



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **87376** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/02 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2013 08054	(72) Винахідник(и):	Бельтюкова Світлана Вадимівна (UA), Лівенцова Олена Олегівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	25.06.2013	(73) Власник(и):	ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.02.2014		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.02.2014, Бюл.№ 3		

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДЕГІДРООЦТОВОЇ КИСЛОТИ

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення дегідрооцтової кислоти включає відбір проби, відокремлення дегідрооцтової кислоти, взаємодію її з хімічним реагентом в присутності триоктилфосфіноксиду та уротропіну і вимірювання аналітичного сигналу, причому відокремлення дегідрооцтової кислоти здійснюють сорбцією на силікагелі з водного розчину, а процес проводять при рН 6,3-7,0.

UA 87376 U

Корисна модель належить до аналітичної хімії, зокрема до способу кількісного визначення консерванту - дегідрооцтової (3-ацетил-4-гідрокси-6-метил-2Н-пиран-2-ОН) кислоти [див. Жунгіету Г.Н. Хранение пищевых продуктов и кормов с применением консервантов. Кишинев: Картия. Молдовеняску. - 1982. - 220 с.].

Відомий спосіб кількісного визначення дегідрооцтової кислоти (ДГК) в продуктах харчування і полімерних оболонках методом зворотно-фазової високоефективної рідинної хроматографії з спектрофотометричним детектуванням [див. К.Н. Эллер, В.В. Пименова, С.В. Волкович, М.Г. Киселева, А.Г. Снежко З.С. Борисова, В.Б. Новикова. Определение дегидрацетовой кислоты и ее натриевой соли в продуктах питания и полимерных оболочках. Вопросы питания – 2006. - Т. 75, № 6. - С. 72-78]. Спосіб заснований на реєстрації власного поглинання ДГК при $\lambda=240$ нм, після попереднього виділення консерванту на хроматографічній колонці LunaC18,5 мкм, 250×4,6 мм ID. Відомий спосіб вимагає попереднього відділення консерванту на спеціальній хроматографічній колонці, використання в якості рухомої фази токсичного розчинника - ацетонітрилу, наявності складного апаратурного оформлення (рідинного хроматографа).

Найбільш близьким до заявленої корисної моделі є спосіб кількісного визначення дегідрооцтової кислоти у винах (див. С.В. Бельтюкова, О.И. Теслюк, Е.И. Целик, А.В. Егорова, Е.О. Ливенцова. Люминесцентное определение дегидрацетовой кислоты у винах. Журн. аналит. химии. - 2003. - Т. 58, № 4. - С. 397-400), заснований на відділенні консерванту сорбцією на цеоліті, та реєстрації сенсibilізованої люмінесценції іону тербію (III) в присутності дегідрооцтової кислоти.

Визначення проводили наступним способом: у три стаканчика поміщали по 0,5-1 мл аналізованого вина, в два з них додавали стандартний розчин ДГК, потім додавали по 0,5 мл 4 %-го розчину уротропіну, 0,5 мл $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л етанольного розчину триоктилфосфіноксиду (ТОФО), етанол до загального об'єму 5 мл і по 60 мг цеоліту NaA, модифікованого іонами Tb (III), проводили сорбцію протягом 15 хв., потім сорбент відфільтровували, промивали 50 %-ною водно-етанольною сумішшю і висушували при 80-100 °С протягом 1 год. Інтенсивність люмінесценції сорбату вимірювали при 545 нм. Вміст ДГК розраховували за методом добавок.

Цей спосіб вибраний прототипом.

Прототип і корисна модель, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- відбір проби;
- відокремлення дегідрооцтової кислоти;
- взаємодія проби з хімічним реагентом в присутності ТОФО та уротропіну;
- вимірювання аналітичного сигналу.

Однак спосіб, запропонований за прототипом, досить трудомісткий, тому що вимагає попередньої підготовки цеоліту до роботи. Для цього цеоліт прожарюють 2 год. в муфельній печі, потім промивають соляною кислотою протягом 2 год., промивають дистильованою водою і сушать в сушильній шафі.

Підготовлений до роботи цеоліт модифікують іонами тербію Tb (III), перемішуючи цеоліт і розчин хлориду тербію (III) протягом 5 год. на магнітній мішалці, сорбент відфільтровують і сушать. Загальний час підготовки цеоліту складає 13-15 годин.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб, в якому за рахунок застосування силікагелю як сорбенту, забезпечити спрощення, скорочення проведення аналізу, виключення використання органічного розчинника-етанолу.

Поставлена задача вирішена в способі кількісного визначення дегідрооцтової кислоти, що включає відбір проби, відокремлення дегідрооцтової кислоти, взаємодію її з хімічним реагентом в присутності ТОФО та уротропіну і вимірювання аналітичного сигналу, тим, що відокремлення дегідрооцтової кислоти здійснюють сорбцією на силікагелі з водного розчину, а процес проводять при рН 6,3-7,0.

Новим у корисній моделі, що заявляється, є використання взаємодії дегідрооцтової кислоти з іонами Tb (III) в розчині, наступна сорбція комплексу з водного розчину на силікагель з метою відокремлення консерванту з розчину і переведення комплексу в тверду фазу.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає в наступному.

Скорочення часу проведення аналізу і виключення використання органічного розчинника стало можливим завдяки наступним прийомам.

1. Застосуванню реакції взаємодії дегідрооцтової кислоти з іонами Tb (III) в розчині. Застосування такого прийому дозволяє використовувати як сорбент силікагель і скоротити внаслідок цього час проведення аналізу, тому що при цьому виключається підготовка сорбенту до роботи і його модифікація іонами Tb (III), що складає приблизно 13-15 годин.

2. Застосуванню сорбції комплексу Tb (III) з дегідрооцтовою кислотою на силікагель. Застосування такого прийому дозволяє виключити використання органічного розчинника-етанолу, що пов'язано з різними механізмами сорбції дегідрооцтової кислоти на силікагелі і цеоліті. У разі використання цеоліту, сорбція проходить по типу іонного обміну і молекули

5 етанолу витісняють молекули води з порожнин цеоліту, що сприяє зменшенню безвипромінювальних втрат енергії збудження і збільшенню $I_{\text{люм}}$ сорбату. Взаємодія дегідрооцтової кислоти з поверхнею кремнезему відбувається за рахунок утворення водневого зв'язку між карбонільним атомом ДГК і силанольною групою сорбенту.

10 Сенсibiliзована люмінесценція іона Tb (III) на силікагелі посилюється у присутності донорно-активної добавки - триоктилфосфіноксиду (фіг. 2), який сприяє дегідратації утвореного комплексу і тим самим зменшенню безвипромінюваних втрат енергії збудження. Найбільша $I_{\text{люм}}$ виявляється при вмісті ТОФО у розчині $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

15 Інтенсивність люмінесценції сорбату залежить від pH-розчину, з якого проводиться сорбція. Найбільша $I_{\text{люм}}$ досягається при pH 6,3-7,0 (фіг. 1). Для створення оптимального значення pH розчину використовували 40 %-ий розчин уротропіну. У спектрі люмінесценції сорбату комплексу найбільш інтенсивною є смуга Tb (III), відповідна надчутливому переходу (НЧП)

$$D \xrightarrow[4]{5} F \xrightarrow[5]{7}$$
 значно слабкіше за інтенсивністю смуги з максимумами при 490, 586, 620 нм (переходи з

рівня $D \xrightarrow[4]{5} F \xrightarrow[6]{7}$ та $F \xrightarrow[4]{7}$ відповідно) (фіг. 2).

20 Збільшення $I_{\text{люм}}$ сорбату Tb (III) у присутності ДГК є непрямым підтвердженням того, що на силікагелі утворюється комплексна сполука. Таке збільшення $I_{\text{люм}}$ не спостерігалось б при дифузному механізмі передачі енергії на іонлантаніду від органічного ліганду в фазі сорбенту. Збільшення $I_{\text{люм}}$, закріпленого на твердій матриці комплексу Tb (III) з ДГК, обумовлено зростанням жорсткості молекули і зменшенням внаслідок цього внутрішньомолекулярних втрат енергії збудження.

25 Інтенсивність люмінесценції сорбату залежить від часу сорбції ДГК. Для отримання максимальної $I_{\text{люм}}$ сорбату достатньо проводити сорбцію протягом 10-15 хв. При подальшому збільшенні часу сорбції $I_{\text{люм}}$ не змінюється (фіг. 3)

Вивчення впливу температури і часу висушування сорбату показало, що оптимальна $I_{\text{люм}}$ досягається при висушуванні сорбату протягом 15-20 хв. при температурі 80-100 °C (фіг. 4).

30 Встановлено, що $I_{\text{люм}}$ сорбату збільшується із зростанням концентрації іонів Tb (III) у фазі сорбенту. Однак при цьому значно зростає і $I_{\text{люм}}$ "холостої" проби. Найбільша різниця між $I_{\text{люм}}$ сорбату комплексу і холостої проби спостерігається при концентрації Tb (III) - $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Визначення дегідрооцтової кислоти проводили у варених і копчених ковбасах, які захищені оболонкою.

35 Приклад 1

Від зразка харчового продукту (вареної ковбаси "Докторська") відокремлювали оболонку, продукт двічі пропускали через м'ясорубку, ретельно перемішували в блендері і відбирали наважку масою 20 г (із поверхневого шару ковбаси товщиною 5 мм та із середини батона).

40 Наважку зразка ковбаси масою $20 \pm 0,01$ г, подрібненої на м'ясорубці і перемішаної в блендері, поміщали в мірну колбу місткістю 250 мл, додавали 100-120 мл гарячої (70-80 °C) дистильованої води і струшували на апараті 30 хв. Отриману масу охолоджували до кімнатної температури, додавали 20 мл розчину ацетату цинку, струшували, доводили дистильованою водою до мітки, ретельно перемішували. Вміст колби фільтрували через складчастий фільтр "синя стрічка" і фільтрат аналізували. При аналізі використовували аліквоти по 1 мл, які розбавляли дистильованою водою до 10 мл. У три пробірки поміщали по 60 мг силікагелю, додавали по 0,2 мл розведеного розчину, що аналізується, по 0,2 мл розчину хлориду Tb (III) $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, в дві з них додавали стандартний розчин ДГК у такій кількості, щоб $I_{\text{люм}}$ проби зросла в 2 і 3-4 рази відповідно. Потім у всі три пробірки додавали по 0,2 мл розчину ТОФО ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л), 0,2 мл розчину уротропіну 4 %-ного і дистильовану воду до 5 мл. Сорбцію проводили при перемішуванні протягом 15 хвилин. Потім сорбент відфільтровували та висушували при температурі 90 °C протягом 10 хв. Інтенсивність люмінесценції сорбату Tb (III) вимірювали при $\lambda_{\text{випр}} = 545$ нм ($\lambda_{\text{збудж}} = 365$ нм). Паралельно готували розчин "холостої" проби, яка містить всі компоненти, крім дегідрооцтової кислоти. При розрахунку інтенсивності люмінесценції сорбату досліджуваного розчину враховували $I_{\text{люм}}$ "холостого" дослід. Зміст

55 дегідрооцтової кислоти розраховували методом добавок за формулою:

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

де C_x - концентрація ДГК в аналізованій пробі, мкг/мл;

C_1 - концентрація стандартного розчину ДГК (добавка), мкг/мл;

I_x - інтенсивність люмінесценції сорбату комплексу аналізованої проби;

5 $I_{x+доб}$ - інтенсивність люмінесценції сорбату комплексу аналізованої проби з добавкою стандартного розчину ДГК.

В аналізованому зразку вареної ковбаси "Докторська" в поверхневому шарі товщиною 5 мм було виявлено 4,2 мкг/г ДГК. У шарі ковбаси з середини батона ДГК не виявлена.

10 Правильність визначення контролювали методом "введено-знайдено". При цьому в аналізовані зразки ковбас, подрібнені на м'ясорубці і перемішані в блендері, додавали різні кількості розчину ДГК, проводили зразки через всю схему аналізу. Результати визначення показують, що запропонований спосіб дозволяє визначити ДГК із задовільною правильністю та відтворюваністю. Дані наведені в таблиці.

Нижня границя вмісту ДГК, що визначається, складає 0,001 мкг/мл.

15 Приклад 2

Визначення ДГК в зразках копченої ковбаси "Московська" проводили аналогічно тому, як наведена в прикладі 1. Зразок подрібнювали, екстрагували ДГК гарячою дистильованою водою, відділяли білки, потім вміст колби фільтрували через складчастий фільтр "червона стрічка", фільтрат (близько 50 мл) поміщали в ділильну воронку і двічі струшували з гексаном (близько 20 30 мл), після поділу шарів нижній шар фільтрували через складчастий фільтр "синя стрічка" і аналізували. Внаслідок поганого розшаровування рідин в воронку додавали трохи сухого хлориду натрію і вміст повторно струшували. Екстракти фільтрували через целюлозний або капроновий фільтр з розміром пор до 0,45 мкм. Після чого відбирали аліквоти по 1 мл та аналізували як в прикладі 1.

25 В аналізованих зразках копченої ковбаси "Московська" в поверхневому шарі товщиною 5 мм було виявлено 2,5 мкг/г ДГК (див. таблицю). У шарі ковбаси з середини батона ДГК не виявлено.

Правильність визначення контролювали так же, як в прикладі 1. Дані наведені в таблиці.

Таблиця

Результати визначення дегідрооцтової кислоти в зразках ковбас

Об'єкт аналізу	Введено, мкг/г	Знайдено, мкг/г	Sr
Ковбаса варена "Докторська"	-	4,2±0,250	0,06
	4,0	8,0±0,480	0,06
	8,0	12,1±0,605	0,05
Ковбаса сирокочена "Московська"	-	2,5±0,175	0,07
	2,0	4,5±0,270	0,06
	4,0	6,6±0,396	0,06

30

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

35 Спосіб кількісного визначення дегідрооцтової кислоти, що включає відбір проби, відокремлення дегідрооцтової кислоти, взаємодію її з хімічним реагентом в присутності триоктилфосфіноксиду та уротропіну і вимірювання аналітичного сигналу, який **відрізняється** тим, що відокремлення дегідрооцтової кислоти здійснюють сорбцією на силікагелі з водного розчину, а процес проводять при рН 6,3-7,0.

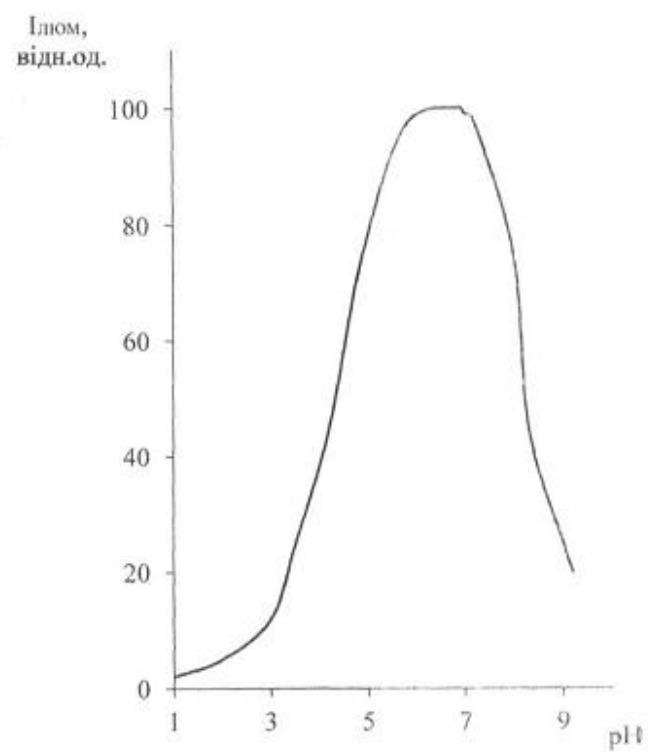


Fig. 1

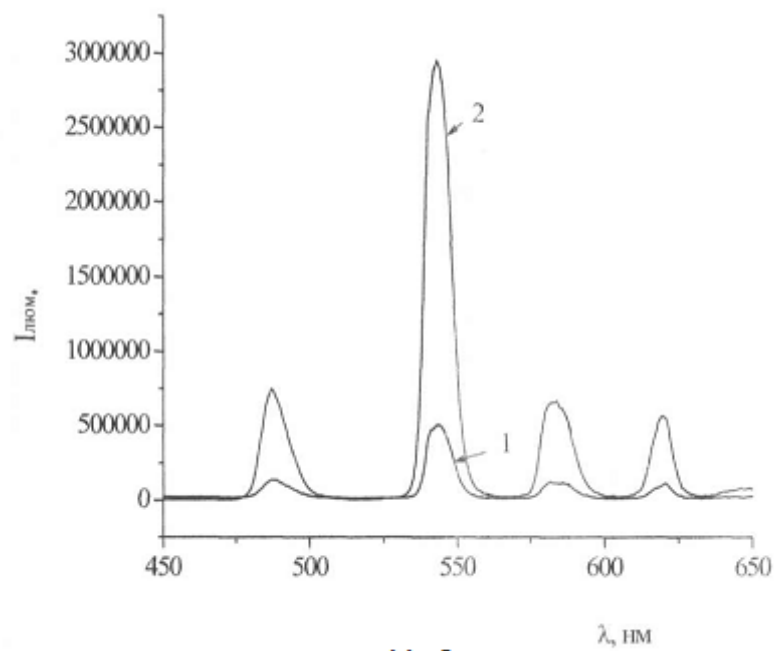


Fig. 2

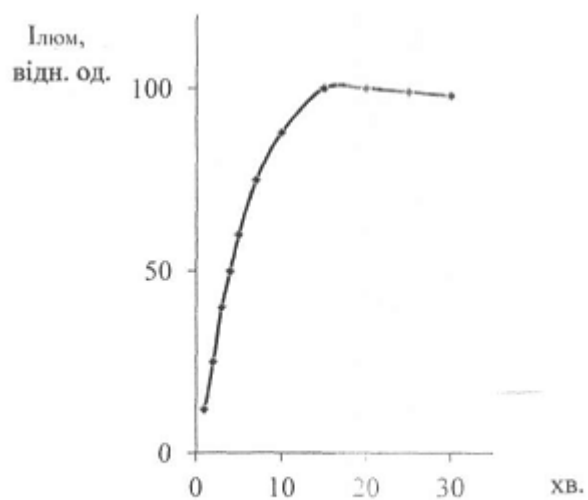


Fig. 3

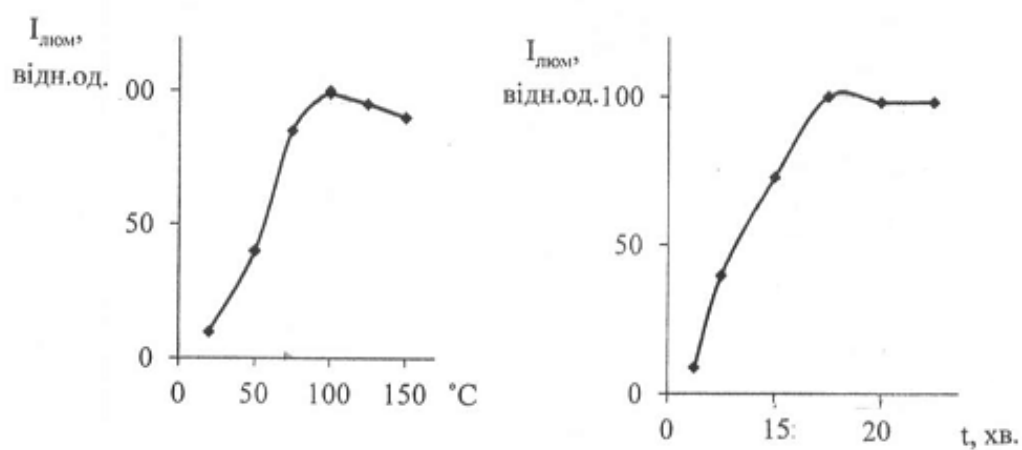


Fig. 4

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

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

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