- Возрастание результатов не по восходящей кривой,а скачкообразно - со взлётами и спадами(объясняется это изменениями физического и психологического состояния, спецификой формирования навыка);
- Интенсивный начальный рост результатов с последствующим замедлением.

Встановлення фальсифікації харчових продуктів хроматографічними методами

Н.П. Мінаєва, *здобувач;*
Л.П. Сидорова, *к.х.н.,доцент;*
Ф.О. Чмиленко, *д.х.н.,професор*
Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара

Сучасний ринок харчових продуктів пропонує недосвідченому споживачеві широкий вибір вітчизняних і імпортних продовольчих товарів. Перевіряючих організацій в Україні багато, але комплексна система контролю якості харчової продукції неефективна. Українська держава відповідає за показники безпеки, але ж показники якості та безпеки харчових продуктів - це абсолютно різні речі. Враховуючи свій ступінь відповідальності, держава не проводить ідентифікацію складу харчової продукції. Її ж зараз фальсифікують саме за якісними характеристиками

Останнім часом на ринку України присутня значна кількість фальсифікованої продукції. При вступі України в СОТ особливого місця набувають питання харчової хімії, особливо контроль якості продуктів харчування і її сертифікація. Відсутність стандартів України (ДСТУ) по багатьом позиціям, примушує хіміків-аналітиків, гігієністів, токсикологів розробляти нові методики аналогічно ISO- 1900-2000.

Метою даної роботи була розробка хроматографічних методик ідентифікації молочної продукції, які дозволили б виявляти її фальсифікацію жирами рослинного походження, наявність транс-ізомерів жирних кислот; розробка методики визначення синтетичних харчових барвників в напоях методом ОФ ВЕРХ.

Для встановлення фальсифікації масложирової продукції жирами рослинного походження використовували хроматографічні методи. Запропонована газорідинна хроматографічна методика (ГРХ) контроля якості молочної продукції, що включає стадію концентрування жиру, екстракцію водно-молочно-спиртової емульсії гексаново-ефірною сумішшю для подальшого визначення стеринової фракції.

Хроматографічний метод ідентифікації рослинних жирів в масложировій продукції Визначення фальсифікації масложирової продукції за складом стеринової фракції (а саме за вмістом рослинних стеринів) є найбільш достовірним методом, який дозволяє виявити добавки масел рослинного походження від 2% і вище. При цьому на хроматограмі фіксують піки фітостеринів, ці компоненти підтверджують факт фальсифікації.

Визначення стеринової фракції проводили на газо-рідинному хроматографі «Модель 3700» (Росія), колонка насадки OV-101 (Інтертон AW +5% поліметилсилоксанового каучуку розміром 1200 х 3 мм). Температури: інжектора – 250°С, детектора – 300°С, термостата колонки – 240°С (ізотермічний режим). Газ носій – азот, тиск на вході в інжектор 0,034 МПа.

Пробопідготовка полягає в лужному гідролізі проби масложирової продукції з наступним екстрагуванням неполярним розчинником домішок, виділення стеринової

фракції з неомиляємих речовин методом тонкошарової хроматографії (ТШХ). Для лужного гідролізу використовують етанольний розчин гідроксиду калію з концентрацією 1 моль/дм^3. До наважки зразка масою 5 г додають 50 см^3 цього розчину, вносять «кипілки», кип'ятять із зворотним холодильником 1 годину, охолоджують, додають 100 см^3 дистильованої води і екстрагують в ділильній воронці неомиляємі речовини гексаном (тричі по 50 см^3). Об'єднаний гексановий шар промивають 10% водним розчином етанолу (чотири рази по 25 см^3). Гексановий екстракт упарюють досуха на роторному випарнику. Сухий залишок розчиняють в етилацетату і очищають за допомогою тонкошарової хроматографії. Визначення розділених стеринів проводили методом капілярної ГХ/ПІД в ізотермічному режимі. При очищенні зразка методом ТШХ на пластинках Сорбфіл (ПТСХ-АФ-В-УФ) запропонована рухома фаза з оптимальним співвідношенням гексан: етилацетат (від 65:35 до 60:40 об%), а також хлороформ: етилацетат (95:5 об%). Кількість нанесеного зразка на ТШХ пластинку не повинна перевищувати 0,1 мг неомиляємої речовин, що еквівалентно 1 г зразка масложирової продукції. Нанесення зразків у вигляді окремих точок також сприяє поліпшенню результатів поділу. Застосування капілярних колонок дозволяє досягти кращого поділу піків зазначених стеринів.

Запропонована *методика хроматографічної ідентифікації якості масложирової продукції на вміст транс-ізомерів жирних кислот*, що включає стадію пробопідготовки метилюванням жирних кислот з газохроматографічним детектуванням або в тонкому шарі .

Методика передбачає виділення жиру з проби молочних продуктів з низьким вмістом жиру (менше 50%), лужний гідроліз тригліцеридів до вільних жирних кислот з подальшим отриманням реакцією етерифікації метилових ефірів жирних кислот за допомогою метилату натрію, і проведенні хроматографічного дослідження. Визначення транс-ізомерів проводиться методом газової хроматографії з розділенням на капілярній колонці в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізаційним детектуванням

Пробопідготовка заснована на лужному гідролізі тригліцеридів і отриманням реакцією етерифікації метилових ефірів жирних кислот.

Відбирають наважку аналізованої проби (заздалегідь розплавлену) масою 50–100 мг, поміщають в скляну пробірку і розчиняють в 1 мл толуолу. У толуольний розчин вводять 1 мл метилату натрію в метанолі молярною концентрацією 1 моль/л, гріють до 70–80 °С, протягом 15–20 хв. Суміш охолоджують до кімнатної температури і додають 1 мл дистильованої води і 1 мл гексану, струшують протягом 10 сек. Відокремлюють верхній органічний шар і поміщають в герметичну ємність (віалу з тефлоновою пробкою) з безводним сульфатом натрію. Отриманий фільтрат вводили в хроматограф в кількості 1 мм^3 за допомогою мікрошприца.

Ідентифікація транс-ізомерів здійснювалася нами на газо-рідинному хроматографі Shimadzu" GC - 14 B з полум'яно іонізаційним детектором. Капілярна колонка SP^{TM}-2560 (сорбент - бісціанопропілполісилоксан), завдовжки 100 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною нерухомої фази 0,2 мкм (24056). Температури інжектора і детектора – 220 °С, термостата колонки – 180°С, ізотермічний режим. Газ носій – гелій (25 см/с). Об'єм проби, що вводиться, – 0,5 мкл, ділення потоку 100:1. Тиск газу-носія на вході в інжектор 0,2 МПа, розподіл потоку на вході в колонку 1/20 (скидання в атмосферу 19/20 частин потоку на виході з інжектора). Аналіз жирнокислотного складу масел з визначенням вмісту і співвідношення цис-, транс-ізомерів жирних кислот проводився на колонці фірми (SUPELCO 595 North Harrison Road, Bellefont, PA 16823-0048 USA). Для якісної ідентифікації використовували стандартні зразки метилових ефірів жирних кислот, що містять транс-

ізомери корпорації SUPELCO (Кат. № 47792; Кат. № 47199; Кат. № 46905; Кат. № 46951; Кат. № 47885). Для кількісної оцінки використовували метод внутрішньої нормалізації Обробка хроматограм проводилася з використанням програмного забезпечення Мультихром 1,5х для Windows (Амперсенд, Росія). Як стандарт використовувалася суміш жирних кислот С18:1, С18:2, і С18:3 в розчині метилен хлориду.

Методика визначення синтетичних харчових барвникыв (СХБ). Аналіз безалкогольних напоїв на вміст СХБ виконували таким чином. Пробу газованого напою звільняли від диоксиду вуглецю струшуванням протягом 20 хвилин і від всіляких нерозчинних домішок центрифугуванням; або дегазували при зниженому тиску з подальшим фільтруванням через фільтр ПТФУ 0,2 мкм і за допомогою дозатора відбирали 5 мкл проби і хроматографували.

Кількісне визначення барбників виконували методом градуйованого графіка і добавок. Для кожного барбника готували серії розчинів в інтервалі концентрацій С мг/дм^3: 50,0 - 0,5.

Ідентифікація здійснюється за часом утримування барвників в стандартних хроматографічних умовах.

Показана можливість визначення СХБ в безалкогольних напоях методом ВЕРХ. Основним видом використання методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ.) для визначення барвників в напоях є її обернено-фазовий (ОФ) варіант з детектуванням спектрофотометрії в ультрафіолетовій (190 - 360 нм) і видимій (380 - 720 нм) області. Використання різних довжин хвиль УФ- і видимого діапазону значно розширює можливості ВЕРХ і робить визначення точнішим, селективним, при цьому виключається можливість помилкової ідентифікації барвників.

Для оптимізації умов хроматографічного розділення вибрані СХБ, найчастіше використовувані в харчовій промисловості. До їх числа відносяться азобарвники: Е-102 (Тартразін), Е-110 (Жовтий «сонячний захід»), Е-124 (Понсо 4R, Яскраво-червоний 4R), вміст яких в напоях може знаходитися в межах, мг/л: 0,4 - 18,0; 0,2 - 21,9; 0,3 - 46,3 відповідно, а також Е-122 (кармуазін) і хіноліновий барвник Е-104 (жовтий хіноліновий) Контроль вказаних речовин повинен здійснюватися експресними, чутливими методами аналізу. На підставі спектрів поглинання для СХБ вибрані наступні умови детектування: довжина хвилі 450 нм для жовтих (Е-102, Е-110, Е 104), 500 нм для червоних (Е-124, Е-122). Вивчено утримування СХБ в умовах ОФ ВЕРХ.

Вибір рухомої фази.

Вплив концентрації органічного розчинника. Дуже велика різниця в утримуванні сорбатів різної гідрофобності не дозволяє використовувати ОФ ВЕРХ для одночасного визначення більшості досліджених СХБ в ізократичному режимі елюювання. Зниження елюючої сили рухомої фази шляхом зменшення співвідношення вмісту ацетонітрила в суміші ацетонітрил – дистильована вода, приводить до кращого розділення барвників. Оптимальним є вибір рухомої фази з мінімально допустимим значенням ацетонітрила. Проте достатнього розділення не спостерігається навіть при складі РФ 10 об.% ацетонітрила - 90 об.% дистильованої води. Використання стандартних сталевих колонок з нітрільною фазою (Діасорб CN) є переважнішим і забезпечує краще розділення, чим на колонках Діасорб 130 С16 Т.

Вплив pH. Використання буферних розчинів дозволяє значно вплинути на розділення і збільшує час виходу СХБ. При використанні стандартної рухомої фази, вживаної для визначення підслащувачів і консервантів (15% ацетонітрила : 85% фосфатного буферного розчину з pH=3,2), синтетичні барвники сорбуються на колонці

і в даних умовах при даному значенні pH не детектуються. Підвищення вмісту ацетонітрила до 50% не дає позитивних результатів, на хроматограмі піки не детектуються. Зміною pH буферних розчинів можна добитися виходу одних барвників і сорбцію інших і таким чином виключити помилкову ідентифікацію піків. До кращого розділення приводить застосування РФ з оптимальним значення pH 4,0 - 5,9 і зменшенням вмісту ацетонітрилу. Змінюючи значення pH при градієнтному режимі можна добитися чіткого розділення всіх компонентів.

Значення pH буферного розчину і вміст органічного модифікатора є основними параметрами при оптимізації складу рухомої фази.

Розділення і визначення синтетичних барвників. Оскільки зазвичай в реальних зразках присутні не більше 2-4 СХБ, можна підібрати склад рухомої фази так, щоб отримати їх оптимальне розділення за мінімальний час. В оптимальних умовах в ізократичном режимі елюювання розділена модельна суміш з 3 СХБ (Е-102, Е-110, Е 104) і 2 СХБ (Е-124, Е-129). Межі виявлення складають 20-50 мкг/л. Методика була використана для визначення СХБ в напоях і сумішах синтетичних барвників. Результати досліджень підтверджені апробацією методики на реальних напоях з додаванням індивідуальних барвників (Е-102, Е-110, Е 104, Е-124, Е-122) з концентрацією 20 мг/л. Погрішність отриманих результатів не перевищує 10%. У напоях «Апельсин», «Диня» і «Соковита вишня» кількісно визначена присутність там заявлених барбників Е-110, Е-102 і Е-124 відповідно (табл.1).

Таблиця 1 – Результати визначення барвників в напоях (n=5, P=0,95)

Об’єкти аналізу (напої)	Назва та шифр барвника	Знайдено C±Δ, мг/дм^3	S_r
«Апельсин»	Жовтий «Сонячний захід» Е-110	12,51±0,51	0,042
«Диня»	Тартразин Е-102	6,10±0,28	0,046
«Соковита вишня»	Понсо 4R Е-124	11,26±0,47	0,041

Таким чином, розроблена хроматографічна методика з спектрофотометричним детектуванням у видимому діапазоні для ідентифікації СХБ (Е 102, Е 110, Е 124, Е 104, Е 122) в безалкогольних газованих напоях.

Розроблена хроматографічна методика ідентифікації масложирової продукції на вміст транс-ізомерів, що включає стадію пробопідготовки метилюванням жирних кислот з газохроматографічним детектуванням або в тонкому шарі .

Запропонована газорідинна хроматографічна методика ідентифікації якості молочних продуктів з високим вмістом жиру та низьким вмістом жиру, що включає стадію концентрування жиру екстракцію водно-молочно-спиртової емульсії гексаново-ефірною сумішшю для подальшого ГРХ визначення стеринової фракції. Уточнена кількість зразка, що наноситься на ТШХ пластинку: вона не повинна перевищувати 0,1 міліграм неомиляємих речовин, що еквівалентно 1,0 – 1,5 г зразка масложирової продукції. Запропоновано використовувати в тонкошаровій хроматографії розділення як рухому фазу суміш розчинників хлороформ-етилацетат в співвідношенні (90:10 об%).