



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 41841

(13) A

(51) 7 G01N33/04

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОМПЛЕКСОУТВОРЮВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ ОСНОВНИХ КОМПОНЕНТІВ МОЛОКА ТА СУМІШЕЙ НА ЙОГО ОСНОВІ

1

2

(21) 2001053132

(22) 07.05.2001

(24) 17.09.2001

(46) 17.09.2001, Бюл. № 8, 2001 р.

(72) Костенко Єлізавета Євгенівна, Ромоданова
Валентина Олександрівна, Тасенко Максим Анато-
лійович(73) УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ(57) Спосіб визначення комплексуювальної
здатності основних компонентів молока та сумішей

на його основі шляхом обробки досліджуваного зразка розчином плюмбуму (II) певної концентрації, відокремлення осаду, визначення вмісту іонів плюмбуму (II) в розчині над осадом, розрахунку комплексуювальної здатності за різницею вмісту плюмбуму (II) у розчині до і після обробки зразка, який **відрізняється** тим, що спочатку оцінюється взаємодія іонів плюмбуму (II) з казеїном і лактозою окремо за схемою метал -індикаторного методу, а потім вміст іонів плюмбуму (II) визначається у аліквотній частині розчину золи фотометричним методом.

Винахід відноситься до області аналітичної хімії і може бути використаний для визначення здатності основних компонентів молочних продуктів зв'язувати іони токсичних металів у процесі розробки нових видів харчових продуктів лікувально - профілактичної дії з метою оцінки їх детоксикуючих властивостей.

Відомий спосіб визначення комплексуювальної здатності пектину, оснований на обробці пектинового екстракту розчином плюмбуму (II) (Крапивницька І.О. Сороколіт М.І. та інші. Лабораторний практикум з фізико-хімічного контролю пектинового виробництва для студентів технологічних спеціальностей. За редакцією Карповича М.С. К.: ІСДО. 1995. С.54), відокремлення пектату плюмбуму (II) фільтруванням, їх мокрого озолення та кількісного визначення плюмбуму (II) після озолення трилонометричним методом. За цим способом до стандартного підкисленого розчину плюмбуму (II) додають дистильовану воду і пектиновий екстракт. Осад пектату плюмбуму (II), що утворився, фільтрують крізь паперовий фільтр, багаторазово промивають дистильованою водою та етиловим спиртом. Потім відокремлюють осад від фільтра, висушують на повітрі і кількісно переносять у колбу К'ельдаля для мокрого озолення за допомогою суміші нітратної кислоти і пероксиду гідрогену. У колбу К'ельдаля з осадом пектатів плюмбуму (II) доливають вказану суміш і спалюють осад кип'ятінням вмісту колби на полум'ї газового пальника до досягнення

прозорості розчину. При спалюванні на дні колби з'являється кристалічний осад. Вміст колби К'ельдаля після озолення пектатів плюмбуму (II) кількісно переносять у мірну колбу, використовуючи дистильовану воду для зливу та доведення об'єму до позначки. Одержаний розчин, який містить плюмбум (II), аналізують трилонометрично. За результатами аналізу вмісту плюмбуму (II) в пробі та контрольному досліді визначають комплексуювальну здатність пектину.

Недоліками цього способу є його надмірна трудомісткість та мала експресність, викликані необхідністю застосування операцій фільтрування утвореного осаду пектату плюмбуму (II), багаторазового його промивання дистильованою водою та етиловим спиртом, відокремлення осаду від фільтра, висушування осаду на повітрі, кількісного перенесення осаду в колбу К'ельдаля та його мокрого озолення із застосуванням суміші концентрованої нітратної кислоти і пероксиду гідрогену. Крім цього відсутній контроль за кислотністю пектату плюмбуму (II).

Як прототип винаходу пропонується спосіб визначення комплексуювальної здатності, який включає обробку пектинового екстракту або пектиновмісного розчину розчином плюмбуму (II) певної концентрації, відокремлення осаду пектату плюмбуму (II) центрифугуванням, визначення вмісту іонів плюмбуму (II) у розчині над осадом полярографічним методом.

Комплексуювальною здатністю розрахову-

(13) A

(11) 41841

(19) UA

ють за різницею вмісту плюмбуму (II) у розчині до і після обробки пектину. (Клецькова І.О., Худайкулова О.О., Крапивницька І.О., Гнатенко М.А., Дзись А.С.// Зб.тез доповідей міжн. Наук.-техн.конф. "Розробл. та впровадж. прогрес. ресурсоощад. техн. та обладн. в харч. та переробну пром-сть. К.: УДУХТ, с.21.). Цей метод має ряд недоліків: передбачає тільки визначення вмісту плюмбуму (II) у розчині над осадом з використанням складного полярографічного методу. При цьому кількісно не розглядається хімізм комплексоутворення, а отримується тільки загальна кількісна характеристика процесу. В основу винаходу покладено завдання створити спосіб визначення комплексоутворюючої здатності основних компонентів молочних продуктів з метою глибокого вивчення хімізму комплексоутворення вищевказаних компонентів молока та сумішей на його основі з іонами важких металів, зокрема плюмбуму (II); отримати достовірні кількісні дані про склад та стійкість досліджуваних комплексних сполук; селективним, чутливим фотометричним методом визначити кількість плюмбуму (II) в розчині над осадом.

Поставлена задача вирішується тим, що спочатку окремо вивчається за схемою метал-індикаторного методу склад комплексної сполуки, яку утворює плюмбум (II) з лактозою і з казеїном. Його визначають, вивчаючи зсув рівноваги у вищезгаданих системах. Після вибору системи порівняння шляхом простих обчислень отримують величини умовних констант нестійкості досліджуваних сполук. Після цього певний об'єм молока або суміші на його основі обробляють розчином плюмбуму (II), перемішують, залишають до завершення процесу скисання, відокремлюють сироватку від осаду центрифугуванням, її піддають сухому озоленню, золу розчиняють і у аліквотній частині розчину золи сироватки визначають фотометрично плюмбум (II) за методом добавок, де в ролі металохромного індикатора використовують ксиленоловий оранжевий. (Полянский Н.Г. Аналитическая химия элементов. Свинец. М.: Наука, 1986, с.125). Комплексоутворюючу здатність обчислюють як різницю між кількістю внесеного плюмбуму (II) і кількістю знайденого плюмбуму (II) у розчині золи сироватки.

Причинно-наслідковий зв'язок між суттєвими ознаками і технічним результатом полягає в наступному, а саме: спосіб дозволяє отримати глибоку теоретичну кількісну інформацію про хімізм процесів, що відбуваються під час взаємодії іонів важких металів, зокрема плюмбуму (II), з основними компонентами харчових продуктів, у даному випадку молока та сумішей на його основі, і визначити комплексоутворюючу здатність за результатами простих спектрофотометричних вимірювань. Кількісна оцінка взаємодії іонів плюмбуму (II) з казеїном і лактозою необхідна для отримання достовірних кількісних даних про склад та стійкість досліджуваних комплексних сполук. Відокремлення осаду суміші сполук плюмбуму (II) з основними компонентами молока методом центрифугування, наступне озолення сироватки і приготування розчину золи забезпечує вивчення розподілення іонів плюмбуму (II) у даній гетерогенній системі. Застосування фотометричного контролю за вмістом мікрокількостей плюмбуму (II) дозволить селективним, чутливим

методом отримати достовірні дані про вміст плюмбуму (II) у розчині сироватки, дасть можливість не використовувати в роботі металічний ртуть.

Спосіб визначення комплексоутворювальної здатності казеїну та лактози у молоці та сумішах на його основі за методом добавок зі спектрофотометричним закінченням реалізується наступним чином: спочатку підбирають індикаторний комплекс (комплекс плюмбуму (II) з металохромним індикатором), який здатен руйнуватися під дією лактози або казеїну. В даному випадку як індикаторний використовували комплекс плюмбуму (II) з гліцинтимоловим синім (з літературних джерел відома інформація про склад та стійкість даного забарвленого комплексу). Вносячи до індикаторного комплексу різні кількості свіжеприготовлених розчинів лактози або казеїну, отримують експериментальні дані для побудови графічної залежності $A = f(C \text{ лактози})$ або $A = f(C \text{ казеїну})$ і для графічної логарифмічної залежності

$$-\lg \frac{[Pb(Lig)_n][Ind]^m}{[Pb(Ind)_m]} = f(-\lg [Lig]),$$

яка дозволяє визначити кількість координованих молекул ліганду (лактози або казеїну).

Концентрацію комплексу плюмбуму (II) з індикатором $[Pb(Ind)_m]$ визначають фотометрично, потім обчислюють $[Pb(Lig)_n] = C_{Pb} - m[Pb(Ind)_m]$ і відповідно $[Ind] = C_{Ind} - m[Pb(Ind)_m]$. Концентрацію ліганду знаходять, враховуючи константу його дисоціації. Основні умови експерименту: $C_{Pb} = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; $C_{Ind} = 6,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Умовну константу нестійкості комплексу $[Pb(Lig)_n]$ визначають, вивчаючи світлопоглинання розчинів, що містять сталу концентрацію індикаторного комплексу і змінну концентрацію казеїну (лактози). Для знаходження концентрації вільних іонів плюмбуму (II) спочатку вивчають рівновагу в системі плюмбум (II) - гліцинтимоловий синій - тіосульфат натрію (система порівняння). За отриманими даними розраховують концентрацію вільних іонів плюмбуму (II):

$$[Pb^{2+}]_{вільн} = \frac{K_n [Pb(S_2O_3)_n] \cdot [S_2O_3^{2-}]^n}{[Pb(S_2O_3)_n]},$$

де: $[Pb(S_2O_3)_n] = C_{Pb} - m[Pb(Ind)_m]$, і будують залежності $A = f([Pb^{2+}]_{вільн.})$, які потім використовують для визначення $[Pb^{2+}]_{вільн.}$ в системах Pb-казеїн і Pb-Ind-лактоза.

Умовні константи нестійкості обчислювали за формулами:

$$K_n [Pb(Kaz)_2] = \frac{[Pb(Kaz)_2][Kaz]^2}{[Pb(Kaz)_2]} = 4,0 \cdot 10^{-5}$$

$$K_n [Pb(Lac)_2] = \frac{[Pb(Lac)_2][Lac]^2}{[Pb(Lac)_2]} = 3,34 \cdot 10^{-4}$$

На другому етапі в мірний стакан відміряли 100,00 см³ молока або суміші на його основі, додавали певну кількість 0,1 м розчину $Pb(NO_3)_2$, перемішували і залишали до завершення процесу скисання. Цю гетерогенну систему центрифугували 3 хв. при швидкості 3000 об/хв; сироватку відокремлювали і озолювали у фарфорових тіглях з дода-

ванням HNO_3 конц. при 460°C , золу розчиняли у 2 м HNO_3 в об'ємі $100,00\text{ см}^3$. Для визначення вмісту залишків іонів плюмбуму (II) відбирали $5,00\text{ см}^3$ розчину золи сироватки у мірну колбу об'ємом $25,00\text{ см}^3$; для маскування іонів, заважають, додавали суміш, що містить NH_4F і $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ з концентраціями відповідно $5,0 \cdot 10^{-3}$ і $5,0 \cdot 10^{-4}$ м, а також 0,02 % аскорбінову кислоту. Така суміш, якщо додавати її у кількості $5,00\text{ см}^3$ на $25,00\text{ см}^3$ аналізованого розчину при $\text{pH} = 4,5$ і концентрації ксилеолового оранжевого $2,5 \cdot 10^{-5}$ м, маскує Al , Co , Cd , Cu , Bi , Fe , Mn , Ni , Sn , Zn при концентрації кожного металу $4,0\text{ мкг/см}^3$. Оптичну густину розчину вимірювали при 580 нм , $l = 3\text{ см}$, КФК - 3 відносно контрольного досліджу, що містить всі компоненти крім розчину золи сироватки. У другу таку ж порцію сироватки додавали стандартну добавку плюмбуму (II) і виконували аналогічні операції. Після вимірювання оптичної густини обчислюють вміст плюмбуму (II) за формулою методу добавок:

$$m_x = m_{\text{ст}} \cdot A_x / (A_{\text{ст}} - A_x),$$

де: m_x - вміст плюмбуму (II) в аліквотній частині досліджуваного розчину золи сироватки, мкг; $m_{\text{ст}}$ - вміст плюмбуму (II) у стандартній добавці, мкг; A_x - оптична густина досліджуваного розчину; $A_{\text{ст}}$ - оптична густина досліджуваного розчину, який містить добавку стандартного розчину плюмбуму (II).

За вищевикладеними даними обчислюють комплексоутворюючу здатність основних компонентів молока та сумішей на його основі за різницею між кількістю внесеного плюмбуму (II) у аналізова-

ний зразок молочного продукту і кількістю знайденого плюмбуму (II) у розчині золи сироватки.

Розроблений спосіб визначення комплексоутворювальної здатності основних компонентів молока та сумішей на його основі у порівнянні з існуючими способами забезпечує такі переваги:

а) дає можливість докладно вивчити хімізм комплексоутворення основних компонентів молока та сумішей на його основі з іонами важких металів, зокрема плюмбумом (II);

б) вперше отримати достовірні кількісні характеристики стійкості досліджуваних комплексних сполук;

в) селективним, чутливим і простим фотометричним методом визначити кількість плюмбуму (II) в розчині над осадом.

Порівняльна характеристика способів визначення комплексоутворюючої здатності основних компонентів молока та сумішей на його основі за прототипом і за запропонованим способом наведена у таблиці 1.

Таким чином, впровадження даного способу дасть змогу вивчити хімізм комплексоутворення основних компонентів молока та сумішей на його основі з іонами важких металів, зокрема плюмбуму (II); вперше отримані достовірні дані про склад та стійкість досліджуваних комплексних сполук; селективним чутливим і простим фотометричним методом визначити кількість плюмбуму (II) в розчині над осадом.

Відомий спосіб	Прототип	Новий спосіб
		Вивчення комплексоутворення плюмбуму (II) з аналітично – активними групами основних складових молока або сумішей на його основі. Отримані кількісні характеристики про склад та міцність
Додавання до кислого стандартного розчину плюмбуму(II) дистильованої води	Обробка петинвмісного зразка розчином плюмбуму (II) певної концентрації	Обробка зразка молока або суміші на його основі розчином плюмбуму (II) певної концентрації
Додавання досліджуваного пектинового екстракту в розчин плюмбуму(II) і витримування розчину	Встановлення необхідного значення рН розчину та додавання дистильованої води	
Відокремлення пектату плюмбуму(II) фільтруванням	Витримування розчину	Витримування суміші
Багаторазова промивка осаду дистильованою водою та етанолом	Відокремлення осаду пектату плюмбуму(II) центрифугуванням	Відокремлення осаду суміші сполук плюмбуму (II) з основними компонентами молока центрифугуванням
Відокремлення осаду від фільтра та висушування осаду	Визначення вмісту іонів плюмбуму в розчині над осадом полярографічним методом	Озолення сироватки та приготування розчину її золи
Кількісне перенесення осаду в колбу К'ельдаля	Обчислення комплексоутворюючої здатності	Спектрофотометричне визначення вмісту плюмбуму(II) у розчині
	% X= 79,0-95%	золи сироватки
Мокре озолення осаду		Обчислення комплексоутворюючої здатності %X = 99,58
Перенесення вмісту колби К'ельдаля після озолення пектатів у мірну колбу		
Визначення вмісту плюмбуму (II) у розчині трилонометричним методом		