



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 3802

(13) U

(51) 7 G01N33/14

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГАЛОВОЇ КИСЛОТИ

1

2

(21) 2004031987

(22) 18.03.2004

(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004 р.

(72) Бельтюкова Світлана Вадимівна, Теслюк Ольга Іванівна, Лівенцова Олена Олегівна

(73) ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ.
О.В.БОГАТСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
НАУК УКРАЇНИ, ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКА-
ДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Спосіб кількісного визначення галової кислоти, що включає відбір проби, виділення реагенту, який містить ортодифенольне групування, взаємодію виділеного реагенту з проявним розчином та вимірювання інтенсивності флуоресценції сорбату тербію, який **відрізняється** тим, що з проби виділяють галову кислоту шляхом тонкошарової хроматографії, а виділену таким чином галову кислоту піддають взаємодії з розчином хлориду тербію в присутності $1 \cdot 10^{-3}$ - $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л триоктилфосфіноксиду та уротропіну при рН = 6,8-7,2.

Корисна модель відноситься до аналізу напоїв на вміст галової кислоти (ГК).

Відомий спосіб визначення галової кислоти у харчових продуктах за допомогою редоксиметричного методу. (Див. Н.А.Новикова, С.И.Нафталиев, Я.И.Коренман. Редоксиметрическое определение гидроксибензонных кислот в пищевых продуктах. "Анализ объектов окружающей среды". Тез. докл. 1998. - Краснодар. - С. 353).

Визначення проводять наступним чином: після пробопідготовки проводять екстракційне концентрування трет-бутиловим спиртом в присутності висолювача (сульфату літію). Детектують галову кислоту у концентраті фотометричним титруванням по окислювально-відновлювальному механізму. Межа визначення галової кислоти в цьому випадку становить 0,1 - 0,2 мг/л. Але відомий спосіб має невисоку чутливість визначення галової кислоти, крім того, органічні речовини, які присутні в розчині, можуть вступати в реакцію з титрантом, або викликати побічні реакції.

Відомий також твердофазний спектрофотометричний спосіб визначення галової кислоти у харчових продуктах (див. Сборник тезисов докладов "Тест-методы химического анализа". Всероссийский симпозиум. Москва. 2001. - С. 11). Спосіб передбачає спочатку хімічну обробку галової кислоти для переведення її у кольорову азосполуку. Вміст кислоти визначають по інтенсивності коричневого кольору пігулок пенополіуретану за допомогою портативних мініфотометрів. Межа визначення галової кислоти становить 1 -

50мкг/мл.

Цей спосіб також має невисоку чутливість визначення.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб, який передбачає визначення похідного галової кислоти - пропілгалата в харчових і косметичних маслах, в яких він застосовується як консервант (див. Savgario Panadero, Agustina Goinez-Hens and Dolores Perez-Bendito. Analyst, 1995, V. 120, P. 125-128).

Визначення ґсноване на використанні кінетичної реакції між пропілгалатом та іонами тербію (III) з реєстрацією інтенсивності люмінесценції тербію (III).

Спосіб здійснюють таким чином: 2г матеріалу, що аналізується, розчиняють у 25мл гексану, з якого пропілгалат здобувають 10-ма мл 1%-го ацетату амонію.

Другий розчин містить хлорид тербію ($1 \cdot 10^{-3}$ моль/л), додецилсульфат натрію ($6 \cdot 10^{-3}$ моль/л), тритон X-100 ($2 \cdot 10^{-3}$ моль/л) та гексаміновий буфер ($7 \cdot 10^{-2}$ моль/л).

В посудину, в якій здійснюють змішування проби і розчину реагентів вприскують по 0,15мл кожного розчину і записують інтенсивність розгортаючої у часі люмінесценції при $\lambda_{\text{лѸм.}} = 545\text{нм}$ і $\lambda_{\text{збѸдж.}} = 310\text{нм}$. Вміст пропілгалату визначають за градувальним графіком. Для побудови градувального графіка готують серію стандартних розчинів пропілгалату з концентрацією 0,08-3,0мкг/мл. Кожний із приготѸвлених розчинів під-

(13) U

(11) 3802

(19) UA

дають взаємодії з розчином реагентів і записують $I_{\text{люм. Tb(III)}}$. Отриманні результати обробляють за допомогою мікрокомп'ютера. Межа визначення - 0,02 мкг/мл.

Даний спосіб обрано прототипом.

Прототип співпадає з корисною моделлю, що заявляється, в наявності спільних ознак:

- відбір проби;
- виділення реагенту, який містить ортодифенольне групування;
- взаємодія виділеного реагенту з проявляючим розчином;
- вимірювання інтенсивності флуоресценції тербію.

Але цей спосіб не має достатньої вибірності і точності. Це пояснюється наступним.

1. При визначенні пропілгалату в харчових оліях можливе накладення на $I_{\text{люм. Tb(III)}}$ інтенсивності люмінесценції комплексу Tb(III) з галовою кислотою.

Етери галової кислоти (етил-, пропіл-, гексилгалати) застосовуються для консервування продуктів рослинного та тваринного походження, зокрема, жирів, як консерванти. Антиоксиданти блокують ланцюгову реакцію автоокислення ряду речовин, утворюючи з ними стабільні комплекси. Але, з часом галати втрачають свої антиоксидантні властивості через те, що гідролізуються з утворенням галової кислоти і відповідного спирту. Галова кислота також є сенсibilізатор люмінесценції іону тербію (III), але інтенсивність люмінесценції в порівнянні з галатами, буде іншою. Внаслідок цього можна отримати невірні результати.

2. При визначенні пропілгалату в косметичних оліях не враховується те, що ці олії, як правило, містять добавки детергентів, як катіонні і нейтральні поверхнево-активні речовини. Наявність цих речовин може викликати сенсibilізацію люмінесценції комплексу Tb(III) з пропілгалатом, що також може призвести до невірних результатів.

3. Цей спосіб не придатний для визначення галової кислоти у винах, чаї через те, що в цих продуктах міститься велика кількість різних фенольних сполук, які теж можуть сенсibilізувати $I_{\text{люм. Tb(III)}}$.

В основу корисної моделі поставлено задачу, розробити спосіб кількісного визначення галової кислоти, в якому за рахунок виділення галової кислоти з аналізованої проби шляхом тонкошарової хроматографії та взаємодії її з хлоридом тербію в присутності інших проявляючих реагентів, забезпечити підвищення чутливості і селективності способу.

Поставлена задача вирішена в способі кількісного визначення галової кислоти, що передбачає відбір проби, виділення реагенту, який містить ортодифенольне групування, взаємодію виділеного реагенту з проявляючим розчином та вимірювання інтенсивності флуоресценції сорбата тербія тим, що з проби виділяють галову кислоту шляхом тонкошарової хроматографії, а виділену таким чином

галову кислоту піддають взаємодії з розчином хлориду тербію в присутності триоктилфосфіноксиду (ТОФО) та уротропіну при $\text{pH}=6,8-7,2$.

Новим способом, що заявляється, є те, що:

- з проби виділяють галову кислоту, а не пропілгалат, як це передбачено в прототипі;
- галову кислоту виділяють шляхом тонкошарової хроматографії;
- галову кислоту піддають взаємодії з розчином хлориду тербію в присутності інших проявляючих реагентів, а саме, триоктилфосфіноксиду і уротропіну;
- умови реакції взаємодії - $\text{pH}=6,8-7,2$.

Наведені відмінності дозволяють підвищити селективність і чутливість визначення галової кислоти.

Це можна пояснити наступним.

Підвищення селективності і чутливості стало можливим завдяки виділенню галової кислоти шляхом тонкошарової хроматографії. Кожна речовина має свою індивідуальну рухомість (R_f) на хроматографічній пластині.

Використання розчину хлориду тербію, як проявляючого реагента, в присутності триоктилфосфіноксиду та уротропіну обумовлює появу на хроматографічній пластині сенсibilізованої люмінесценції іону Tb (III) в присутності галової кислоти, яка з'являється на твердій матриці внаслідок внутрішньомолекулярної передачі енергії збудження від галової кислоти до іону лантаніду. ТОФО дозволяє підвищити інтенсивність люмінесценції в 4,5 рази.

Галова кислота має в ультрафіолетовій області спектру смуги поглинання, що зумовлює ефективне поглинання енергії збудження. Остання передається з триплетного рівня ліганду ($E=21600\text{см}^{-1}$) на енергетичний рівень Tb (III) 20500см^{-1} , що приводить до значного зростання $I_{\text{люм.}}$ останнього. Передача енергії збудження відбувається і в твердій фазі, тому на хроматографічній пластинці спостерігається інтенсивна люмінесценція іона Tb (III), пропорційна кількості ГК.

Використання донорно-активної домішки - триоктилфосфіноксиду сприяє дегідратації комплексу, який утворюється, а також підвищує жорсткість структури, яка утворюється. За рахунок цього відбувається зниження втрат енергії збудження.

Окрім того, реєстрація інтенсивності люмінесценції сорбата тербію на поверхні твердої матриці - хроматографічної пластині, дозволяє підвищити жорсткість комплексу, який утворюється. Це призводить до зменшення дезактивації енергії збудження, і, як наслідок, до підвищення чутливості визначення. Чутливість визначення цим способом складає 0,001 мкг/мл, що у 20 разів вище, ніж в прототипі. Інтенсивність люмінесценції Tb (III) на хроматограмі залежить від кількості ТОФО у проявляючому розчині. Найбільша $I_{\text{люм. Tb (III)}}$ спостерігається при концентрації ТОФО $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л (табл.).

Таблиця

Залежність $I_{\text{люм. Tb (III)}}$ на хроматограмі від кількості ТОФО у проявляючому розчині.

Продовження таблиці

Стофо моль/л	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
$I_{\text{люм.}} \%$	42	67	100	97	95

Максимальна інтенсивність люмінесценції тербію на пластинці спостерігається при рН проявляючого розчину 6,8-7,2 (див. графік). В пропонуємому способі для створення рН розчину використовували уротропін 0,1мл 4%-го розчину

Приклад.

Проводили визначення галової кислоти методом "введено-найдено". Для хроматографування використовували пластинки для тонкошарової хроматографії марки Silufo1 UV254.

20мкл аналізованого вина наносили мікрошприцем на лінію старту на пластинку розміром 2,5 x 7,5см. Параллельно на пластинку наносять стандартний розчин ГК. В якості стандартного розчину використовували розчин галової кислоти з концентрацією $5 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л у водно-етанольному розчині (1:1). Пластинку висушували. Після висушування пластинку занурювали у хроматографічну камеру у рухому фазу (0,3см). У якості рухомої фази використовували суміш розчинників бензол: метанол: оцтова кислота у співвідношенні 10:5:1. Коли фронт розчинників досягнув висоти 7,2см пластинку виймали з хроматографічної камери, відмічали положення фронту розчинників. Пластинку висушували та обробляли проявляючим розчином, який; готували таким чином: у пробірку вміщували 1мл 0,01 моль/л розчину хлориду тербію, 1мл 0,01 моль/л етанольного розчину ТОФО, 0,1мл 4%-го розчину уротропіну, доводили об'єм до 10мл дистильованою водою. Після нанесення проявляючого розчину пластинку сушили і іденти-

фікували галову кислоту згідно положенню плями на хроматографічній пластинці у світлі ультрафіолетової лампи з $\lambda_{\text{збудж.}} = 365\text{nm}$. Обчислювали значення R_f для аналізованої речовини. Рухомість галової кислоти становила 0,53. Кількісне визначення галової кислоти проводили використовуючи стандартні розчини галової кислоти з точним вмістом останньої по градувальному графіку. Градувальний графік будували таким чином: на пластинку наносили різні кількості стандартного розчину галової кислоти і проводили хроматографування і проявлення хроматограми, як це описано вище. Після цього з пластинки вирізали плями з галовою кислотою, вміщували в кювету для твердих зразків і вимірювали інтенсивність люмінесценції при $\lambda = 545\text{nm}$. За отриманими даними $I_{\text{люм.}}$ T_b (III) - концентрація галової кислоти будували градувальний графік, по котрому визначали вміст галової кислоти в аналізованій пробі.

Приклад 2.

Проводили визначення галової кислоти аналогічно тому, як описано в Прикладі 1. Введено в пробу вина 0,1мкг/мл галової кислоти, знайдено 0,095мкг/мл. Помилка $Sr=0,08$.

Приклад 3

Проводили визначення галової кислоти аналогічно тому, як описано в Прикладі 1. Введено в пробу вина 0,2мкг/мл галової кислоти, знайдено 0,198мкг/мл. Помилка $Sr=0,06$.

