



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **139712** (13) **U**
(51) МПК (2019.01)
G01N 33/00
G01N 33/14 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2019 07880	(72) Винахідник(и): Бочарова Оксана Володимирівна (UA), Решта Сєнтябріна Петрівна (UA), Данилова Олена Іванівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 11.07.2019	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.01.2020	(73) Власник(и): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.01.2020, Бюл.№ 1	

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ НАЯВНОСТІ АРОМАТИЧНИХ ВУГЛЕВОДНІВ В ХАРЧОВИХ ПРОДУКТАХ

(57) Реферат:

Спосіб визначення наявності ароматичних вуглеводнів в харчових продуктах передбачає підготовку проби, введення кислотного реагенту, кип'ятіння проби з кислотним реагентом на водяній бані і наступне визначення ароматичних вуглеводнів в парогазовій фазі. Як кислотний реагент використовують суміш концентрованих нітратної та сульфатної кислот, при їх співвідношенні 1:1, а кип'ятіння здійснюється 10-20 хв.

UA 139712 U

UA 139712 U

Корисна модель належить до галузі харчової промисловості, зокрема до методів дослідження безпечності харчових продуктів, і може бути використана у соковій галузі харчової промисловості та установах, що контролюють якість та безпеку плодівих соків.

Відомий спосіб встановлення факту введення бензоатів в плодівий сік шляхом визначення присутності бензойної кислоти та продуктів її взаємодії з речовинами редокс-системи соку, а саме бензилового спирту або толуолу завдяки порівнянню редокс-потенціалу соку зі значеннями відомого значення дослідного зразка та методом хроматомас-спектрометричного дослідження (Патент України 77811 МПК G01N 30/00 G01N 33/00). Спосіб включає відбір проби, підготовку проби, проведення хроматомас-спектрометричного дослідження, оцінювання результатів. У пробі вимірюють редокс-потенціал при $pH=3$, порівнюють його значення з редокс-потенціалом системи "аскорбінова кислота-дегідроаскорбінова кислота" при цьому ж значенні активної кислотності та визначають присутність бензойної кислоти та продуктів її взаємодії з речовинами редокс-системи соку, а саме бензилового спирту або толуолу, в залежності від строку зберігання соку та величини його редокс-потенціалу.

Спосіб є достатньо точним, але недоліком є необхідність проведення двох стадій процесу: визначення спочатку редокс-потенціалу, порівняння його з редокс-потенціалом системи "аскорбінова кислота-дегідроаскорбінова кислота", а потім додаткове дослідження за допомогою хроматомас-спектрометрії, за яким роблять остаточний висновок. Крім того, за допомогою цього способу можливо визначити лише такі продукти відновлення бензойної кислоти як бензиловий спирт і толуол. При взаємодії натрієвої або калієвої солі бензойної кислоти з аскорбіновою кислотою, яка завжди наявна в плодівих соках або додається як консервант, відбувається відновлення до бензолу, який є канцерогеном і за допомогою вищевказаного способу не ідентифікується, обов'язковим є здійснення хроматомас-спектрометрії.

Найбільш близьким за технічною суттю до запропонованої корисної моделі є газохроматографічний спосіб кількісного визначення ароматичних (бензол, толуол, етилбензол, о-, м-, п-ксиліл) вуглеводнів у біосередовищах (кров), що забезпечує визначення ароматичних вуглеводнів в діапазоні концентрацій: бензол - $0,005-0,1$ мкг/см³; толуол - $0,01-0,1$ мкг/см³; етилбензол - $0,007-0,2$ мкг/см³; п-, м-ксиліл - $0,014-0,1$ мкг/см³; о-ксиліл - $0,03-0,2$ мкг/см³. Спосіб оснований на попередньому виділенні ароматичних вуглеводнів з біологічного матеріалу шляхом нагрівання об'єкта і подальшого газохроматографічного аналізу парогазової фази. Вимір концентрації ароматичних вуглеводнів виконують методом газової хроматографії з полум'яно-іонізаційним детектуванням. Визначенню не заважають ацетон, етанол і інші спирти. Спосіб є дуже точним, але вимагає попередньої підготовки хроматографічної колонки, приготування стандартних сумішей, встановлення градувальних характеристик на спеціальних градувальних сумішах, відбору і підготовки проб, який полягає у виділенні з проби суміші ароматичних вуглеводнів за допомогою кип'ятіння на водяній бані з підкисленням до 10 % розчином етандієвої (щавелевої) кислоти, відбору парогазової фази, введення її в колонку хроматографа. За даними приладу розраховують площу піка та за градувальники характеристики визначають вміст ароматичних вуглеводнів в біопробі (див. "Сборник методических указаний. 4.1. Методы контроля. Химические факторы" МУК 4.1.763-4.1.779-99. Определение химических соединений в биологических средах).

Цей спосіб вибраний як найближчий аналог.

Найближчий аналог і спосіб, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

- підготовка проби до проведення аналізу;
- кип'ятіння проби з кислотним реагентом на водяній бані;
- визначення ароматичних вуглеводнів в парогазовій фазі.

Але спосіб за найближчим аналогом має наступні недоліки:

- він не пристосований для визначення наявності бензолу та його похідних у харчових продуктах;
- необхідним є попереднє градування хроматографа на спеціальних градувальних сумішах;
- наявність етапу з переведенням біопробы у газопарову фазу не передбачає визначення наявності ароматичних вуглеводнів у складі твердих часточок продуктів;
- для проведення дослідження необхідна наявність хроматографа та висококваліфікованого персоналу для роботи з ним, зокрема пов'язаними з калібруванням та наповненням колонки нерухомою фазою з найкращою ефективністю утримання та її очищення і регенерації.

За допомогою бензоату натрію консервують фрукти, джеми, желе, м'ясо, рибу, напівфабрикати, маргарин, майонез, кетчуп та напої. Часто цю добавку для посилення ефекту поєднують з іншими консервантами. У молочні продукти його вводять спільно з сорбатом калію,

щоб посилити пригнічення молочнокислих бактерій. А наявність молочної кислоти дозволяє підвищити консервуючі властивості обох компонентів. Встановлено максимально допустимі рівні вмісту бензойної кислоти, мг/кг: для плодово-ягідних пюре, пульпи (напівфабрикати) - не більше 1000; для безалкогольних напоїв - не більше 150. Безумовно допустима доза бензойної кислоти для людини - до 5 мг/кг маси тіла, умовно допустима -5-10 мг/кг маси тіла. Допускається використання бензоатів у виробництві: безалкогольних, слабоалкогольних напоїв, вин та алкогольних напоїв на основі вина у кількості до 1180 мг/л; в консервованих морепродуктах (рибні пресерви, рибна ікра і т.п.) 1180-2360 мг/кг або мг/л; повидла, плодово-ягідного пюре, сухофруктів - до 826 мг/кг; маргарину та соусів -1180-2360 мг/кг. ПДК толуолу у воді 0,500 мг/л, бензолу - 0,010 мг/л, а фенолу або суміші кумолів - 0,050 мг/л.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб визначення наявності ароматичних вуглеводнів в харчових продуктах, в якому шляхом використання іншого кислотного реагенту, а також інших умов здійснення способу досягається спрощення і прискорення визначення наявності бензолу та його похідних.

Поставлена задача вирішується способом визначення наявності ароматичних вуглеводнів в харчових продуктах, що передбачає підготовку проби до проведення аналізу, введення кислотного реагенту, кип'ятіння проби з кислотним реагентом на водяній бані, визначення ароматичних вуглеводнів в парогазовій фазі, згідно з корисною моделлю, як кислотний реагент використовується суміш концентрованих нітратної та сульфатної кислот, при їх співвідношенні 1:1, а кип'ятіння здійснюється 10-20 хв.

При цьому кислотний реагент беруть в кількості 0,025-0,045 г на 10 см³ підготовленої проби.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю заявлених ознак і досягненням заявленого технічного результату можна пояснити наступним.

При нітруванні бензолу та його похідних нітратно-сульфатними сумішами в результаті реакції утворюється низка похідних, різних за ізомерним складом, але всі вони мають різкий неприємний запах (сморід), за яким можливо їх визначити. При концентраціях бензолу у розчині більше 0,005 мг/л відчувається його власний різкий запах - запах тваринної шкіри, при нітруванні він переходить у сморід. Оскільки співвідношення ізомерів визначається розподілом зарядів у вихідній молекулі ароматичного вуглеводня, тобто, термодинамічними параметрами, то зміни умов нітрування за умови збереження складу нітруючого агента, не сильно впливають на перебіг реакції. При надлишку нітратної кислоти утворюються полінітропохідні та можливе часткове окиснення, в результаті якого можуть утворитися нітропохідні бензальдегіду, бензенової кислоти, фенолу та при більш повному окисненні - нітропохідні бензолу.

1. Хід аналізу рідкої харчової продукції.

Рідку продукцію (напої, соки, молоко тощо) у кількості 10 см³ поміщають у пробірку і додають 2 краплі нітрувальної суміші, що складається з концентрованих нітратної та сульфатної кислот у співвідношенні 1:1.

Для газованих рідин здійснюють попередню дегазацію перемішуванням розчину.

Пробу рідкого продукту, з нітрувальною сумішшю поміщають на водяну баню при температурі 98 °С на 10-20 хв, потім визначають наявність ароматичних вуглеводнів органолептичним методом. Наявність неприємного з гірчинкою смороду свідчить про сумарну присутність бензолу та його похідних у кількостях більше, ніж 1,3-1,8 мг/см³.

2. Хід аналізу твердої та густої харчової продукції.

В пробірки вносять наважку подрібнених вафель, печива чи майонезу масою m=1 г, додають 10 см³ дистильованої води, струшують. Далі здійснюють нітрування за допомогою 2 крапель нітруючої суміші і кип'ятять 5-15 хв. Наявність бензолу та його похідних визначають органолептично за запахом.

3. Приготування розчинів бензолу та його похідних для формування суміші модельних зразків.

У колбу на 100 см³ з дистильованою водою вводять по 0,1 см³ бензолу, толуолу, етилбензолу, п-, м-, о-ксилолу; додають 74,8 мг бензоату натрію. Ваговий вміст компонентів в початковій стандартній суміші складає (з урахуванням щільності і вмісту основної речовини): бензол - 0,879 мг/см³, толуол - 0,866 мг/см³, етилбензол - 0,867 мг/см³, п-, м-, о-ксилол - 0,88 мг/см³, бензоат натрію - 0,748 мг/см³. Сумарна кількість бензолу та його похідних - 6,0 мг/см³.

Технічним результатом даного способу є:

- спрощення процесу;
- прискорення процесу;
- можливість визначення наявності ароматичних вуглеводнів в різних видах харчових продуктів.

Спрощення досягається за рахунок:

- використання сенсорного (органолептичного) визначення продуктів нітрування;
- відсутня необхідність попередньої складної пробопідготовки.

Соки і соковмісні напої з об'ємною часткою м'якоти понад 10 % (з моркви, кабачка, манго, томату, банана та ін.) при аналізі зазвичай заздалегідь розбавляють водою в співвідношенні 1:5 (за об'ємом) для освітлення розчину і центрифугують. При запропонованому методі в освітленні немає необхідності. Більш того, в соках з м'якоттю за рахунок адсорбції нітропохідних на твердих частинках відбувається їх концентрування та визначення проходить швидше, ніж у прозорих середовищах. Крім того, немає необхідності в фільтруванні розчину, навіть при визначенні наявності похідних бензину в твердих продуктах (овочі, фрукти, м'ясо, сир тощо).

Пробопідготовка твердої сировини полягає в подрібненні та суспендуванні у воді, потім нітрування здійснюється аналогічно рідким та в'язким продуктам.

Нітрування здійснюється шляхом додавання до водної суспензії нітруючої суміші, що складається з концентрованих нітратної та сульфатної кислот у співвідношенні 1:1. Досліджуєми зразок харчової продукції об'ємом 5 см³ в пробірці поміщають на водяну баню, доводять до кипіння, додають 1 краплю нітруючої суміші і кип'ятять 10-15 хв. Продукти нітрування ароматичних вуглеводнів - похідних бензолу мають різкий неприємний запах, який визначають органолептично. При наявності бензолу у розчині різкий тваринний запах шкіри, притаманний ароматичному вуглеводню, переходить у сморід. Запах викликає появу гіркоти у носоглотці та першіння у горлі.

Запропонований спосіб є експрес-методом, оскільки дозволяє швидко здійснити аналіз на наявність потенційно небезпечних ароматичних вуглеводнів, що важливо для визначення безпеки харчових продуктів і продовольчої сировини та екологічної безпеки, а також моніторингу якості харчових систем. Об'єктом дослідження можуть бути консервовані та підготовані для зберігання свіжі овочі, фрукти, коренеплоди, зелень, соки, десерти, консервована продукція, пряно-ароматичні суміші, каші та локшина швидкого приготування, м'ясо-молочна продукція.

Здійснення заявлюваного способу пояснюється наступними прикладами.

Приклад 1. Об'єкт дослідження - сік яблучний.

Свіжевичавлений яблучний сік у кількості 10 см³ поміщають у пробірку і додають 2 краплі нітрувальної суміші, що складається з концентрованих нітратної та сульфатної кислот у співвідношенні 1:1.

Пробу рідкого продукту з нітрувальною сумішшю поміщають на водяну баню при температурі 98 °C на 10 хв, потім визначають наявність ароматичних вуглеводнів органолептичним методом. Сторонній неприємний запах був відсутній. Відомості наведені у Таблиці 1.

Приклад 2. Об'єкт дослідження - помаранчевий нектар пастеризований.

До помаранчевого нектару у пробірці, взятого в кількості 10 см³ додають 2 краплі нітрувальної суміші. Далі ведуть дослідження аналогічно прикладу 1, тільки час витримування на водяній бані був 20 хв. Після витримування визначили наявність характерного смороду. Дані наведені у Таблиці 1.

Приклади 3-7 здійснювали аналогічно прикладу 1, але змінювали об'єкт дослідження і час витримки на водяній бані. Дані наведені у таблиці 1.

Приклад 8. Об'єкт дослідження - майонез столовий.

В пробірку вносили наважку майонезу масою m=1 г, додавали 9 см³ дистильованої води, струшували. Далі здійснювали нітрування за допомогою 2 крапель нітруючої суміші і кип'ятили 15 хв. Відчувався неприємний запах, що свідчило про наявність похідних ароматичних вуглеводнів. Дані наведені у Таблиці 1. Для контролю здійснили визначення наявності похідних бензолу хроматографічним методом. Відомості наведені на Фіг. 1. В пробі, крім бензоату натрію, за часом утримання знайдений сорбат калію.

Приклад 9. Об'єкт дослідження - томатна паста.

Дослід здійснювали аналогічно прикладу 8. Відомості наведені у Табл. 1. В пробі, крім бензоату натрію, за часом утримання знайдений сорбат калію. Підтвердження наявності консервантів за допомогою методу ВЕГРХ наведено на Фіг. 2.

Приклад 10.

В пробірку вносили наважку подрібненого печива масою m=1 г, додавали 10 см³ дистильованої води, струшували 10 хв, залишали для відділення осаду від розчинника. Далі здійснювали нітрування за допомогою 2 крапель нітруючої суміші і кип'ятили 20 хв. Неприємного запаху не відчувалося. За даними хроматографічної аналізу у зразку похідних ароматичних вуглеводнів 0,05 мг/г. Дані наведені у Таблиці 1.

Приклад 11.

В пробірку вносили наважку подрібнених макаронних виробів швидкого приготування масою $m=1$ г, додавали 10 см^3 дистильованої води, струшували 10 хв, залишали для відділення осаду від розчинника. Далі здійснювали нітрування за допомогою 2 крапель нітруючої суміші і кип'ятили 15 хв. Наявність неприємного запаху свідчила про присутність ароматичних вуглеводнів. За даними хроматографічного аналізу у зразку виявлено $5,0 \text{ мг/г}$ бензоатів. Дані наведені у Таблиці 2.

Приклад 12.

В пробірку вносили наважку консервованої ікри мойви масою $m=1$ г, додавали 10 см^3 дистильованої води, струшували 5 хв, залишали для відділення осаду від розчинника. Далі здійснювали нітрування за допомогою 2 крапель нітруючої суміші і кип'ятили 15 хв. Неприємний запах свідчив про наявність бензоатів. На упаковці наявність бензоату натрію (E211) - до 2 мг/г . За даними хроматографічного аналізу - $2,8 \text{ мг/г}$ - відповідно вимогам у ікри консервованій можлива наявність $2,36 \text{ мг/г}$. Дані наведені у Таблиці 1.

Додатково були проведені дослідження з метою підтвердження достовірності способу.

Спочатку приготували модельну суміш ароматичних вуглеводнів із різним їх вмістом для визначення межі чутливості способу.

В 5 пробірок наливали: в першу дистильовану воду в кількості 10 см^3 , в другу - 9 см^3 дистильованої води, до якої додавали 1 см^3 модельної суміші ароматичних вуглеводнів, в третю - 8 см^3 дистильованої води, 2 см^3 модельної суміші ароматичних вуглеводнів, в четверту - 7 см^3 дистильованої води, 3 см^3 модельної суміші ароматичних вуглеводнів (бензол, толуол, м-, п-, о- ксилол), в п'яту - 6 см^3 дистильованої води, 4 см^3 модельної суміші ароматичних вуглеводнів. Відповідно, сумарний вміст ароматичних вуглеводнів в пробірках був: в $1-0 \text{ мг/см}^3$, $2-0,6 \text{ мг/см}^3$, $3-1,2 \text{ мг/см}^3$, $4-1,8 \text{ мг/см}^3$, в $5-2,4 \text{ мг/см}^3$. В кожен пробірку додавали 2 краплі нітрувальної суміші, що складається з концентрованих нітратної та сульфатної кислот у співвідношенні 1:1. Пробірку з пробою та нітруючим агентом поміщають на водяну баню при температурі 98°C на 15 хв, потім визначають наявність ароматичних вуглеводнів органолептичним методом за запахом. Відомості наведені в Табл. 2. Наявність неприємного з гірчинкою смороду відчувалася при сумарній присутності бензолу та його похідних у кількості $1,2 \text{ мг/см}^3$, легко визначалася при наявності $1,8 \text{ мг/см}^3$, при кількості $2,4 \text{ мг/см}^3$ чітко визначалася.

Далі модельну суміш у кількості 2 см^3 ($1,2 \text{ мг/см}^3$) вводили в зразки харчової продукції і далі здійснювали нітрування як у прикладі 1. Результати дослідження (приклади 13-18), наведені в Табл. 3, свідчать, що в зразках харчової продукції містяться консерванти - похідні ароматичних вуглеводнів, при цьому їх кількість перевищує кількість введеної модельної суміші вуглеводнів, що свідчить про наявність у зразках відповідних консервантів. Так, у зразку 13 наявний власний консервант (бензоат натрію) у кількості $0,12 \text{ мг/см}^3$, у зразку 14 - суміш ароматичних вуглеводнів у кількості $0,15 \text{ мг/см}^3$, у зразку 15 - суміш ароматичних вуглеводнів - $0,12 \text{ мг/см}^3$, у зразку 16 - суміш ароматичних вуглеводнів - $0,18 \text{ мг/см}^3$, у зразку 17 - суміш ароматичних вуглеводнів - $0,21 \text{ мг/см}^3$, у зразку 18 - суміш ароматичних вуглеводнів - $0,20 \text{ мг/см}$ і т.д.

Таблиця 1

Результати дослідження впливу нітрування на зразки харчової продукції

№	Зразок	допустимий вміст вуглеводнів	Знайдено, $\text{мг/см}^3(\text{мг/г})$	висновок
1	2	3	4	5
1	сік яблучний	не більше $0,150 \text{ мг/см}^3$	-	продукт безпечний
2	помаранчевий нектар	не більше $0,150 \text{ мг/см}^3$	0,8	продукт небезпечний
3	сік яблуко-виноград	не більше $0,150 \text{ мг/см}^3$	0,09	продукт безпечний
4	сік яблуко-морква	не більше $0,150 \text{ мг/см}^3$	0,11	продукт безпечний
5	сік персиковий	не більше $0,150 \text{ мг/см}^3$	0,13	продукт безпечний
6	сік яблуко-ананас	не більше $0,150 \text{ мг/см}^3$	0,14	на допустимому рівні
7	сік мультифрут	не більше $0,150 \text{ мг/см}^3$	0,135	на допустимому рівні

Таблиця 1

Результати дослідження впливу нітрування на зразки харчової продукції

№	Зразок	допустимий вміст вуглеводнів	Знайдено, мг/см ³ (мг/г)	висновок
1	2	3	4	5
8	майонез столовий	не більше 0,5 мг/г	0,35	на допустимому рівні
9	томатна паста	не більше 2,36 мг/г	1,2	на допустимому рівні
10	печиво	не більше 0,150 мг/г	0,05	продукт безпечний
11	макаронні вироби швидкого приготування	не більше 7 мг/г	5,0	на допустимому рівні
11	консервована ікра мойви	не більше 2,36 мг/г	2,8	перевищення рівня, продукт небезпечний

Таблиця 2

Результати дослідження впливу нітрування на суміш ароматичних вуглеводнів

номер зразка	1	2	3	4	5
вміст вуглеводнів, мг/см	0	0,6	1,2	1,8	2,4
результати дослідження	-	-	+	++	+++

Таблиця 3

Результати дослідження впливу нітрування на зразки харчової продукції з додаванням суміші ароматичних вуглеводнів

№	Зразок	допустимий вміст вуглеводнів	Знайдено, мг/см ³ (мг/г)	висновок
1	2	3	4	5
13	сік яблучний з додаванням модельної суміші	не більше 0,150 мг/см ³	1,32	продукція небезпечна
14	сік яблуко-виноград з додаванням модельної суміші	не більше 0,150 мг/см ³	1,35	продукція небезпечна
15	сік яблуко-морква з додаванням модельної суміші	не більше 0,150 мг/см ³	1,32	продукція небезпечна
16	сік персиковий з додаванням модельної суміші	не більше 0,150 мг/см ³	1,38	продукція небезпечна
17	сік яблуко-ананас з додаванням модельної суміші	не більше 0,150 мг/см ³	1,41	продукція небезпечна
18	сік мультифрут з додаванням модельної суміші	не більше 0,150 мг/см ³	1,40	продукція небезпечна

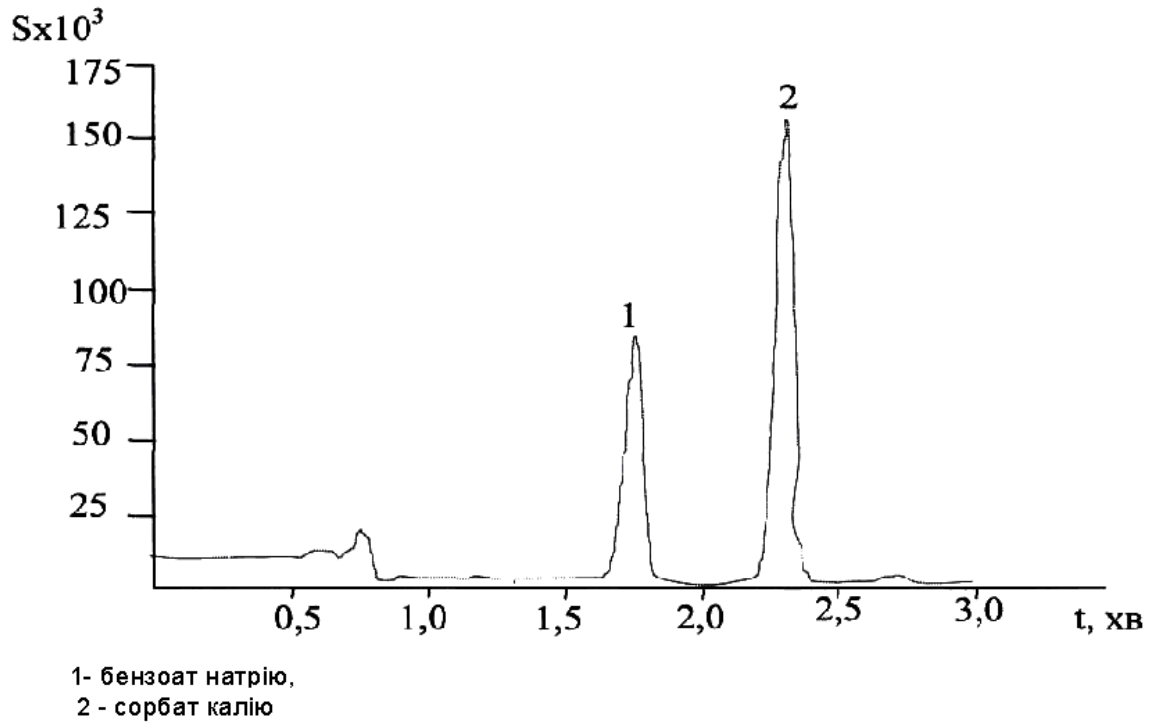
5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

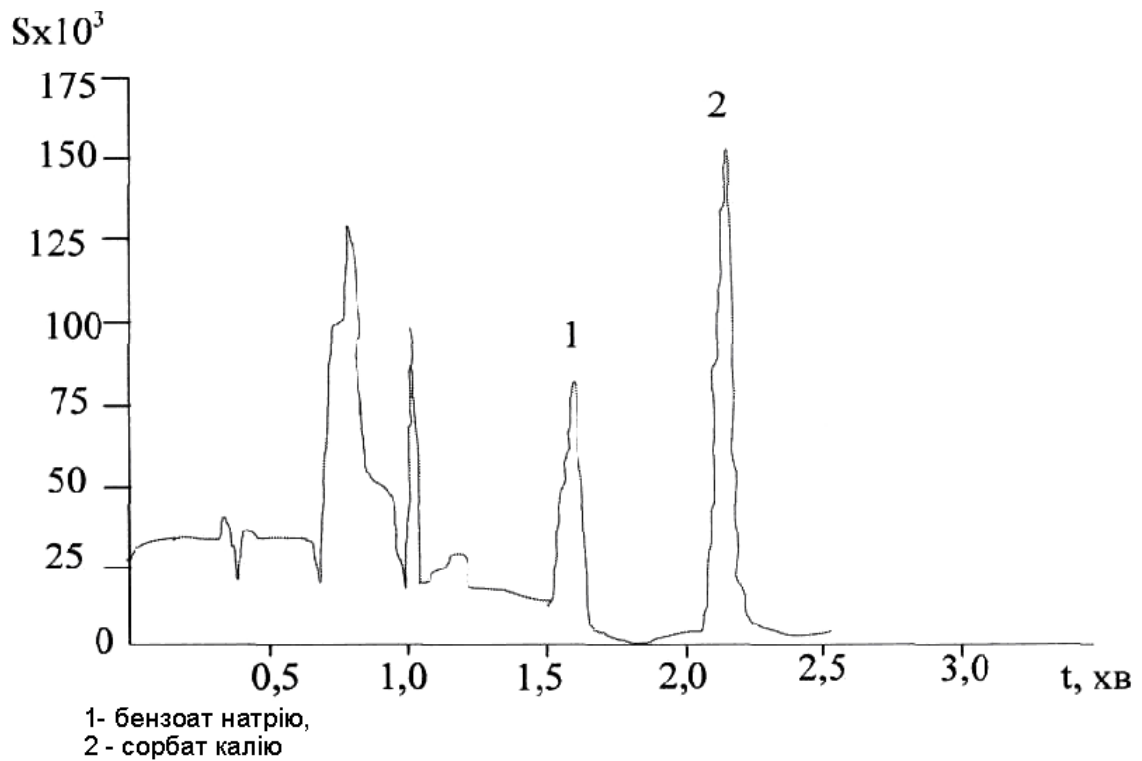
1. Спосіб визначення наявності ароматичних вуглеводнів в харчових продуктах, що передбачає підготовку проби, введення кислотного реагенту, кип'ятіння проби з кислотним реагентом на водяній бані і наступне визначення ароматичних вуглеводнів в парогазовій фазі, який відрізняється тим, що як кислотний реагент використовують суміш концентрованих нітратної та сульфатної кислот, при їх співвідношенні 1:1, а кип'ятіння здійснюється 10-20 хв.

10

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що кислотний реагент беруть в кількості 0,025-0,045 г на 10 см³ підготованої проби.



Фіг. 1



Фіг. 2

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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