



## Instrukcja do ćwiczeń

### Wykrywanie zafalszowań zawartości chininy w napojach typu *tonic* metodą spektrofluorymetryczną



#### I. Cel ćwiczenia

Zapoznanie studenta z wykorzystaniem techniki spektrofluorymetrycznej do analizy ilościowej zawartości substancji czynnej w produktach będących przedmiotem zainteresowania toksykologii sądowej.

#### II. Wstęp teoretyczny

Chinina jest alkaloidem naturalnie występującym w korze chinowca wykorzystywanym w przemyśle farmaceutycznym ze względu na właściwości lecznicze, jak również w przemyśle spożywczym ze względu na walory smakowe. Charakterystyczna goryczka towarzysząca spożyciu chininy przyczyniła się do zastosowania jej jako składnika napojów orzeźwiających – toników. Zgodnie z dyrektywą 2002/67/WE obowiązującą obecnie w Polsce producenci powinni zamieszczać na etykietach napojów informację o zawartości chininy w produktach spożywczych. Dopuszczalna zawartość chlorowodoru chininy w napojach bezalkoholowych opartych na wodzie to ok. 7,5 mg/100 ml. Dostępne w sklepach napoje mogą zawierać nawet do 55 – 68 mg chininy na litr płynu, a nadużywanie w szczególności przez kierowców, pilotów i osoby zawodowo obsługujące maszyny ze względu na działania uboczne podobne do tych jakie wywołuje spożycie alkoholu mogą wpłynąć na pogorszenie orientacji przestrzennej i spowodować lekkie zaburzenia widzenia. Stąd zainteresowanie chemii sądowej skupia się głównie na wykrywaniu fałszerstwa w zakresie nie wypełniania przez producentów norm charakterystycznych dla tego alkaloidu i wpisuje się w nurt toksykologii sądowej.

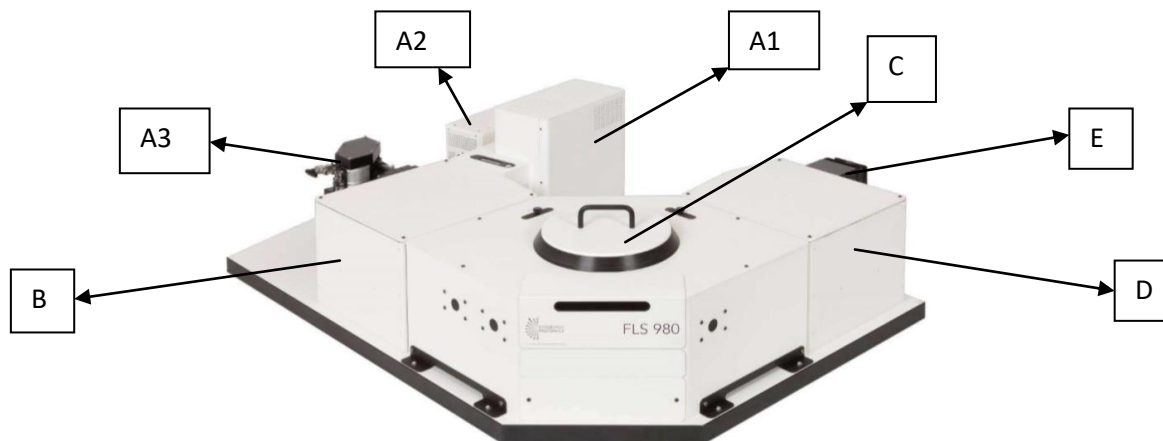
#### III. Wykonanie ćwiczenia

WYCIĄG Z KART CHARAKTERYSTYKI SUBSTANCJI NIEBEZPIECZNYCH			
Siarczan chininy	 UWAGA	Nr CAS 207671-44-1	Masa cząsteczkowa 391,47 g/mol
	<b>H315</b> Działa drażniąco na skórę. <b>H319</b> Działa drażniąco na oczy. <b>H335</b> Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.		
	<b>P302 + P352</b> W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody. <b>P305 + P351 + P338</b> W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.		
Kwas siarkowy(VI)	 NIEBEZPIECZEŃSTWO	Nr CAS 7664-93-9	Masa cząsteczkowa 98,08 g/mol
	<b>H290</b> Może powodować korozję metali <b>H314</b> Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. <b>P280</b> Stosować rękawice ochronne/ odzież ochronną/ ochronę oczu/ ochronę twarzy.		
	<b>P303 + P361 + P353</b> W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. <b>P305 + P351 + P338</b> W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.		

### A. Przygotowanie wzorcowych roztworów siarczanu chininy

Przygotuj roztwory siarczanu chininy o stężeniach:  $1\text{mg/dm}^3$ ,  $2\text{mg/dm}^3$ ,  $3\text{mg/dm}^3$ ,  $5\text{mg/dm}^3$ ,  $10\text{mg/dm}^3$  i objętości  $10\text{cm}^3$ .

### B. Zapoznanie z budową i działaniem spektrofluorymetru Edynburg FLS-980



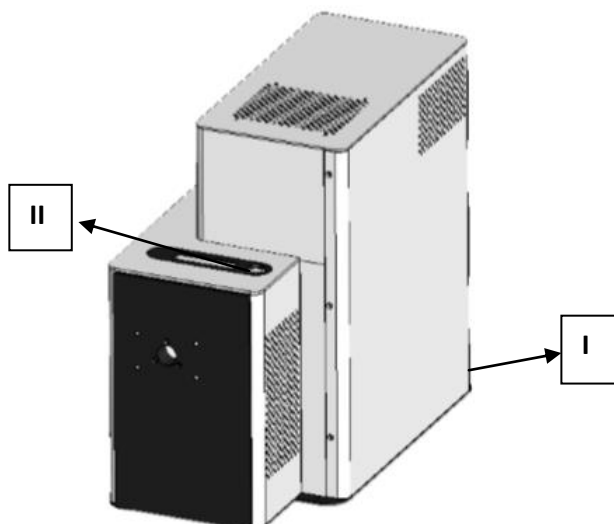
**Rys 1. Spektrofluorymetr Edynburg FLS-980**

#### Podzespoły spektrofluorymetru Edynburg FLS-980 (rys. 1):

- A. *Źródła światła* – źródła promieniowania wzbudzającego ciągłego i impulsowe odpowiedzialne za fotoluminescencję próbki (ciągła lampa ksenonowa – A1, lampa błyskowa o impulsie mikrosekundowym – A2, lampa błyskowa o impulsie nanosekundowym – A3, EPL lub EPLED)
- B. *Monochromator wzbudzenia* – umożliwia wybór określonej długości fali światła z pełnego spektrum źródła wzbudzenia
- C. *Komora próbek* – zawiera podzespoły optyczne takie jak soczewki i zwierciadła, oraz uchwyty próbek
- D. *Monochromator emisji* – umożliwia wybór określonej długości fali światła z pełnego spektrum emisji próbki
- E. *Detektor* – urządzenie odpowiedzialne za rejestrację strumienia fotonów emisji próbki przy wybranej długości fali
- F. *Dedykowany PC* – komputer z oprogramowaniem F980

### C. Uruchomienie spektrofluorymetru do pracy z ciągłą lampą ksenonową

- 1) Włącz zespół zasilający spektrometr oraz układ gromadzenia danych. Jednocześnie zostaną uruchomione zespoły chłodzące detektory, jeśli nie zespoły te uruchomić.
- 2) Uruchom wentylator lampy ksenonowej. Znajduje się on w dolnej tylnej części obudowy lampy (I) (Rys 2).



**Rys 2. Lampa ksenonowa w aparacie Edynburg FLS-980**

- 3) Po zainicjowaniu działania lampy (II) (Rys. 2) pojawi się napis „Ready to start”. Lampę uruchom srebrnym przyciskiem (II) (Rys. 2).
- 4) Włącz program F980, wyświetli się okno zliczania sygnałów (*Signal Rate*), które należy przystosować do pomiarów widm stacjonarnych poprzez wybranie jako źródła wzbudzenia lampy ksenonowej (*Xe lamp*) oraz jako detektora fotopowielacza (*Red PMT*).
- 5) Zamknij okno zliczania sygnałów

#### **D. Pomiar widm wzbudzenia i emisji**

- 1) Do komory próbek wprowadź kuwetę zawierającą najbardziej stężony roztwór wzorcowy
- 2) Otwórz okno zliczania sygnałów, ustaw długość fali wzbudzenia 350nm i emisji 450nm, każdą zmianę zatwierdź przyciskiem „Apply”
- 3) Dobierz intensywność sygnału operując szczelinami wzbudzenia i emisji, pamiętając, żeby nie przekroczyć wartości granicznej dla fotopowielacza (1 mln cps)

#### **E. Przygotowanie krzywej wzorcowej siarczanu chininy**

- 1) Dla przygotowanych wzorcowych roztworów siarczanu chininy wykonaj pomiary widm emisji zaczynając od stężenia najmniejszego, a kończąc na największym
- 2) Z otrzymanych danych wyznaczyć krzywą wzorcową (zależność intensywności fluorescencji od stężenia)
- 3) Metodą regresji liniowej wyznaczyć równanie prostej  $y=ax+b$ , które posłuży do obliczenia zawartości chininy w badanym roztworze

#### **F. Wykonanie pomiaru zawartości chininy w toniku**

- 1) Odgazowany napój rozcieńcz 10-, 20-, 50-krotnie rozcieńczonym  $H_2SO_4$  ( $c = 0.05\text{mol/dm}^3$ )
- 2) Zmierz widma emisji przygotowanych roztworów, a następnie wyliczyć zawartość chininy w rozcieńczonej próbce zgodnie z równaniem krzywej wzorcowej, przelicz na nierozcieńczony napój
- 3) Porównać wartość uśrednioną z wartością podaną przez producenta ( $55\text{-}68\text{ mg/dm}^3$ )

#### **IV. Literatura:**

- 1) J. Czerniak, A. Gacek, P. Szopa, *Determination of Quinine Content in Tonic Waters by Molecular Fluorescence Spectroscopy*. Zeszyty Naukowe, 2011, 214, pp. 61-69

- 2) J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*. III edycja. 2006. Springer
- 3) FLS980 *Instrukcja obsługi*
- 4) *Dyrektywa Komisji Wspólnot Europejskich 2002/67/WE z dnia 18 lipca 2002 r. w sprawie etykietowania środków spożywczych zawierających chininę oraz środków spożywczych zawierających kofeinę*