

УДК 543.544

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСЕРВАНТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И ПРОДОВОЛЬСТВЕННОМ СЫРЬЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

© 2005 Е.В. Дулина, В.В. Литинская*

Разработана методика идентификации и количественного определения химических консервантов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, позволяющая определять сорбиновую кислоту и бензоат натрия при их совместном присутствии в различных группах пищевых продуктов и продовольственном сырье. Методика прошла метрологическую аттестацию и может использоваться при контроле качества пищевых продуктов.

Введение

Интенсивное развитие пищевой промышленности привело к широкому использованию пищевых добавок при производстве продукции. Пищевые добавки — “это природные или искусственные (синтезированные) вещества, преднамеренно вводимые в пищевые продукты с целью их сохранения и (или) придания им заданных свойств” [1]. В Европейском Союзе классифицировано более 300 пищевых добавок, применяемых при производстве продуктов питания [2]. Особое место среди пищевых добавок занимают консерванты — вещества, продлевающие срок хранения продуктов и защищающие их от порчи, вызываемой микроорганизмами (бактерии, плесневые грибы, дрожжи). Наиболее часто используемыми и разрешенными к применению в Украине синтетическими консервантами являются бензойная кислота (C_6H_5COOH), бензоат натрия (C_6H_5COONa , Е 211), сорбиновая кислота ($CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH$, Е 200) и ее соли. Для этих веществ установлены максимально допустимые концентрации, значения которых для различных продуктов питания составляют от 150 до 2000 мг/кг продукции [3,4].

Стандартизованные способы отдельного определения бензойной и сорбиновой кислот основаны на извлечении их из пищевых продуктов путем перегонки с водяным паром и последующем количественном спектрофотометрическом определении [5,6]. Кислотность среды при перегонке должна обеспечивать преобладание недиссоциированных форм кислот, что способствует более полному извлечению. Однако спектрофотометрическое определение бензойной и сорбиновой кислот не отличается высокой селективностью, поскольку их спектры поглощения перекрываются со спектрами поглощения других органических компонентов.

Требования к селективности определения бензойной и сорбиновой кислот ужесточаются в условиях, когда в современной пищевой промышленности все чаще используют композиции консервантов.

В современном анализе пищевых продуктов ведущую роль играют методы хроматографии, сочетающие разделение и определение компонентов, что обеспечивает селективность, высокую чувствительность и универсальность при идентификации и оценке количественного содержания отдельных органических веществ в сложных смесях.

Данная статья посвящена разработке методики определения бензойной кислоты ($NaBz$) и сорбиновой кислоты ($HSorb$) при их одновременном присутствии в пищевых продуктах с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [7]. Пробоподготовка включает операции экстракционного извлечения консервантов и осаждения мешающих веществ из полученных экстрактов.

Экспериментальная часть

Оборудование. Хроматографический анализ проводился в обращенно-фазовом режиме на жидкостном хроматографе «Shimadzu» LC-10ADvp, Япония, укомплектованном спектрофото-

* Государственное предприятие “Харьковский региональный научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации”

метрическим детектором. Прибор имеет систему компьютерной обработки выходного сигнала с возможностью регистрации поглощения при нескольких длинах волн.

В ходе эксперимента использовались разные хроматографические колонки, заполненные адсорбентами, одинаковыми по химической природе и размеру частиц:

- Separon C18 (5мкм, 80×2 мм), TESSEC, Чехия;
- Nucleosil C18 (5мкм, 125×3 мм), MASHERY NAGEL, Германия;
- Silasorb-Phenil C18 (5мкм, 80×2 мм), LACHEMA, Чехия.

Колонки практически не отличались по хроматографическим характеристикам (селективность, эффективность). Однако в процессе работы хроматографическая колонка последнего типа быстрее теряла эксплуатационные свойства: повышалось гидравлическое сопротивление, засорялся выходной фильтр колонки, что может быть связано с меньшей механической прочностью сорбента Silasorb-Phenil C18.

Большинство разделений в процессе исследования выполнено на колонке Nucleosil C18 (5мкм, 125×3 мм).

Условия хроматографирования. Для приготовления элюента раствор KH_2PO_4 с молярной концентрацией 0.0125 моль/л, подкисленный фосфорной кислотой до pH 2.4, смешивали с ацетонитрилом в объемном соотношении 85:15. Элюирование выполняли в изократическом режиме со скоростью 0.15 см³/мин. Состав подвижной фазы и скорость элюирования могут меняться в зависимости от размеров колонки.

При градуировке и анализе реальных образцов пищевых продуктов соблюдались одинаковые условия хроматографирования: температура колонки 25 °С; вводимый объем 5 мм³; ввод проб в колонку осуществлялся с помощью автосамплера. Для обеспечения четкой работы систем детектирования все растворы перед измерениями фильтровали и дегазировали. Хроматограммы регистрировали при длине волны поглощаемого света 210 нм, 236 нм и 254 нм.

Построение градуировочных зависимостей. В качестве аналитического сигнала использовали площадь хроматографического пика. Градуировочные зависимости для определения бензоата натрия или сорбиновой кислоты устанавливали по 4 растворам каждого компонента с массовыми концентрациями 180, 144, 90, 45 мг/дм³. Для приготовления градуировочных растворов использовали чистые вещества производства Германии, с содержанием основного компонента не менее 99.9%. Диапазон градуировки выбирали таким образом, чтобы ожидаемые концентрации определяемых соединений в исследуемых экстрактах (фильтратах) находились в средней части градуировочного графика. Регистрация аналитического сигнала и обработка результатов градуировки выполнялась на базе программного обеспечения персонального компьютера, связанного с жидкостным хроматографом. Градуировочные графики и уравнения градуировочных зависимостей для определения бензоата натрия и сорбиновой кислоты представлены на рис. 1 и 2.

Подготовка проб. Пищевые продукты представляют собой сложные многокомпонентные гетерогенные системы. Отдельные разновидности продуктов существенно отличаются друг от друга природой матрицы и ассортиментом мешающих компонентов, поэтому процедура пробоподготовки разрабатывалась индивидуально для каждого вида продукции. Наиболее общая схема пробоподготовки для продуктов всех видов включала следующие основные операции.

Консерванты выделяли из анализируемых проб, экстрагируя водой. Полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр. Если водный экстракт содержал жир, его переносили в делительную воронку и добавляли органический растворитель (гексан или петролейный эфир), который не смешивается с водой, но в котором хорошо растворим жир. Встряхивали и после разделения слоев отделяли нижний водный слой, а верхний слой, содержащий органический растворитель, отбрасывали. Мешающие вещества (белки, крахмал, наполнители) из полученных экстрактов удаляли осаждающими растворами — реактивами Карреза, после чего проводили центрифугирование. Осадок декантировали и отбрасывали, а надосадочный водный раствор оставляли для анализа. Для концентрирования и извлечения анализируемых веществ водный раствор пропускали через патроны Диапак С16.

Для каждой группы продуктов подбирали оптимальные количества осаждающих растворов и условия осаждения мешающих компонентов. Проверка всех этапов пробоподготовки для различных видов продуктов проверяли по схеме «введено-найдено», путем внесения известных

добавок определяемых консервантов. Это дало возможность подобрать такие условия, при которых потери при извлечении консервантов оказались минимальными.

Найденные значения степени извлечения консервантов из различных групп продуктов приведены в таблице 1.

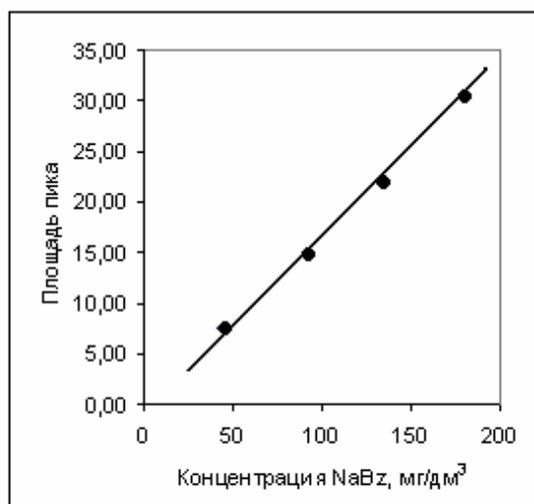


Рис. 1. Зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации бензоата натрия, градуировочная функция:

$$y = -0.440 + 0.169 x \quad (r = 0.996)$$

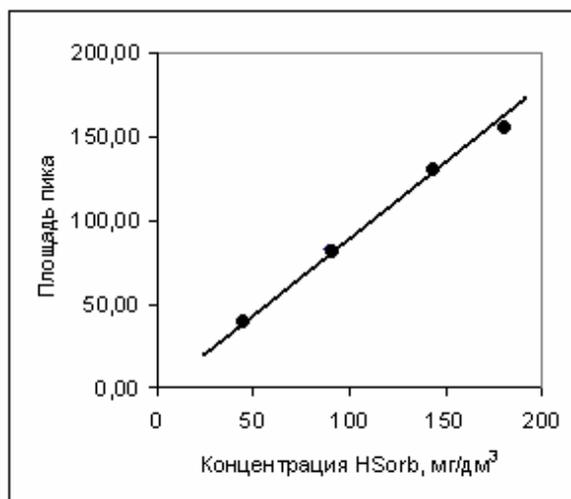


Рис. 2. Зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации сорбиновой кислоты, градуировочная функция:

$$y = 4.37 + 0.847 x \quad (r = 0.997)$$

Таблица 1. Степень извлечения бензоата натрия и сорбиновой кислоты из различных групп пищевых продуктов

№ п/п	Название группы продуктов	Степень извлечения, %	
		NaBz	HSorb
1	плодовые и овощные консервы	92	90
2	жиросодержащие продукты	87	85
3	хлебобулочные и кондитерские изделия	90	88
4	рыбные консервы и рыбная икра	87	85
5	напитки	98	98
6	жидкие концентраты	98	97

Результаты и их обсуждение

Идентификация хроматографических пиков, полученных для градуировочных растворов бензоата натрия и сорбиновой кислоты, проводилась по временам удерживания в колонке и характерным для каждого вещества спектральным отношениям.

При идентификации пиков использовалась также возможность спектрофотометрического детектора сканировать спектры. Согласно полученным данным в спектре поглощения бензоата натрия наблюдается два максимума – при длине волны 210 нм и 236 нм, а в спектре поглощения сорбиновой кислоты один максимум — при длине волны 254 нм.

На рис. 3 приведены хроматограммы градуировочного раствора, содержащего бензоат натрия и сорбиновую кислоту, при двух значениях длины волны детектирования 210 нм и 254 нм; на рис. 4 — хроматограммы экстракта пищевого продукта «Закуска рыбная», полученные при тех же условиях хроматографирования.

Согласие между временами удерживания, наблюдаемыми для хроматографических пиков градуировочных растворов и анализируемого экстракта, а также хорошее разрешение пиков подтверждают возможность разделения, идентификации и количественного определения бензоата натрия и сорбиновой кислоты при их совместном присутствии в пищевых продуктах.

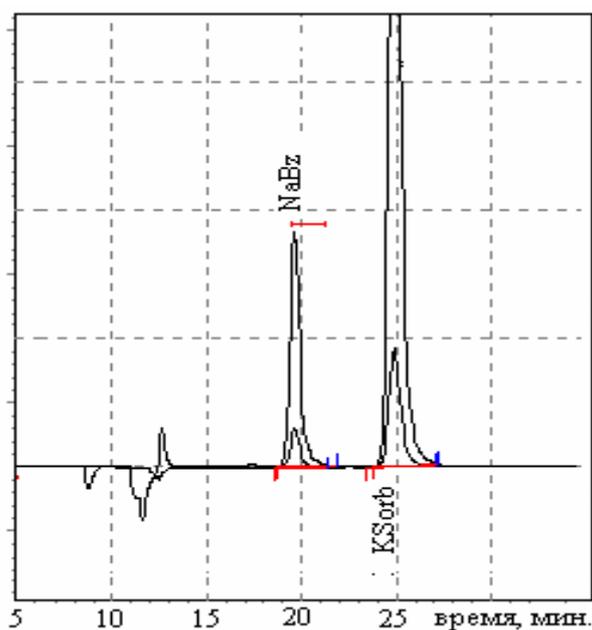


Рис. 3. Хроматограмма градуировочного раствора с массовыми концентрациями бензоата натрия 180 мг/дм^3 и сорбиновой кислоты 200 мг/дм^3

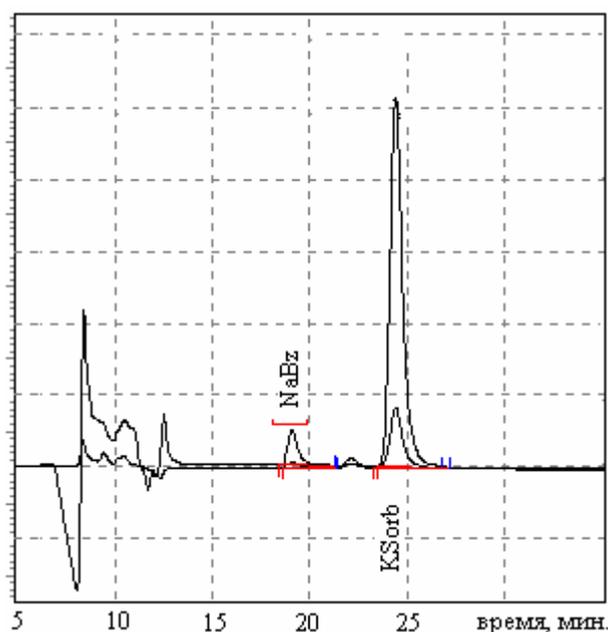


Рис. 4. Хроматограмма экстракта продукта «Закуска рыбная»

Исследование метрологических характеристик методики показало, что она обеспечивает определение консервантов на уровне концентраций, максимально допустимых в различных видах пищевой продукции. Предел обнаружения бензоата натрия и сорбиновой кислоты, определенный согласно [8,9], составляет $0,5 \text{ мг/дм}^3$. Относительное стандартное отклонение результатов определения массовой концентрации консервантов составляет 18 % для бензоата натрия и 20 % для сорбиновой кислоты.

Разработанная методика прошла метрологическую аттестацию в Харьковском государственном центре стандартизации, метрологии и сертификации.

Выводы

На основе обращенно-фазовой ВЭЖХ разработана методика определения бензоата натрия и сорбиновой кислоты при их совместном присутствии. Методика пригодна для идентификации и количественного определения консервантов на уровне максимально допустимых концентраций при контроле качества пищевой продукции следующих групп: (1) фруктовые и овощные консервы (томатная паста, соусы и кетчупы, фруктовые повидла); (2) жиросодержащие продукты (майонез, маргарин, кремы, сливочно-растительные масла); (3) хлебобулочные и кондитерские изделия; (4) рыбные консервы и рыбная икра; (5) напитки (фруктово-ягодные соки, безалкогольные, слабоалкогольные и алкогольные напитки); (6) жидкие концентраты для приготовления напитков и мороженого.

Литература

1. Закон України «Про якість та безпеку харчових продуктів і продовольчої сировини» № 194-IV від 24.10.2002.
2. Європейські вимоги до харчових добавок. Довідник. Львів, «Леонорм», 1997, 126 с.

3. “Медико-биологические требования и санитарные нормы качества продовольственного сырья и пищевых продуктов” № 5061-89 от 01.08.89.
4. “Про затвердження значень гігієнічних нормативів вмісту харчових добавок у харчових продуктах”. Постанова МОЗ України №25 від 17.07.2003р.
5. ГОСТ 228467-90 Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения бензойной кислоты.
6. ГОСТ 26181-84 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сорбиновой кислоты.
7. МВХ 08.618-2003 Продукты пищевые, пищевое сырье и напитки. Методика выполнения измерений массовой концентрации бензоата натрия и сорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Харьковский государственный центр стандартизации, метрологии и сертификации. 2003.
8. Стыскин Е.Л., Ициксон Л.Б., Брауде Е.В. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография. Химия, 1986, 288 с.
9. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография: Основы теории. Методология. Применение в лекарственной химии. Рига: Зинатне, 1988, 390 с.

Поступила в редакцию 3 июля 2005 г.

Kharkov University Bulletin. 2005. №669. Chemical Series. Issue 13(36). E.V.Dulina, V.V.Litinskaya. Determination of preservatives in foodstuff and raw materials by the method of high performance liquid chromatography.

The technique of identification and assay of chemical preservatives by a method of high performance liquid chromatography is developed. The proposed technique is capable of determining the contents of sorbic acid and sodium benzoat present simultaneously in various groups of foodstuff and food raw materials. The technique is metrologically certified and can be used at quality assurance of foodstuff.