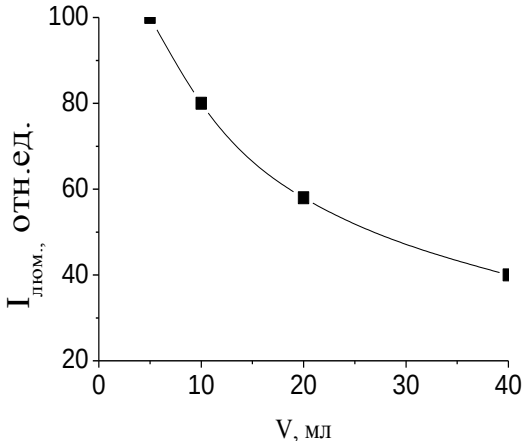
$I_{x+доб}$ – интенсивность люминесценции сорбата пробы с добавлением стандартного раствора бензойной кислоты.

Методика может быть использована также для тест–определения БК. При этом $I_{люм}$ сорбата анализируемой пробы визуально сравнивают с $I_{люм}$ сорбатов стандартных образцов с различным содержанием БК, приготовленных таким же образом, как и анализируемая проба. $I_{люм}$ при этом возбуждают светом ртутной лампы со светофильтром УФС-2 ($\lambda_{возб.}$= 365 нм) и наблюдают люминесценцию (зеленое свечение) иона Tb(III) ($\lambda_{излуч.}$= 545 нм).

Результаты определения бензойной кислоты в различных напитках приведены в таблице 1. Точность и достоверность определения проверена методом статистической обработки результатов определения. При n=5 и P=0,95 величина относительного стандартного отклонения (Sr) составляет 0,07. Результаты определения БК в яблочном соке были проверены методом “введено-найдено” (табл.2) и показали хорошую воспроизводимость и правильность.



1.



2.

Рис. 5. Зависимость $I_{люм}$ сорбата Tb (III) с бензойной кислотой и 2,2`-дипиридилом от массы сорбента (1) и объема раствора, из которого ведется сорбция (2). (C_{Tb}= $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{БК}$=$4 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{Дип}$=$4 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

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

Таблица 1. Результаты определения бензойной кислоты в безалкогольных напитках (n=5, P=0,95)

Название напитка	Производитель	Найдено, мг/л	S_r
Напиток безалкогольный «Чай зеленый»	Молдавия, ТМ «Семерка»	0,040±0,005	0,04
Напиток безалкогольный «Ананас»	Украина, Днепропетровская обл., ТМ «Биола»	0,030±0,004	0,05
Напиток слабоалкогольный «Джин с вишневым соком»	Украина, Черкасская обл., ООО «Нові напої»	0,020±0,007	0,06
Напиток безалкогольный «Спрайт»	Украина, Киевская обл., ТМ «Кока – кола»	0,070±0,002	0,04
Напиток безалкогольный «Тархун»	Украина, г. Днепропетровск «Бон Буассон»	0,020±0,006	0,07
Напиток безалкогольный «Живчик»	Украина, Хмельницкая обл. ЗАТ «Оболонь»	0,810±0,045	0,06

Таблица 2. Результаты определения бензойной кислоты в яблочном соке «Jaffa» методом «введено-найдено» (n=5, P=0,95)

Добавка, мг/л	Найдено в пробе, мг/л	Sr
-	0,060±0,015	0,07
0,050	0,111±0,012	0,06
0,100	0,160±0,008	0,05

Нижняя граница определяемых содержаний бензойной кислоты составила 0,006 мкг/мл.

Изучены люминесцентные характеристики сорбата Tb(III) с БК и Дип на силикагеле. Разработана простая, экспрессная, не требующая специальной пробоподготовки методика определения БК в соках и безалкогольных напитках, которая может быть применена в аналитической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Люк Э., Ягер М.* Консерванты в пищевой промышленности. Свойства и применение. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 1998. – 256 с.
2. *Росивал Л., Энгст Р., Соколай А.* Посторонние вещества и пищевые добавки в продуктах. – М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1982. – 264 с.
3. Отраслевой стандарт 7846–73 “Ароматические кислоты”
4. *Костюковский Я.Л., Меламед Д.Б.* Методы определения химических консервантов и антиоксидантов в пищевых продуктах // Журн.аналит.химии. – 1989. – т. 44. – С.5–44.
5. ГОСТ 28467–90. Межгосударственный стандарт. Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения бензойной кислоты М.: ФГУП “Стандартинформ”, 2005. – 5 с.
6. *Wang Z.J., Song Z.H.* Chemiluminescence determination of benzoic acid using a solid-phase verdigris reactor // Chin. Chem. Lett. – 2003. – V.14,№3. –P.283–286.
7. *Кабардин С.А., Макаров К.Л.* Тонкослойная хроматография в органической химии. – М.: Химия, 1978. – с. 48.
8. Руководство по методам анализа качества пищевых продуктов./ Под ред. Скурихина И.М., Тутельяна В. – М.: Брандерас–Медицина, 1998. – с. 330.
9. *Беляева Л.Ю., Прохорова А.Ф., Беклемишев М.К.* Определение бензоат-иона методом бумажной хроматографии с детектированием по ингибирующему действию в реакции фотосенсибилизированного автоокисления пирогаллола А // Журн.аналит.химии. – 2010. – Т.65, № 1. – С. 66–72.
10. *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.
11. *Saad B., Bari Md., Saleh M.* 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.
12. *Дулина Е., Литинская В.* Определение консервантов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Вісник Харків. нац. ун-ту. – 2005. – Вип 13(36), № 669. – С. 134–138.
13. *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.
14. *Бельтюкова С.В., Целик Е.И., Егорова А.В., Теслюк О.И.* Люминесцентные свойства цеолита, модифицированного комплексами Eu(III) и Tb(III) // Журн. прикл. спектроскопии. – 2003. – Т.70, №2. – С. 272.
15. *Паркер С.* Фотолюминесценция растворов. – М.: Мир, 1972. – 503 с.
16. *Полуэктов Н.С., Кононенко Л.И., Ефрюшина Н.П., Бельтюкова С.В.* Спектрофотометрические и люминесцентные методы определения лантанидов. – Киев: Наукова Думка, 1989.–256с.