

МЕТОДИКА КОНТРОЛЯ СОДЕРЖАНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

*Е. И. Полянских**, *Л. Л. Бельшева*, *Т. А. Федорова*,
Е. В. Филатченкова, *Е. М. Плешак*

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,
г. Минск, Республика Беларусь, *e-mail: alena.ip@mail.ru

Поступила в редакцию 20.03.2019 г.

Аннотация – Разработана и валидирована методика одновременного определения 17 синтетических красителей (СК) (Е 102, Е 104, Е 110, Е 121, Е 122, Е 123, Е 124, Е 127, Е 128, Е 129, Е 131, Е 132, Е 133, Е 142, Е 143, Е 151, Е 155) в различных группах пищевой продукции, включая молочную продукцию и продукты с высоким содержанием белка. Методика характеризуется простотой, надежностью, высокой чувствительностью и может быть легко применима в аккредитованных лабораториях. Процедура основана на экстракции красителей из пищевой продукции водно-метанольным раствором аммиака, центрифугировании, декантировании, доведении рН экстракта до 7 и количественном определении методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием. Для очистки экстрактов от липидов использовали гексан, молочные белки осаждали с помощью реактивов Карреза I, II. Хроматографическое разделение СК осуществлялось на обращенно-фазной колонке C18 (Zorbax XDB, 150 x 4,6 мм, 5,0 мкм) в режиме градиентного элюирования. Использовали подвижную фазу состава: А – 1,5 % раствор ацетата аммония, В – метанол : ацетонитрил (80 : 20). Предел количественного определения СК составил 1–10 мг/кг. Максимальная расширенная неопределенность полученных результатов не превысила 23% для каждого синтетического красителя.

Ключевые слова: синтетические красители, ВЭЖХ, определение, экстракция, пищевая продукция.

CONTROL PROCEDURE FOR SYNTHETIC DYES CONTENT IN FOOD PRODUCTS

*A. I. Palianskikh**, *L. L. Belyshava*, *T. A. Fiodarava*,
E. V. Filatchankava, and *Y. M. Pliashak*

Republican Unitary Enterprise “Scientific Practical Center of Hygiene”,
Minsk, Republic of Belarus, *e-mail: alena.ip@mail.ru

Received March 20, 2019

Abstract – An analytical procedure for simultaneous determination of 17 synthetic dyes (i.e. E 102, E 104, E 110, E 121, E 122, E 123, E 124, E 127, E 128, E 129, E 131, E 132, E 133, E 142, E 143, E 151, and E 155) in different kinds of food products, including dairy food and high-protein food products, has been developed and validated. The procedure is characterized by simplicity, reliability, high sensitivity and can be easily applied in accredited laboratories. The workflow runs starting from the extraction of dyes from food products with an aqueous-methanol solution of ammonia followed by centrifugation, decantation, adjusting the extract pH value to 7 and subsequent quantitative determination using high performance liquid chromatography with diode array detection. Hexane is used to purify extracts from lipids; milk proteins are precipitated using Karrez I, II reagents. Chromatographic separation of synthetic dyes is carried out on a C18 reverse phase column (Zorbax XDB, 150 x 4.6 mm, 5.0 μm) in gradient elution mode. The mobile phase is as follows: A – 1.5% solution of ammonium acetate, B – methanol: acetonitrile (80 : 20). The quantitative limit for the synthetic dyes varies in the range of 1–10 mg/kg. The maximum expanded uncertainty of the results does not exceed 23% for each synthetic dye.

Keywords: synthetic dyes, HPLC, determination procedure, extraction, food products.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в пищевой промышленности широко используются красители. Их добавляют в пищевую продукцию для восстановления окраски, повышения интенсивности природного цвета, окрашивания бесцветных продуктов [1]. Синтетические красители (СК) имеют следующие преимущества перед натуральными: устойчивость к воздействию света, широкое разнообразие цветов, относительно низкая стоимость, поэтому производители все чаще отдают им предпочтение. Но СК могут быть канцерогенами, мутагенами и аллергенами. Некоторые СК запрещены к использованию, для других установлено предельно допустимое содержание в пищевых продуктах. Использование СК в пищевой продукции регламентируется сводом пищевых международных стандартов (Кодекс Алиментариус), принятых Международной комиссией ФАО/ВОЗ [2], директивами Европейского союза [3, 4], а также законодательной базой каждого государства. В Республике Беларусь (РБ) и в государствах-членах Евразийского экономического союза (ЕАЭС) в соответствии с санитарно-гигиеническими требованиями, 13 СК разрешены к использованию при производстве пищевых продуктов. Их содержание нормируется и не должно превышать 50–500 мг/кг в зависимости от природы красителя и вида готовой продукции. При производстве продуктов для детского питания запрещено использовать СК [5, 6].

Однако известны случаи несоблюдения норм и требований, а также использования красителей для фальсификации пищевых продуктов путем их подкрашивания, не предусмотренного рецептурой и технологией. При этом отсутствие единого подхода к оценке безвредности СК привело к тому, что один и тот же краситель может быть разрешен к применению в одной стране, но запрещен в другой (таблица 1). Все выше изложенное обуславливает необходимость проведения строгого контроля содержания СК в пищевых продуктах, произведенных не только на территории Республики Беларусь и государств-членов ЕАЭС, а так же в импортируемой пищевой продукции.

Высокоэффективная жидкостная хроматография является одним из основных методов исследования, применяемым при анализе синтетических красителей в пищевой продукции [8–19], и лежит в основе ряда аттестованных методик. Однако методики, действующие на территории государств-членов Евразийского экономического союза, обычно включают в себя исследование напитков и сахаристых кондитерских изделий, при этом практически отсутствуют аттестованные методики по определению СК в молочной продукции и продуктах с высоким содержанием белка (рыбных продуктах и мясных изделиях). Кроме того, имеющиеся методики не охватывают весь спектр красителей, используемых в пищевой промышленности [8–11].

В связи с этим целью данной работы явилась разработка методики, позволяющей быстро, с высокой надежностью и достоверностью определять регламентируемые синтетические красители (13 СК, разрешенных к использованию при производстве пищевых продуктов в государствах-членах Евразийского экономического союза, а также 4 СК, запрещенных к

применению на территории данных государств) во всех видах пищевой продукции методом ВЭЖХ, а также ее метрологическая аттестация.

Таблица 1. Синтетические красители, разрешенные (+) и неразрешенные (-) к использованию при производстве пищевой продукции в некоторых странах

Синтетический краситель	Е номер	ЕАЭС, РБ [5, 6]	Европейский Союз [3, 4]	Кодекс Алиментариус [2]	США [7]
Тартразин	Е 102	+	+	+	+
Желтый хинолиновый	Е 104	+	+	+	-
Желтый солнечный закат	Е 110	+	+	+	+
Цитрусовый красный	Е 121	-	-	-	+
Азорубин (кармуазин)	Е 122	+	+	+	-
Амарант	Е 123	-	+	+	-
Понсо 4R	Е 124	+	+	+	-
Эритрозин	Е 127	-	+	+	+
Красный 2G	Е 128	-	-	-	-
Красный очаровательный АС	Е 129	+	+	+	+
Синий патентованный V	Е 131	+	+	-	-
Индигокармин	Е 132	+	+	+	+
Блестящий синий FCF	Е 133	+	+	+	+
Зеленый S	Е 142	+	+	-	-
Зеленый прочный FCF	Е 143	+	-	+	+
Бриллиантовый черный PN	Е 151	+	+	+	-
Коричневый FK	Е 154	-	+	-	-
Коричневый HT	Е 155	+	+	+	-
Оранжевый B	-	-	-	-	+

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы, материалы, оборудование

В качестве стандартных образцов использовали СК: тартразин (85,0%, Acros Organics, Индия); желтый хинолиновый (85,1%, Chem-Impex International, США); желтый солнечный закат (90,0%, Sigma-Aldrich, Индия); цитрусовый красный (98,5%, Sigma-Aldrich, Швейцария); азорубин (90,0%, Sigma-Aldrich, Китай); амарант (85,0% Sigma-Aldrich, Мексика); понсо 4R (99,0%, Sigma-Aldrich, Китай); эритрозин (86,0%, Chem-Impex International, США); красный 2G (98,0%, Sigma-Aldrich, США); красный очаровательный АС (80,0%, Sigma-Aldrich, Индия); синий патентованный V (87,44%, Chem-Impex International, США); индигокармин (89,0%, Sigma-Aldrich, Индия); блестящий синий FCF (86,2%, Chem-Impex International, США); зеленый S (86,5%, Chem-Impex International, США); зеленый прочный FCF (96,0%, Chem-Impex International, США); бриллиантовый черный PN (82,9%, Chem-Impex International, США); коричневый HT (71,3%, Institute of Leather Industry, Польша).

Использовали ацетонитрил и метанол для ВЭЖХ ($\geq 99,9\%$, Sigma-Aldrich, Индия), *n*-гексан для ВЭЖХ ($\geq 99,9\%$); ацетат аммония ($\geq 97\%$, «Carl Roth»), аммиак водный (ос.ч., «Сигма Тек»). Условия хроматографирования оптимизировали на колонке Zorbax XDB C18 длиной 150 мм, с внутренним

диаметром 4,6 мм и с зернением сорбента 5,0 мкм (Agilent Technologies, Германия). Использовали центрифугу охлаждаемую 3-18К (Sigma, Германия), электровстряхиватели Multi Reax и Reax Control (Heidolph, Германия). Количественное определение СК проводили с помощью жидкостного хроматографа, оснащенного диодно-матричным детектором Agilent 1200 (Agilent Technologies, Германия).

Приготовление градуировочных растворов

Из основных стандартных растворов СК с концентрацией 250,0 мкг/мл, полученных в результате растворения навески красителя в дистиллированной воде с учетом содержания основного вещества в стандартном образце, готовили серию градуировочных растворов смеси 15 СК с концентрацией 0,5–10,0 мкг/мл, за исключением СК Е 155 (коричневый НТ) и Е 121 (цитрусовый красный). Градуировочные растворы СК Е 155 с концентрацией 5,0–50,0 мкг/мл готовили отдельно. Основной и градуировочный растворы СК Е 121 были приготовлены в результате растворения навески в метаноле и дальнейшего разбавления основного стандартного раствора метанолом до концентрации 0,5–10,0 мкг/мл.

Условия хроматографирования

Идентификацию синтетических красителей проводили в зависимости от цвета и спектральных характеристик изучаемых соединений на 5 длинах волн. Группа желтых СК (Е 102, Е 104, Е 110) – при длине волны 420 нм, группа красных СК (Е121, Е 122, Е 123, Е 124, Е 127, Е 128, Е 129) – при длине волны 510 нм, черный, синие и зеленые СК (Е 131, Е 132, Е 133, Е 142, Е 151) – при длине волны 610 нм, Е 143 – 300 нм, Е 155 – 460 нм.

Условия градиентного элюирования СК (исключая Е 155), аналогичные описанным в работе [12], представлены в таблице 2.

Таблица 2. Условия градиентного элюирования синтетических красителей, скорость подачи подвижной фазы (ПФ) – 1,2 мл/мин

Время анализа, мин	Состав подвижной фазы, %	
	А буферный раствор 1*	В метанол : ацетонитрил (80 : 20)
0	100	0
2	100	0
37	20	80
40	20	80
45	100	0

*Буферный раствор 1 – 1,5% водный раствор ацетата аммония.

Условия градиентного элюирования синтетического красителя Е 155 аналогичны описанным в работе [13] и представлены в таблице 3.

Таблица 3. Условия градиентного элюирования синтетического красителя Е 155, скорость подачи подвижной фазы – 0,8 мл/мин

Время анализа, мин	Состав подвижной фазы, %	
	С буферный раствор 2*	Д метанол
0	86	14
4,5	71	29
8,0	71	29
9,0	50	50
10,5	35	65
12,0	10	90
15,0	86	14
18,0	86	14

*Буферный раствор 2 – 0,07% раствор натрия фосфорнокислого однозамещенного и 0,06% раствор натрия фосфорнокислого двухзамещенного в смеси метанол : вода в соотношении 1 : 1.

Хроматограммы смеси 15 СК и красителя Е 121 представлены на рисунке 1 и рисунке 2.

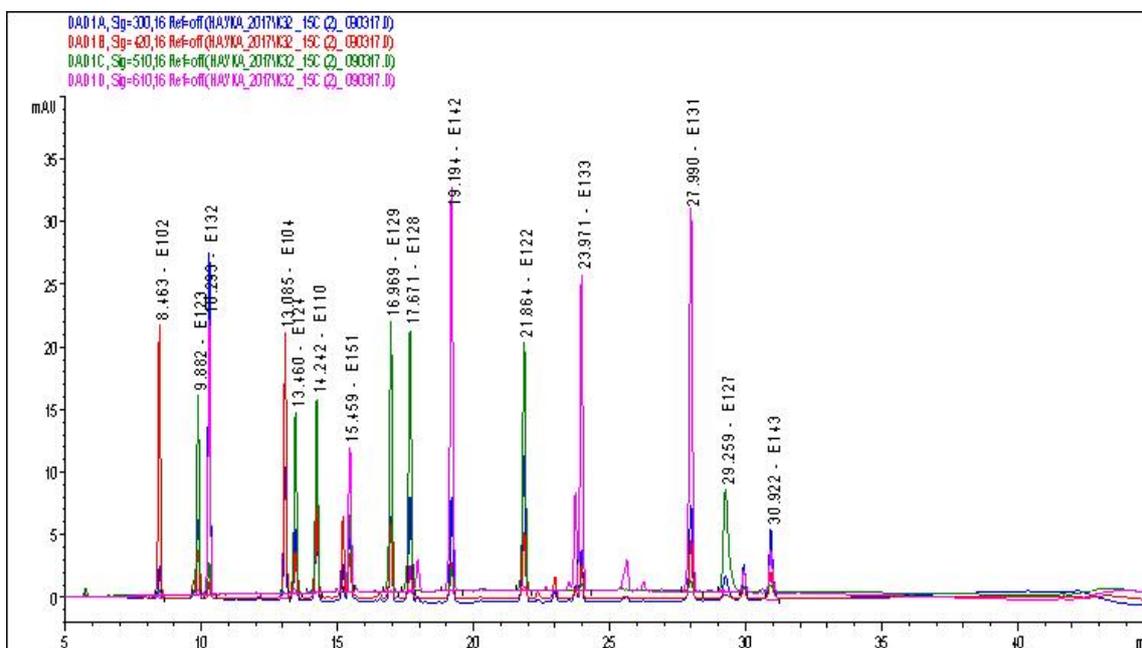


Рис. 1. Хроматограмма стандартного раствора смеси 15 синтетических красителей с концентрацией 5,0 мкг/мл каждого.

Хроматограмма стандартного раствора синтетического красителя Е 121 с концентрацией 5,0 мкг/мл представлена на рисунке 2.

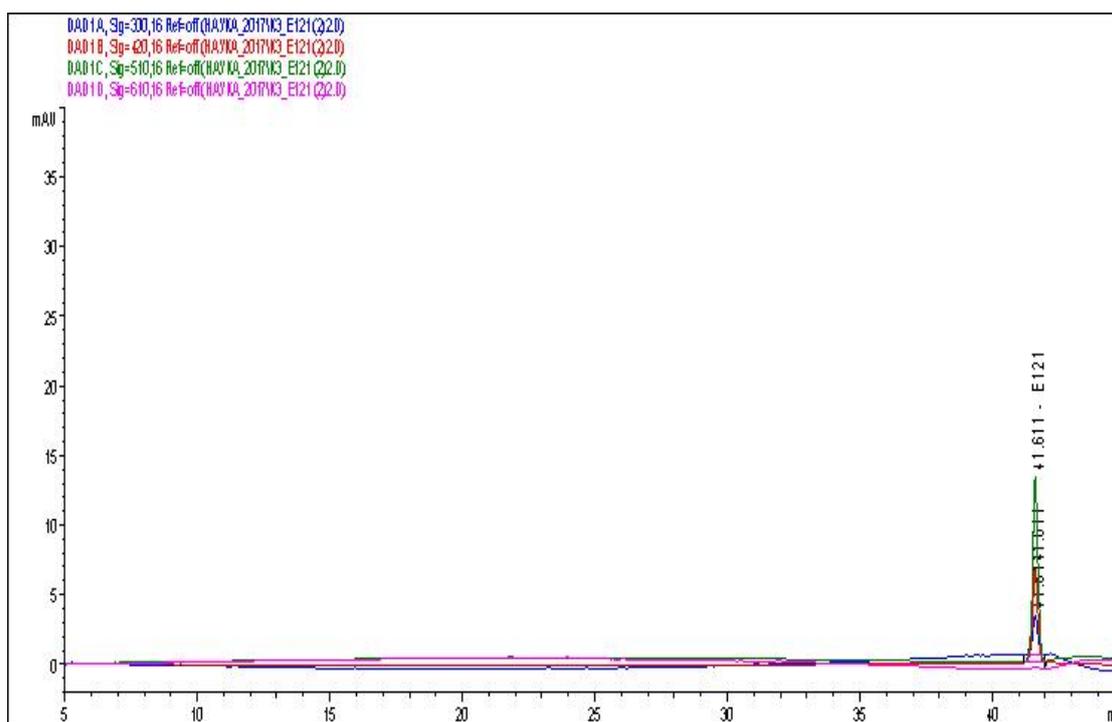


Рис. 2. Хроматограмма стандартного раствора синтетического красителя Е 121 с концентрацией 5,0 мкг/мл.

Хроматограмма стандартного раствора синтетического красителя Е 155 представлена на рисунке 3.

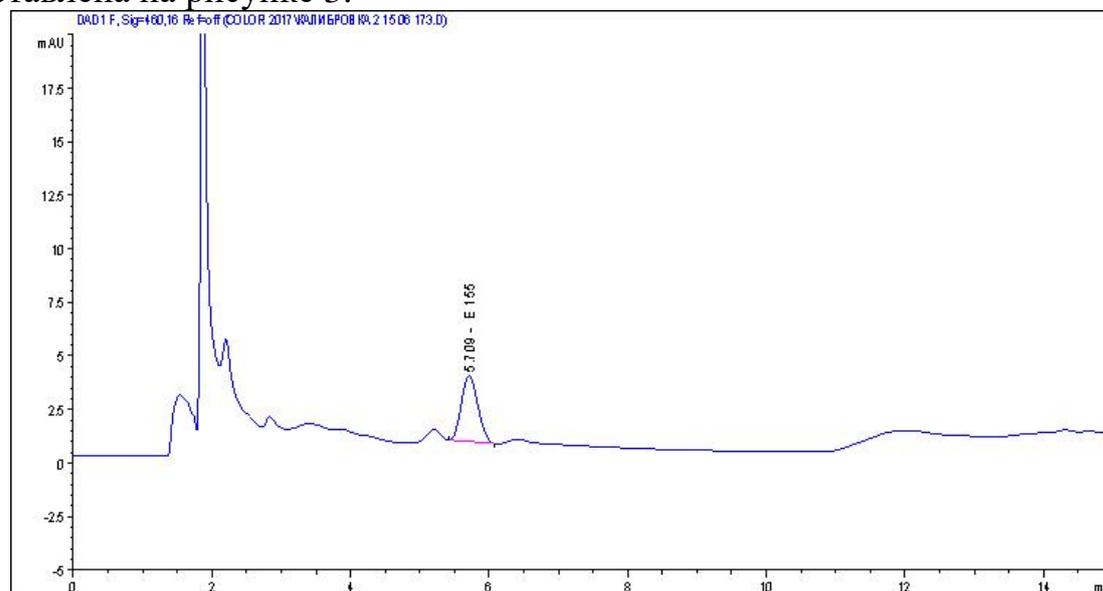


Рис. 3. Хроматограмма стандартного раствора синтетического красителя Е 155 с концентрацией 10,0 мкг/мл.

Подготовка анализируемых образцов

Экстракция красителей¹ из пищевой продукции², в том числе для питания детей, спортсменов, диетического питания, биологически активных добавок к пище

¹ за исключением Е 121

² за исключением молока и молочной продукции

Взвешивали от 1,0 г до 2,0 г пищевого продукта в центрифужной пробирке, добавляли 10 мл экстрагирующего раствора (0,125% водно-метанольного раствора аммиака (соотношение растворителей 1:1)), интенсивно перемешивали и помещали на встряхиватель типа Вортекс на 15 мин. Далее пробу центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 мин. После центрифугирования пипеткой отбирали максимальное количество верхнего слоя. К оставшемуся осадку добавляли 10 мл экстрагирующего раствора и повторяли процедуру. Экстракцию проводили не менее двух раз. С помощью 1 М раствора соляной кислоты устанавливали рН объединенного экстракта 6–7, при необходимости (наличие мути, осадка) объединенный экстракт центрифугировали. Измеряли объем экстракта с помощью мерного цилиндра.

Экстракция синтетических красителей из крема кондитерского и других продуктов с содержанием жира более 40%

Взвешивали от 1,0 г до 2,0 г пищевого продукта в центрифужной пробирке, добавляли 10 мл экстрагирующего раствора и 10 мл гексана, встряхивали в течение 5 мин. Далее содержимое пробирок отстаивалось в течение 10 минут для достижения межфазного равновесия. При необходимости (отсутствие четкой межфазной границы, образование эмульсии) пробу центрифугировали. Гексановую фракцию отбрасывали, водный слой аккуратно отбирали в полипропиленовую пробирку. К осадку приливали 10 мл экстрагирующего раствора и проводили экстракцию синтетических красителей вышеописанным способом не менее двух раз.

Экстракция синтетических красителей из молока и молочной продукции

Отбирали среднюю пробу молока и молочной продукции массой от 2,0 до 5,0 г, помещали в центрифужную пробирку, добавляли 0,5 мл раствора Карреза 1 и 0,5 мл раствора Карреза 2, интенсивно встряхивали и выдерживали 5 мин, затем в пробирку вносили 10 мл экстрагирующего раствора, интенсивно встряхивали и проводили экстракцию синтетических красителей вышеописанным способом не менее двух раз.

Примечание: При определении синтетических красителей в сыре для предотвращения залипания пробу сыра предварительно замораживали.

Примечание: При определении массовой концентрации синтетического красителя Е 142 (зеленый S) с использованием водно-метанольного раствора аммиака длительность экстракции не должна превышать 1 ч, так как данный краситель не устойчив в щелочной среде.

Подготовка проб напитков безалкогольных, слабоалкогольных, вин, коньяков, ликеров, других спиртных напитков, соков, жидких соусов

Образцы газированных напитков подвергали дегазации при комнатной температуре. Все напитки перед анализом разбавляли дистиллированной водой в два раза, ликеры, соки, жидкие соусы – в пять раз. Для этого в центрифужную пробирку помещали от 5,0 до 6,0 г образца, приливали от 5 мл до 30 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивали. Измеряли объем полученного раствора с помощью мерного цилиндра. При необходимости (наличие в пробе мути, осадка) пробу центрифугировали.

Экстракция синтетического красителя E 121 из пищевой продукции

Краситель E 121 экстрагировали из пищевой продукции вышеуказанным способом. В этом случае вместо воды дистиллированной использовали метиловый спирт, а вместо экстрагирующего 0,125% водно-метанольного раствора аммиака (соотношение растворителей 1 : 1) использовали экстрагирующий 0,125% метанольный раствор аммиака. В пищевой продукции с содержанием жира более 40% массовую концентрацию синтетического красителя E 121 не определяли.

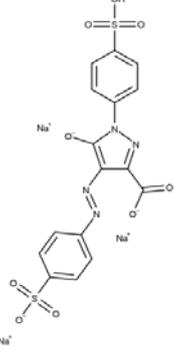
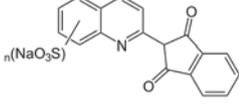
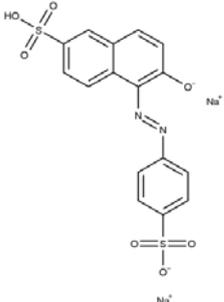
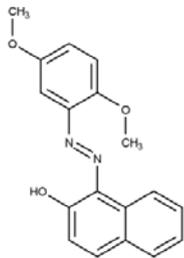
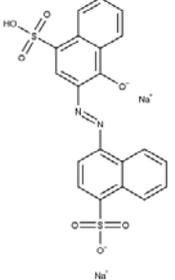
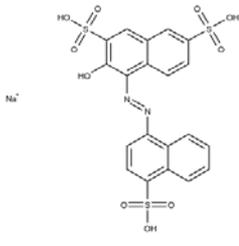
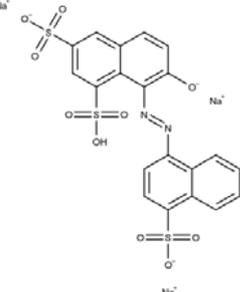
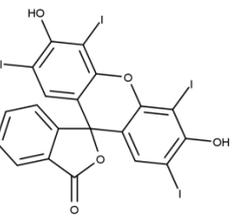
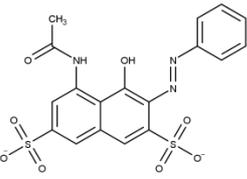
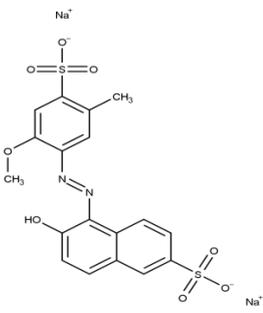
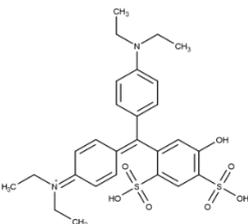
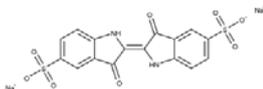
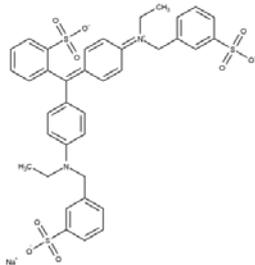
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ***Оптимизация условий ВЭЖХ разделения 17 СК***

ВЭЖХ анализ синтетических красителей, как правило, осуществляется на обращенно-фазных колонках типа C18. Поскольку изучаемые СК представляют собой, в основном, гидрофильные анионные соединения (химическое строение СК приведено на рис. 4) и в водных растворах присутствуют в виде одно-, двух- и более зарядных анионов, то для их лучшего удерживания и разделения на хроматографической колонке во многих методиках, в том числе аттестованных, используются ион-парные реагенты: цетилтриметиламмония бромид, триэтиламин, тетрабутиламмония гидросульфат и др. [8–11, 14]. При взаимодействии данных веществ с анионами СК образуются нейтральные ассоциаты, которые хорошо удерживаются на неполярной стационарной фазе. В ряде работ [12, 13, 15–19] описано использование элюентов, не содержащих данных модификаторов в своем составе. В подвижную фазу в этом случае вносятся растворы электролитов высокой концентрации. Как правило, это растворы ацетата аммония или натрия в количестве 10–100 мМоль/л, рН буферного раствора регулируется в пределах 5,0–7,5 при помощи растворов кислот и оснований. Значительная концентрация соли в подвижной фазе приводит к снижению растворимости в ней синтетических красителей и их адсорбции на поверхности неполярной стационарной фазы, то есть наблюдается так называемый эффект «высаливания» [20]. При использовании подвижной фазы данного состава в сочетании с органическим элюентом (метанол и/или ацетонитрил) и правильно подобранным режимом градиентного элюирования авторам работ [12, 15–19] удалось достичь удовлетворительного разделения 6–13 СК и проводить их количественное определение в пищевой продукции.

В данной работе изучено удерживание синтетических красителей методом ион-парной хроматографии с использованием в подвижной фазе цетилтриметиламмония бромида (0,1 % раствор, рН = 2), так как данный реагент чаще всего используется в аттестованных методиках, а также без применения данного модификатора (1,5% раствор ацетата аммония, рН = 7). В качестве органического компонента подвижной фазы использовался ацетонитрил. Хроматографирование осуществлялось в изократическом режиме со скоростью потока 1,0 мл/мин.

Присутствие цетилтриметиламмония бромида в подвижной фазе приводит к значительному удерживанию анионных синтетических красителей

на обращенно-фазной колонке C18, и для оптимизации параметров хроматографирования требуется большое количество (от 50 и более об.%) менее полярного растворителя ацетонитрила в ПФ (при этом время выхода первого СК E 142 – 3,5 мин.). В отсутствие данного модификатора время выхода СК значительно сокращается. Уже при 10 об.% ацетонитрила на 2-й минуте выходит полярный анионный краситель E 102. Порядок выхода СК также меняется. Время выхода эритрозина (E 127) и цитрусового красного (E 121) меняется незначительно и практически не зависит от состава подвижной фазы, так как при pH=2 данные соединения присутствуют преимущественно в виде нейтральных молекул и добавка цетилтриметиламмония бромида практически не влияет на их сорбцию на неподвижной фазе. В этом случае больший вклад в удерживание данных соединений вносит показатель pH подвижной фазы.

<p>Тартразин (E 102)</p> 	<p>Желтый хинолиновый (E 104)</p> 	<p>Желтый солнечный закат (E 110)</p> 	<p>Цитрусовый красный (E 121)</p> 
<p>Азурubin (E 122)</p> 	<p>Амарант (E 123)</p> 	<p>Понсо 4R (E 124)</p> 	<p>Эритрозин (E 127)</p> 
<p>Красный 2 G (E 128)</p> 	<p>Красный очаровательный АС (E 129)</p> 	<p>Синий патентованный V (E 131)</p> 	<p>Индигокармин (E 132)</p>  <p>Блестящий синий FCF (E 133)</p> 

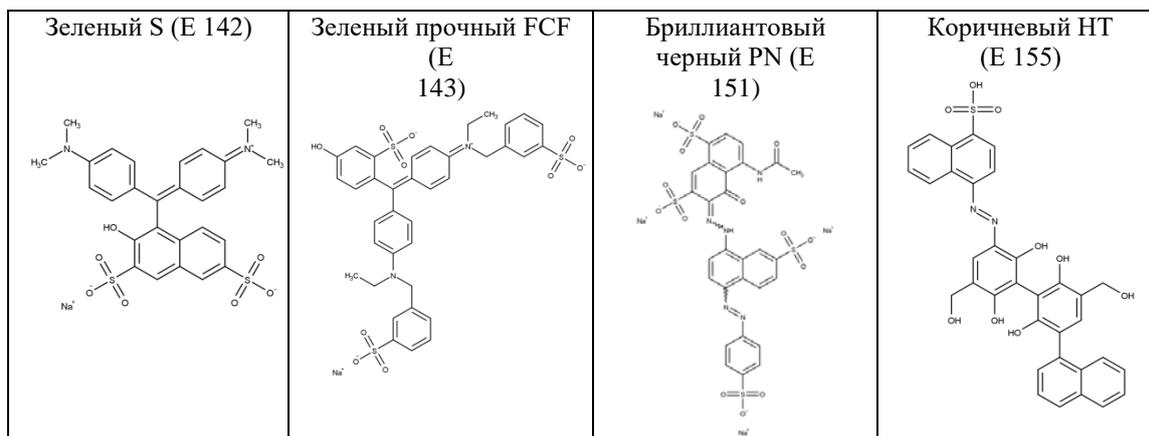


Рис. 4. Структурные формулы синтетических красителей, исследованных в данной работе.

При использовании 1,5% водного раствора ацетата аммония и описанного выше режима градиентного элюирования [12], удалось достичь удовлетворительного разделения 16 синтетических красителей, из них для красителя E 121 следует проводить индивидуальное определение, так как в градуировочном водном растворе смеси СК из-за низкой растворимости в воде он с течением времени выпадает в осадок. Краситель E 155 не дает четкого пика на хроматограмме, что делает невозможным проведение количественного расчета. Поэтому для анализа данного СК предложены иные условия хроматографирования, описанные в работе [13], где в качестве подвижной фазы используется фосфатный буферный раствор и метанол.

Таким образом, для разделения данных красителей нет необходимости использовать дорогостоящие ион-парные реагенты, которые к тому же приводят к загрязнению хроматографической колонки и к ухудшению ее эксплуатационных характеристик.

Оптимизация условий пробоподготовки

Для извлечения СК из пищевых продуктов с низким содержанием пищевых волокон или из продуктов, в которых основную долю пищевых волокон составляет растворимая фракция, обычно используется дистиллированная вода [8, 10, 11, 15, 16]. Однако для их выделения из пищевых продуктов сложного состава такой способ экстракции является неприемлемым из-за низкой степени извлечения. Авторы работ используют этанол [9], ацетонитрил [11] для осаждения молочных белков и экстракции СК из молока и молочных продуктов. В работах [13, 14, 17–19] для экстракции СК используются спиртовые или водно-спиртовые растворы аммиака.

Представляло интерес изучить влияние состава экстрагента на полноту извлечения СК из пищевой матрицы. Для этого в консервы мясные для детского питания, не содержащие СК, была внесена группа красных пищевых красителей: цитрусовый красный (E 121), азорубин (E 122), амарант (E 123), понсо 4R (E 124), эритрозин (E 127), красный 2G (E 128), красный очаровательный (E 129) в количестве 12,5 мг/кг каждого продукта. В качестве экстрагентов использовали дистиллированную воду, 2% водный раствор NaCl,

2% водный раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,125% водный раствор аммиака, 0,125% водно-метанольный раствор аммиака с разным соотношением органической и водной фаз, 0,125% водно-этанольный раствор аммиака (соотношение растворителей 1 : 1). Результаты исследований представлены в таблицах 4-5.

Таблица 4. Зависимость степени извлечения синтетических красителей Е 121, Е 122, Е 123, Е 124, Е 127, Е 128, Е 129 из консервов мясных для детского питания от состава экстрагента

Синтетические красители	Степень извлечения, %			
	Вода дистиллированная	2% водный раствор NaCl	2% водный раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,125% водный раствор аммиака
Амарант	62,0 ($\pm 0,7$)	44,6 ($\pm 1,1$)	-	78,5 ($\pm 0,9$)
Понсо 4R	73,1 ($\pm 0,8$)	54,0 ($\pm 0,9$)	31,7 ($\pm 1,1$)	85,9 ($\pm 0,8$)
Красный очаровательный АС	62,1 ($\pm 1,2$)	35,6 ($\pm 0,6$)	-	67,9 ($\pm 0,8$)
Красный 2G	78,4 ($\pm 0,9$)	58,2 ($\pm 1,1$)	32,6 ($\pm 1,2$)	88,6 ($\pm 0,8$)
Азорубин (кармуазин)	26,9 ($\pm 1,5$)	-	-	72,6 ($\pm 1,1$)
Эритрозин	-	-	-	-
Цитрусовый красный	-	-	-	-

Таблица 5. Зависимость степени извлечения синтетических красителей Е 121, Е 122, Е 123, Е 124, Е 127, Е 128, Е 129 из консервов мясных для детского питания от состава экстрагента

Синтетические красители	Степень извлечения, %		
	0,125% водно-метанольный раствор аммиака (соотношение растворителей 7 : 3)	0,125% водно-метанольный раствор аммиака (соотношение растворителей 1 : 1)	0,125% водно-этанольный раствор аммиака (соотношение растворителей 1 : 1)
Амарант	94,3 ($\pm 0,9$)	97,1 ($\pm 2,3$)	84,6 ($\pm 2,4$)
Понсо 4R	95,9 ($\pm 1,1$)	98,2 ($\pm 1,8$)	87,1 ($\pm 2,0$)
Красный очаровательный АС	95,9 ($\pm 0,8$)	98,9 ($\pm 0,9$)	86,8 ($\pm 1,8$)
Красный 2G	93,8 ($\pm 0,7$)	96,9 ($\pm 0,8$)	84,6 ($\pm 0,7$)
Азорубин (кармуазин)	93,2 ($\pm 0,8$)	96,7 ($\pm 1,1$)	84,5 ($\pm 0,9$)
Эритрозин	82,5 ($\pm 1,2$)	85,1 ($\pm 1,3$)	78,2 ($\pm 1,8$)
Цитрусовый красный	80,4 ($\pm 2,2$)	82,3 ($\pm 2,1$)	72,3 ($\pm 2,8$)

Из результатов исследований, представленных в таблице 4 и таблице 5, видно, что при использовании в качестве экстрагента дистиллированной воды извлекаются не все СК, и степень их извлечения недостаточно высокая 26,9–78,4%. Добавка в дистиллированную воду электролитов уменьшила степень извлечения вышеуказанных красителей. Наибольшая степень извлечения СК

была достигнута при использовании 0,125% водно-метанольного раствора аммиака (соотношение растворителей 1 : 1). Степень извлечения составила 82,3–98,9%. На рисунке 5 представлена хроматограмма, полученная при анализе консервов мясных с использованием данного экстрагента.

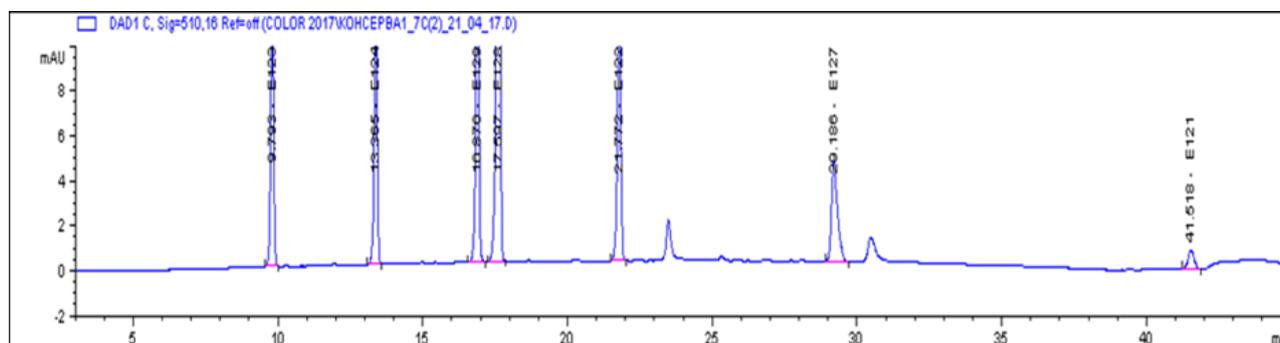


Рис. 5. Хроматограмма консервов мясных для детского питания с внесением группы красных СК в количестве 12,5 мг/кг каждого (экстрагент: 0,125% водно-метанольный раствор аммиака, соотношение растворителей 1 : 1).

Как видно из рисунка 5, пики СК на хроматограмме четкие, хорошо отделены друг от друга, практически отсутствуют пики примесей, и чувствительности методики достаточно, чтобы проводить количественное определение данных пищевых добавок на регламентируемом уровне без использования дополнительной очистки и концентрирования на картриджах для твердофазной экстракции, как описано в работах [17, 19]. Далее данная экстрагирующая смесь была использована для выделения группы желтых, зеленых, синих, черного и коричневого синтетических красителей из пищевых матриц сложного состава. Степень извлечения составила более 90%. Для экстракции синтетического красителя Е 121 из пищевой продукции необходимо использовать 0,125%-ный метанольный раствор аммиака, так как использование данной экстрагирующей смеси повышает степень извлечения до 95%.

Валидация методики определения СК в пищевой продукции

Статистические данные для оценки прецизионности и расширенной неопределенности измерений получены по результатам анализа образцов рабочих проб следующих продуктов: сок яблочный осветленный, молочный коктейль, сухари панировочные, сыр, желе, вино красное сухое, рыба (фаршмак), томатная паста, напиток безалкогольный «Дюшес», мороженое «Пломбир», жевательный мармелад, БАД, вишня коктейльная, напиток безалкогольный «Кока-кола», соевый соус, печенье, консервы мясо-растительные, апельсиновые корки с добавками СК от 1 до 250 мг/кг. Проведено по 9 определений ($n = 2$) для каждого образца, выполненных с двумя изменяющимися факторами: время, оператор. Результаты приведены в табл. 6.

Разработанная и валидированная методика была применена для контроля содержания СК в пищевой продукции. В течение 2018 года было проанализировано 345 образцов пищевой продукции. В 42 образцах присутствовали СК. Из них в 40 образцах их содержание соответствовало

установленным нормам [5, 6], в одном образце цукатов (вишня) содержание СК Е 124 в два раза превысило регламентируемый уровень, и в одном образце арахиса в глазури был обнаружен СК (Е 123), запрещенный к применению на территории государств-членов ЕАЭС. Результаты исследований представлены в таблице 7.

Таблица 6. Относительные значения пределов повторяемости и промежуточной прецизионности, расширенной неопределенности при уровне доверительности $P = 0,95$

Наименование красителя	Предел повторяемости r, %	Предел промежуточной прецизионности R, %	Расширенная неопределенность измерения U, %
Тартразин	9,4	13,4	18,8
Желтый хинолиновый	5,6	13,5	18,1
Желтый солнечный закат	9,4	12,1	17,4
Цитрусовый красный	18,8	20,5	22,9
Азорубин (кармуазин)	10,1	10,5	19,3
Амарант	10,7	14,7	19,4
Понсо 4R	9,2	12,8	15,2
Эритрозин	8,2	17,1	21,5
Красный 2G	12,2	15,5	20,3
Красный очаровательный AC	7,3	14,4	17,4
Синий патентованный V	7,0	13,7	17,3
Индигокармин	5,8	12,9	18,9
Блестящий синий FCF	13,0	14,6	14,9
Зеленый S	7,7	11,8	16,8
Зеленый прочный FCF	10,2	10,6	17,4
Бриллиантовый черный PN	6,2	12,3	18,2
Коричневый NT	8,8	14,7	16,5

Таблица 7. Результаты исследований пищевой продукции на содержание СК за период 2018 г.

Пищевая продукция	Количество исследований	Количество проб, содержащих синтетические красители	Количество проб без синтетических красителей
Молочная продукция (сыр, молоко, творог, йогурт)	48	0	48

МЕТОДИКА КОНТРОЛЯ СОДЕРЖАНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ

Напитки (алкогольные, безалкогольные, слабоалкогольные)	136	1	135
Фруктово-овощная продукция (сок, джем, наполнитель, пюре)	45	0	45
Печенье	38	0	38
Мясная продукция (мясо, консервы, паштет, колбасные изделия)	10	0	10
Рыбная продукция (рыба, икра, консервы)	18	8	10
Цукаты (ананас, папайя, вишня)	6	4	2
Арахис в глазури	2	2	0
Карамель	12	8	4
Мармелад	5	5	0
БАД	17	13	4
Попкорн	8	8	0
Итого	345	41	304

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований оптимизированы параметры хроматографирования и процедура экстракции 17 синтетических красителей из пищевой продукции различного состава, что позволило разработать и валидировать простую в исполнении методику их определения с помощью ВЭЖХ / DAD. Нижний предел измерения методики составляет 1–5 мг/кг для СК (за исключением E 155) и 10–50 мг/кг для E 155 в зависимости от исследуемого пищевого продукта, что соответствует требованиям [5, 6]. Максимальная расширенная неопределенность полученных результатов не превысила 23% на нижнем уровне диапазона измерения. С помощью данной методики на территории РБ осуществляется контроль за содержанием СК во всех видах пищевой продукции.

Список литературы:

1. Болотов В.М., Нечаев А.П., Сарафанова Л.А. // Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение. СПб.: ГИОРД, 2007. 240 с.
2. Codex STAN 192-1994 Codex general standard for food additives (GSFA). Rome: FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, 1995. 475 p.
3. European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on Colors for Use in Foodstuffs // Official Journal of the European Communities, 1994. L. 237. P. 13.
4. Commission Regulation (EC) No. 884/2007 on Emergency Measures Suspending the Use of E 128 Red 2G as Food Colour // Official Journal of the European Union, 2007. L. 195. P. 8.
5. СанПиН. Требования к продовольственному сырью и пищевым продуктам. Гигиенический норматив. Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов. Утв. Мин. здравоохранения Респ. Беларусь 21 июня 2013 г.
6. ТР ТС 029/2012 Требования к безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств. Евраз. эконом. комис. Минск: Госстандарт: БелГИСС, 2014. 272 с.

7. Electronic Code of Federal Regulations e-CFR. https://ecfr.io/Title-21/cfr74_main (accessed 01.03.2019).
8. ГОСТ 33406-2015. Продукция алкогольная, безалкогольная и соковая, добавки вкусоароматические. Определение содержания синтетических красителей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Минск: Госстандарт, 2016. 16 с.
9. ГОСТ 31504-2012. Молоко и молочная продукция. Определение содержания консервантов и красителей методом ВЭЖХ. Минск: Госстандарт, 2015. 16 с.
10. МВИ МН 2399-2005. Методика определения синтетических красителей в алкогольных и безалкогольных напитках с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Свид-во об аттестации № 380/2005 от 07.12.2005. Минск: ГУ «Респ. науч.-практ. центр гигиены», 2005. 15 с.
11. Инструкция по применению Рег. № 108-1006, утв. 05.01.2007. Методика определения синтетических красителей в кондитерских и хлебобулочных изделиях, молочных продуктах, соках, биологически активных и пищевых добавках с помощью ВЭЖХ. Минск: Респ. науч.-практ. центр гигиены, 2007. 11 с.
12. *de Araujo Siqueira Bento W., Lima B.P., Paim A.P.S.* // *Food Chemistry*. 2015. V. 183. P. 154. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.050.
13. *Hong M.N., Suh H.J., Lee O.H., Chun H.S., Lee C.* // *Journal of International Scientific Publications: Agriculture and Food*. 2014. V. 2. P. 68.
14. *Kiseleva M.G., Pimenova V. V., Eller K. I.* // *Journal of Analytical Chemistry*. 2003. V. 58. No. 7. P. 685. DOI: 10.1023/A:1024716322120.
15. *Vlase L., Muntean D., Cobzac S.C., Filip L.* // *Rev. Roum. Chim.* 2014. V. 59. No. 9. P. 719.
16. *Minioti K.S., Sakellariou C.F., Thomaidis N.S.* // *Anal. Chim. Acta*. 2007. V. 583. No. 1. P. 103. DOI: 10.1016/j.aca.2006.10.002.
17. *Mazdeh F.Z., Khorrami A.R., Moradi-Khatoonabadi Z. et al.* // *Trop. J. Pharm. Res.* 2016. V. 15. No. 1. P. 173. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v15i1.24>.
18. *Lehotay J., Pagáčiková D.* // *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2015. V. 38. No. 5. P. 579. DOI: 10.1080/10826076.2014.922473.
19. *Kirschbaum J., Krause C., Bruckner H.* // *Eur. Food Res. Technol.* 2006. V. 222. No. 5. P. 572.
20. *Kucharska M., Grabka J.* // *Talanta*. 2010. V. 80. P. 1045. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.032>.

References:

1. *Bolotov V.M., Nechaev A.P., Sarafanova L.A.* // *Food dyes: classification, properties, analysis, application*. SPb.: GIOR, 2007. 240 p. [in Russian].
2. Codex STAN 192-1994 Codex general standard for food additives (GSFA). Rome: FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, 1995. 475 p.
3. European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on Colors for Use in Foodstuffs // *Official Journal of the European Communities*, 1994. L. 237. P. 13.
4. Commission Regulation (EC) No. 884/2007 on Emergency Measures Suspending the Use of E 128 Red 2G as Food Colour // *Official Journal of the European Union*, 2007. L. 195. P. 8.
5. SanPiN. Requirements for food raw materials and food products. Hygienic standard. Indicators of safety and security for human food raw materials and food products. Approved by Ministry of Public Health of the Republic of Belarus, June 21, 2013 [in Russian].
6. TR CU 029/2012 Safety requirements for food additives, flavouring agents and processing aids. Eur. Econ. Commiss. Minsk: Gosstandart: BelGISS, 2014. 272 p. [in Russian].
7. Electronic Code of Federal Regulations e-CFR. https://ecfr.io/Title-21/cfr74_main (accessed 01.03.2019).
8. GOST [State Standard] 33406-2015. Production of alcoholic drinks, soft drinks and juice, flavoring additives. Determination of content of synthetic dyes by high-performance liquid chromatography. Minsk: Gosstandart, 2016. 16 p. [in Russian].

9. GOST [State Standard] 31504-2012. Milk and milk products. Determination of preservation agents and dyes by HPLC. Minsk: Gosstandart, 2015. 16 p. [in Russian].
10. MVI MN 2399-2005. Method of determining synthetic dyes in alcoholic and non-alcoholic drinks with high-performance liquid chromatography. Certificate of Attestation No. 380/2005 of 07.12.2005. Minsk: Repub. Scientific Practical Center of Hygiene, 2005. 15 p. [in Russian].
11. Instructions for use Reg. No. 108-1006, approved 05.01.2007. Method of determination of synthetic dyes in confectionery and bakery products, dairy products, juices, biologically active and food additives with HPLC. Minsk: Repub. Scientific Practical Center of Hygiene, 2005. 11 p. [in Russian].
12. *de Araujo Siqueira Bento W., Lima B.P., Paim A.P.S.* // Food Chemistry. 2015. V.183. P. 154. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.050.
13. *Hong M.N., Suh H.J., Lee O.H., Chun H.S., Lee C.* // Journal of International Scientific Publications: Agriculture and Food. 2014. V. 2. P. 68.
14. *Kiseleva M.G., Pimenova V. V., Eller K. I.* // Journal of Analytical Chemistry. 2003. V. 58. No. 7. P. 685. DOI: 10.1023/A:1024716322120.
15. *Vlase L., Muntean D., Cobzac S.C., Filip L.* // Rev. Roum. Chim. 2014. V. 59. No. 9. P. 719.
16. *Minioti K.S., Sakellariou C.F., Thomaidis N.S.* // Anal. Chim. Acta. 2007. V. 583. No. 1. P. 103. DOI: 10.1016/j.aca.2006.10.002.
17. *Mazdeh F.Z., Khorrami A.R., Moradi-Khatoonabadi Z. et al.* // Trop. J. Pharm. Res. 2016. V. 15. No. 1. P. 173. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v15i1.24>.
18. *Lehotay J., Pagáčiková D.* // Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies. 2015. V. 38. No. 5. P. 579. DOI: 10.1080/10826076.2014.922473.
19. *Kirschbaum J., Krause C., Bruckner H.* // Eur. Food Res. Technol. 2006. V. 222. No. 5. P. 572.
20. *Kucharska M., Grabka J.* // Talanta. 2010. V. 80. P. 1045. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.032>.