



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 51185

(13) A

(51) 6 G01N33/14

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДВидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ДЕГІДРООЦТОВОЇ КИСЛОТИ У ВИНАХ

1

2

(21) 2002010690

(22) 28 01 2002

(24) 15 11 2002

(46) 15 11 2002, Бюл. №11, 2002р

(72) Бельтюкова Світлана Вадимівна, Теслюк Ольга Іванівна, Литвина Тетяна Михайлівна, Лівенцова Олена Олегівна, Єгорова Алла Володимирівна  
(73) ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. О.В. БОГАТСЬКОГО НАН УКРАЇНИ, ОДЕСЬКА ДЕРЖАВНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ(57) Спосіб визначення дегідрооцтової кислоти у винах, що включає відбір проби і взаємодію її з хімічним реагентом, який відрізняється тим, що пробу піддають ультразвуковій обробці протягом 2 - 3 хвилин, як реагент використовують розчин хлориду тербію, який містить  $1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-2}$  моль іонів тербію, а визначення проводять в присутності неіоногенної поверхнево-активної речовини Твін-80

Винахід відноситься до аналізу вин на наявність в них антисептиків, конкретно - дегідрооцтової кислоти

Відомо спосіб визначення дегідрооцтової кислоти у винах, який оснований на виділенні кислоти за допомогою екстракції з підкисленого розчину вина сумішшю рівних частин діетилового і петролейного етера. Після випарювання розчинника екстракт розчиняють в невеликій кількості етанолу і виділяють дегідрооцтову кислоту на пластинці для тонкошарової хроматографії. Далі кислоту ідентифікують в ультрафіолетовому світлі (див. Сборник международных методов анализа и оценки вин и сусел, М., "Пищевая промышленность", 1993, с.с. 300 - 301).

Визначення здійснюють слідуючим чином: 100мл вина підкислюють 10мл 20%-го розчину сірчаної кислоти і проводять три рази екстракцію (по 50мл) сумішшю діетилового і петролейного етерів 1 : 1. Етерні фракції об'єднують, промивають 50мл води, додають натрій сірчано-кислий і випарюють при 30 - 35°C. Сухий залишок розчиняють в 1мл етанолу.

Наносять 20мл цього розчину на лінію у вигляді смуги шириною 2см або 10мкл у вигляді круглої плями на хроматографічну пластинку. Пластинку готують слідуючим чином: 10г порошку поліаміду з флуоресцентним індикатором (наприклад поліамід ДС II UV 254 de Mechcrey-Nagel) сильно струшують з 60мл метанолу. При цьому додають 10мл води і 10г силікагелю з флуоресцентним індикатором (наприклад, Kieselgel GF 254 de Merck). Цю суміш наносять на 5 пластин (20 x

20см) шаром 0,25мм. Сушать при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, а після цього в шафі при 70°C протягом 10 хвилин.

Як еталон для порівняння на пластину наносять 5мкл 0,2%-го спиртового розчину дегідрооцтової кислоти. Пластину опускають у рухому фазу - суміш розчинників бензол, ацетон, оцтова кислота при співвідношенні 80 : 3 : 1. Після хроматографування пластини сушать при кімнатній температурі. Дегідрооцтова кислота, яка присутня у вині, ідентифікується під ультрафіолетовою лампою при 254nm.

Даний спосіб обрано прототипом.

Спільним у прототипа і винаходу, що заявляється, є

відбір проби,

взаємодія проби з реагентом.

Але спосіб по прототипу є якісним і досить тривалим, тому що потребує попереднього екстракційного виділення дегідрооцтової кислоти і наступного хроматографічного відокремлення її. Крім того, необхідно готувати спеціальні пластини для хроматографування і використовувати для екстракційного і хроматографічного виділення достатньо великої кількості токсичних органічних реагентів (діетиловий і петролейний етер, ацетон).

Все це ускладнює виконання аналізу.

В основу винаходу поставлено задачу створити спосіб, в якому, за рахунок ультразвукової обробки проби і заміни хімічних реагентів, забезпечити спрощення аналізу, скорочення тривалості способу, підвищення точності та зниження граници визначення.

(13) A

(11) 51185

(19) UA

Поставлена задача вирішена в способі визначення дегідрооцтової кислоти у винах, що включає відбір проби і взаємодію її з хімічним реагентом тим, що на відміну від прототипу пробу піддають ультразвуковій обробці протягом 2 - 3 хвилин, як хімічний реагент використовують розчин хлориду тербію, а визначення проводять в присутності Твін-80

Ультразвукова обробка інша сприяє руйнуванню комплексних сполук дегідрооцтової кислоти з різними катіонами, які знаходяться у вині, що призводить до виділення дегідрооцтової кислоти у цільному стані Крім того, це дозволяє скоротити стадію попереднього виділення дегідрооцтової кислоти шляхом екстракції і проводити хроматографування безпосередньо проби вина

Використання хлориду тербію як проявляючого хімічного реагента та проведення в присутності Твін-80 обумовлено появою на хроматографічній пластині сенсibilізованої люмінесценції іону лантаніду в присутності дегідрооцтової кислоти, яка заявляється внаслідок внутрішньомолекулярної передачі енергії збудження від дегідрооцтової кислоти до іону Tb(III) Твін-80 дозволяє підсилити  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) в 5 разів

Іони Tb(III) в розчинах простих солей мають люмінесценцію, обумовлену переходами електронів усередині 4f-оболонки Але інтенсивність їх невелика, тому що сили осциляторів цих переходів малі і не перебільшують 10 Органічні ліганди, поглинаючи енергію збудження, можуть передавати її на іони лантанідів, посилюючи її на 3 - 4 порядки величини

Дегідрооцтова кислота має в ультрафіолетовій області спектра три смуги поглинання з максимумами при 205, 227 і 312нм, що обумовлює ефективне поглинання енергії збудження Остання передається з триплетного рівня ліганда ( $E = 21970\text{см}^{-1}$ ) на енергетичний рівень Tb ( $E = 20500\text{см}^{-1}$ ), що призводить до значного збільшення інтенсивності люмінесценції Tb Передача енергії збудження відбувається і в твердій фазі, тому на хроматографічній пластині виявляється інтенсивна люмінесценція іону Tb(III), яка пропорційна кількості дегідрооцтової кислоти у розчині і, відповідно, на пластині

Сенсibilізація люмінесценції іонів Tb(III) органічними лігандами на твердих матрицях описано раніше (див Бельтюкова С В и др Журнал прикладной спектроскопии, 2001, т 68, № 4, с с 459 - 461) Як сорбент використовували цеоліт типу CaA (NaA) Використання цеоліту збільшує тривалість визначення, тому що потребує попередньої підготовки і модифікації сорбента Це займає ~10 годин Окрім довготривалості описаний спосіб трудомісткий

Використання неіоногенної поверхневоактивної речовини (ПАР) Твін-80 сприяє дегідратації комплексу, який утворюється і, як наслідок, знижуються безвипромінювальні втрати енергії збудження, що призводить до збільшення інтенсивності люмінесценції іону Tb(III)

Поверхневоактивна речовина підібрана експериментально

Дослідження деяких ПАР і триоктилфосфіноксиду (ТОФО) на  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) на хроматографічній

пластині показало, що найбільша  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) спостерігається в присутності Твін-80 (див Табл 1)

Таблица 1

Вплив ПАР і ТОФО на  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) в присутності дегідрооцтової кислоти на хроматограмі

ПАР, ТОФО	$J_{\text{люм}}$
Твін-80	100
ТОФО	70
Цетилпіридиній хлорид	72
Цетилтриметиламоній бромид	65
Тритон-X-100	50
Лаурилсульфат	20

Експериментально також підібрані режими проведення аналізу Зокрема встановлено, що  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) залежить від концентрації іону Tb(III) в проявляючому розчині (див Табл 2)

Таблица 2

Залежність  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) на хроматограмі від концентрації металу (моль/л)

$C_{\text{Me}}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
$J_{\text{люм}}$	2	20	100	100

Найбільша  $J_{\text{люм}}$  спостерігається при концентрації Tb  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л

$J_{\text{люм}}$  сорбату залежить також від кількості ПАР в проявляючому розчині Найбільша  $J_{\text{люм}}$  спостерігається при концентрації Твін-80 -  $3 \cdot 10^{-4}$  (Табл 3)

Таблица 3

Залежність  $J_{\text{люм}}$  від концентрації Твін-80 (моль/л)

Концентрація	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$
Твін-80					
$J_{\text{люм}}$	12	55	100	100	20

Для хроматографування важливим фактором є склад рухомої фази Наприклад, при використанні суміші бензол - метанол у співвідношенні 1 : 1 дегідрооцтова кислота залишається на стартовій лінії Експериментально заявником встановлено, що оптимальною є система розчинників бензол - ацетон - оцтова кислота при співвідношенні 100 : 50 : 1 Рухомість ( $R_f$ ) дегідрооцтової кислоти у цих умовах складає 0,62

Тривалість ультразвукової обробки проби вина також підібрана експериментально на підставі отриманих даних, які наведені в Табл 4

Таблица 4

Вплив часу ультразвукової обробки на  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) на пластинці

Тривалість обробки (хвилин)	1	2	3
Інтенсивність люмінесценції ( $J_{\text{люм}}$ )	80	100	100

Приклад. Пробу вина марки Ркацителі (20мл) обробляли ультразвуком на ультразвуковому диспергаторі марки УЗДН-А протягом 2,5 хвилин з частотою коливання 22кГц та інтенсивністю  $6\text{Вт/см}^2$ .

Далі проводили хроматографування. Для цього використовували пластинки для тонкошарової хроматографії марки Silufol UV254. 20мл вина після ультразвукової обробки наносять мікрошприцем на лінію старта на пластинку  $2,5 \times 7,5\text{см}$ . Паралельно на пластинку наносять стандартний розчин дегідрооцтової кислоти, який містить  $5 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л дегідрооцтової кислоти, у водно-етанольному розчині, при співвідношенні вода/етанол = 2/1. Пластину підсушують.

Після висушування пластинку вміщують в хроматографічну камеру в рухому фазу (10,3см). Як рухому фазу використовують суміш бензол/ацетон/оцтова кислота в співвідношенні 100/50/1. Коли фронт розчинника досягнув висоти 7,2мм, пластинку виймають з камери і позначають положення фронту розчинника.

Одержану хроматограму висушують і рівномірно обробляють проявником-розчином хлориду тербію ( $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л) і Твін-80 ( $3 \cdot 10^{-4}$  моль/л).

Люмінесценцію Tb(III) на хроматограмах збуджують опромінюванням ртутно-кварцевої лампи СВД-120А зі світлофільтром УФС-2. Візуально порівнюють  $J_{\text{люм}}$  проби і стандарту.

Кількісне визначення дегідрооцтової кислоти проводять по калібрувальному графіку, який будують наступним чином. На пластинки наносять стандартний розчин дегідрооцтової кислоти, після чого проводять хроматографування і проявлення хроматограми, як це описано вище. Далі у кожній

пластинки вирізають пляму дегідрооцтової кислоти і вміщують в кювету для твердих зразків. Інтенсивність люмінесценції Tb(III) вимірюють при  $\lambda = 545\text{нм}$  на спектрометрі СДЛ-1. На підставі отриманих даних  $J_{\text{люм}}$  Tb(III) - концентрація дегідрооцтової кислоти будують калібрувальний графік, по якому визначають вміст дегідрооцтової кислоти в аналізованій пробі.

Чутливість визначення дегідрооцтової кислоти у вині визначена на модельних розчинах, з використанням стандартних розчинів кислоти і складає  $5\text{мкг/мл}$ .

Точність і вірогідність визначення перевірено шляхом статистичної обробки результатів визначення. При  $n = 5$ ,  $P = 0,95$  величина середнього статистичного відхилення  $Sr$  складає 0,08 - 0,12.

Результати визначення були також перевірені методом "введено-знайдено" (див. Табл. 5).

Таблиця 5

Результати визначення дегідрооцтової кислоти у вині методом "введено-знайдено" (мкг/мл,  $n = 5$ ,  $P = 0,95$ )

Введено	Знайдено	Sr
10	$9,99 \pm 0,60$	0,06
20	$20,05 \pm 0,80$	0,04
50	$52,97 \pm 0,90$	0,01

Одержані результати показують добру відтворюваність і правильність запропонованого способу.