



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **111381** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
G01N 33/02 (2006.01)
B01D 15/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 04502	(72) Винахідник(и): Бельтюкова Світлана Вадимівна (UA), Чередниченко Єлизавета Всеволодівна (UA), Теслюк Ольга Іванівна (UA), Лівенцова Олена Олегівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.04.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.11.2016	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.11.2016, Бюл.№ 21	(73) Власник(и): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA), ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. О. В. БОГАТСЬКОГО НАН УКРАЇНИ, вул. Люстдорфська дорога, 86, м. Одеса, 65080 (UA)

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГІРКИХ РЕЧОВИН У ПИВІ

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення гірких речовин у пиві включає відбір проби, взаємодію її з хлоридом Європію і вимірювання аналітичного сигналу. Пробу піддають взаємодії з хлоридом Європію в присутності уротропіну при рН 5,8-6,1, відокремлюють гіркі речовини шляхом сорбції їх на силікагелі і вимірюють інтенсивність люмінесценції Європію у сорбаті комплексу при $\lambda=612$.

UA 111381 U

Корисна модель належить до аналітичної хімії, а саме до люмінесцентного визначення гірких речовин у пиві.

Відомий спосіб визначення гірких речовин у пиві, заснований на спектрофотометричному визначенні ізогумулону в пиві. [Ермолаева Г.А. Справочник работника лаборатории пивоваренного предприятия - СПб.: Профессия, 2004. - С. 393-394].

Для аналізу 5 см³ пива та води піпеткою переносять в центрифугальну пробірку місткістю 35 см³, додають 0,5 см³ соляної кислоти з концентрацією 6 моль/дм³, а далі - 20 см³ ізооктану та 2-3 скляних кульок. Закривають пробірку пластмасовою пробкою, попередньо вклав туди поліпропіленовий вкладиш для утримання в ній розчину. Перемішують, струшуючи 15 хв при 20±1 °С в качалці. Вміст пробірки центрифугують 3 хвилини при 3000 хв⁻¹ та вимірюють оптичну щільність отриманого екстракту (A_{275}) в кварцевій кюветі товщиною 10 мм при 275 нм, використовуючи ізооктан в кюветі порівняння. Гіркоту розраховують по формулі: $BU=50 \cdot A_{275}$ (A_{275} - оптична густина екстракту при $\lambda=275$ нм).

До недоліків способу слід віднести необхідність використання органічного розчинника - ізооктану, а також можливість спотворення результатів внаслідок вмісту в пиві таких компонентів як n-гептил-1,4-оксibenзоат, сахарин, саліцилова і сорбінова кислоти, які так само, як і гіркі речовини, екстрагуються ізооктаном і спотворюють показник оптичної щільності при $\lambda=275$ нм.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб люмінесцентного визначення гіркоти пива по сенсibilізованій люмінесценції іона Eu(III) [Christensen, J., Ladefoged, A.M. and Nørgaard, L. Rapid Determination of Bitterness in Beer Using Fluorescence Spectroscopy and Chemometrics // Jnl. Institute Brewing. - 2005. - Vol. 111,1. - P. 3-10.].

Спосіб передбачає змішування 0,3 мл розчину хлориду європію (III) 0,05 моль/л та 2,7 мл дегазованого пива, вимірювання інтенсивності люмінесценції іона Eu(III) через 30 с після змішування розчинів. Уповільнену люмінесценцію збуджують при $\lambda=275$ нм, час затримки складає 0,10 мс з часом спрацювання 2,0 мс та повним часом розпаду 0,1 с. Спектри випромінювання реєструють в області 575-715 нм, з максимумом люмінесценції при 615 нм. Вміст гірких речовин розраховують шляхом порівняння спектрів з традиційним визначенням гіркоти з використанням моделей регресії методом дробових найменших квадратів у MATLAB 6.5.

Даний спосіб вибрано прототипом.

Прототип і спосіб, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- відбір проби;
- взаємодія проби з хлоридом європію;
- вимірювання аналітичного сигналу.

Але у способі за прототипом необхідна наявність спектрофотометра, що дозволяє проводити реєстрацію $I_{\text{люм}}$ з затримкою у часі та збудження люмінесценції при $\lambda=275$ нм, тобто наявність монохроматора, що ускладнює вимірювання інтенсивності люмінесценції. Крім того, $I_{\text{люм}}$ Eu(III) в присутності різних сортів пива реєструють без стабілізації рН розчинів. В той же час різні сорти пива можуть мати різну кислотність, що буде впливати на $I_{\text{люм}}$ Eu(III) та відповідно спотворювати результати визначення.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб кількісного визначення гірких речовин у пиві, в якому за рахунок використання твердофазної люмінесценції європію (III) на силікагелі забезпечити спрощення апаратурного оформлення аналізу.

Поставлена задача вирішується в способі кількісного визначення гірких речовин у пиві, що включає відбір проби, взаємодію її з хлоридом європію і вимірювання аналітичного сигналу, тим, що на відміну від прототипу, пробу піддають взаємодії з хлоридом європію в присутності уротропіну при рН 5,8-6,1, відокремлюють гіркі речовини шляхом сорбції їх на силікагелі і вимірюють інтенсивність європію у сорбаті комплексу при $\lambda=612$ нм.

Новим в корисній моделі, що заявляється, є використання реакції взаємодії гірких речовин з іонами Eu(III), яка проходить у фазі сорбенту - силікагелі, з метою відділення гірких речовин із розчину і підсилення сенсibilізованої твердофазної люмінесценції іона Eu(III) у присутності уротропіну при рН 5,8-6,1.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю заявлених ознак і досягненням технічного результату складається в наступному.

Спрощення апаратурного оформлення, зниження часу проведення аналізу, зниження межі виявлення стало можливим завдяки наступним прийомам:

1. Застосуванню сорбції комплексу іонів Eu(III) з гіркими речовинами на силікагелі.

Застосування такого прийому дозволяє поєднувати стадію попереднього відокремлення гірких речовин з отриманням сорбату комплексу Eu(III), що володіє люмінесцентними ознаками

в твердій фазі сорбенту, що дозволяє проводити визначення гірких речовин із спрощеним апаратним оформленням способу визначення.

2. Застосування визначення гірких речовин в фазі сорбенту. Застосування такого прийому дозволяє виключити приготування розчинів для градувального графіка для кожного визначення, що скорочує час проведення аналізу.

3. Застосування сорбції гірких речовин на силікагелі веде до дегідратації комплексів у твердій фазі і, відповідно, зменшенню безвипромінювальних витрат енергії збудження, що сприяє збільшенню інтенсивності люмінесценції сорбату і зниженню межі визначення гірких речовин.

4. Використання уротропіну як буфера дозволило нівелювати різну кислотність різних зразків пива та виміряти $I_{\text{люм.}}$ сорбатів, отриманих із розчинів з однаковим значенням кислотності, що виключає похибки визначення, пов'язані з різною кислотністю зразків, що аналізуються.

Сорбат комплексу Eu(III) з гіркими речовинами володіє люмінесцентними властивостями в інтервалі значень рН від 3,0-9,0, максимум люмінесценції спостерігається при рН 5,8-6,1 (Фіг. 1). Для створення цього рН розчину, з якого ведеться сорбція, використовували розчин уротропіну (0,1 мл 40 %-го). Інтенсивність люмінесценції європію у сорбаті комплексу оптимальна при вмісті іонів європію 0,01 моль/л. Найбільша люмінесценція сорбату виявляється через 15 хв. сорбції при перемішуванні (Фіг. 2). Інтенсивність люмінесценції сорбату залежить від температури і часу його висушування. Оптимальним є висушування сорбату при температурі 90 °С протягом 10 хв. (Фіг. 3). При висушуванні силікагелю в мікрохвильовій печі час висушування зменшується до 3-х хв., але при цьому зменшується й $I_{\text{люм.}}$ сорбату.

Визначення гірких речовин проводили в різних видах пива (темне пиво "Перша приватна броварня", "Staropramen" та світле пиво "Перша приватна броварня").

Спосіб ілюструється графічними матеріалами, де:

фіг. 1 - залежність $I_{\text{люм.}}$ сорбату комплексу Eu(III) з гіркими речовинами від рН розчину;

фіг. 2 - залежність $I_{\text{люм.}}$ сорбату комплексу Eu(III) з гіркими речовинами від часу сорбції;

фіг. 3 - залежність $I_{\text{люм.}}$ сорбату комплексу Eu(III) з гіркими речовинами від температури висушування.

Приклад 1

Для аналізу взято темне пиво "Перша приватна броварня". Перед аналізом зразок пива розбавляли в 5 разів водою. В чотири пробірки поміщали по 0,5 мл розбавленого пива, в три з них додавали стандартний розчин α -гірких кислот в такій кількості, щоб $I_{\text{люм.}}$ проби зросла в 2 і 3-4 рази відповідно. Потім в усі пробірки додали по 0,1 мл хлориду європію 0,08 моль/л, 0,1 мл розчину уротропіну 40 %-го, дистильовану воду до 1 мл та 70 мг силікагелю. Сорбцію проводили перемішуючи 15 хв та висушували сорбати при температурі 90 °С протягом 10 хв. Інтенсивність люмінесценції Eu(III) вимірювали при $\lambda=612$ нм.

Вміст гірких речовин в пробі розраховували методом добавок за формулою:

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

де C_x - концентрація гірких речовин у пробі;

C_1 - концентрація стандарту α -гірких кислот, мг/мл;

I_x - інтенсивність люмінесценції сорбату, який аналізують;

$I_{x+\text{доб.}}$ - інтенсивність люмінесценції сорбату з добавкою стандартного розчину α -гірких кислот.

Вміст гірких речовин в пиві розраховували за формулою:

$$X = \frac{C \cdot 5}{a}, \text{ мг/мл}$$

де C - концентрація гірких речовин в пробі, знайдена методом добавок, мг/мл;

a - об'єм пива, взятий для аналізу, мл;

5 - коефіцієнт розбавлення пива.

Результати визначення гірких речовин наведено у таблиці. Приклади 2 та 3 здійснювали аналогічно прикладу 1, але у інших зразках пива.

Точність і достовірність визначення перевірена шляхом статистичної обробки результатів визначення. При $n=5$, $P=0,95$ величина відносного стандартного відхилення складає 0,06-0,07 %.

Таблиця

Результати визначення гірких речовин у пиві ($n = 5$, $P = 0,95$)

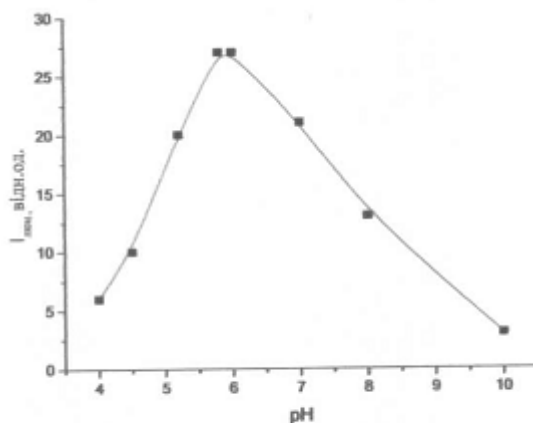
№ зразка	Пиво (вид, виробник)	Знайдено гірких речовин, мг/мл	S_r , %
1	Темне ("Перша приватна броварня")	$0,442 \pm 0,027$	0,06
2	Темне ("Staropramen")	$0,560 \pm 0,032$	0,06
3	Світле ("Перша приватна броварня")	$0,451 \pm 0,031$	0,07

5

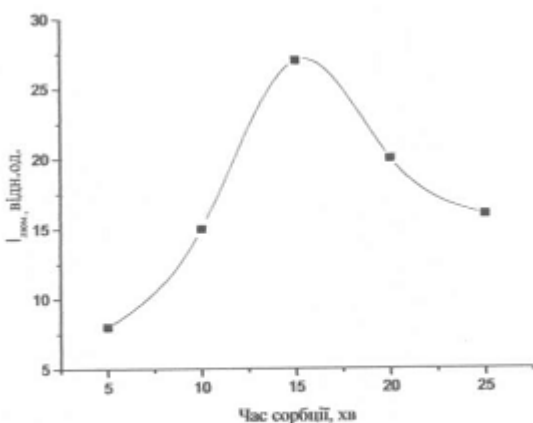
ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб кількісного визначення гірких речовин у пиві, що включає відбір проби, взаємодію її з хлоридом Європію і вимірювання аналітичного сигналу, який **відрізняється** тим, що пробу піддають взаємодії з хлоридом Європію в присутності уротропіну при рН 5,8-6,1, відокремлюють гіркі речовини шляхом сорбції їх на силікагелі і вимірюють інтенсивність люмінесценції Європію у сорбаті комплексу при $\lambda = 612$.

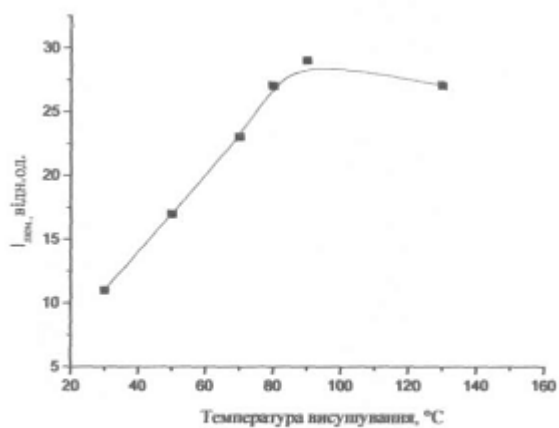
10



Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601