

Лекция 8

Загрязнение пищевых продуктов полициклическими ароматическими углеводородами

Полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ) называют большую группу органических соединений, содержащих два и более бензольных кольца. ПАУ обладают мутагенной и канцерогенной активностью, поэтому они нормируются в окружающей среде. Образование и поступление ПАУ в окружающую среду связано с микробиологическими и высокотемпературными процессами, протекающими в природе (лесные пожары, вулканическая деятельность), и антропогенными факторами (работа промышленности, сжигание топлива, транспортные выхлопы и т. п.).

Загрязнение пищевых продуктов представителями этой группы происходит из воздуха, воды и/или в результате термической переработки пищевых продуктов. Следы ПАУ могут быть найдены в большом перечне пищевых продуктов, таких как оливковое масло, фрукты, морепродукты, копченое и вяленое мясо, рыба и кофе. Например, бенз(а)пирен (XVI), считающийся наиболее опасным среди ПАУ, образуется при жарке зерен кофе — до 0,5 мкг/кг, в подгоревшей корке хлеба — до 0,5, при сушке зерна дымом из бурого угля или мазута — до 4, в копченном домашним способом мясе и рыбе — до 1,5, но встречаются и более высокие концентрации — 50 мкг/кг. В соответствии с СанПиН 2.3.2.560, допустимый уровень содержания бенз(а)пирена в пищевых продуктах составляет 0,001 мг/кг. Не допускается присутствие бенз(а)пирена в продуктах детского и диетического питания.

Содержание ПАУ в растениях зависит в основном от их способности сорбироваться листьями при осаждении из воздуха и накапливаться в них. При этом через корни растений проникает меньшая часть ПАУ. Так, в капусте содержание бенз(а)пирена заметно выше, чем в помидорах, — 15,6 мкг/кг и 0,22 мкг/кг соответственно. В зернах пшеницы бен(а)пирен обнаружен на уровне 0,68–1,44 мкг/кг, в сушеных фруктах и черносливе — 16–23,9 мкг/кг.

Доза поступления бенз(а)пирена с продуктами растительного происхождения в организм человека за 70 лет жизни составляет только 3–4 мг.

Бенз(а)пирен контролируется в зерне, в копченых мясных и рыбных продуктах.

Методы определения ПАУ

Наиболее часто для определения ПАУ в пищевых продуктах проводят жидкостно-жидкостную экстракцию гексаном, циклогексаном или изооктаном с последующей очисткой экстракта на колонке, заполненной оксидом алюминия или силикагелем. Основной недостаток жидкостно-жидкостной экстракции — это расход большого количества дорогостоящих чистых растворителей и серьезные временные затраты. Для идентификации и количественного определения полициклических углеводородов используют

ВЭЖХ с флуориметрическим и фотометрическим детектированием или спектрофлуориметрию с предварительным разделением на пластинке со слоем ацетиловой целлюлозы.

Альтернативой является газовая хроматография с пламенно-ионизационным или масс-спектрометрическим детектированием.

Но и газовая хроматография имеет ряд недостатков: необходимость тщательной очистки пробы и высокая стоимость оборудования.

Методы определения массовой доли бенз(а)пирена устанавливает ГОСТ Р 51650 «Продукты пищевые. Методы определения массовой доли бенз(а)пирена», который распространяется на продовольственное сырье, пищевые продукты, пищевые и вкусовые добавки.

Отбор и подготовку лабораторной пробы к испытаниям проводят в соответствии с нормативным документом на испытуемый вид продукции. Из объединенной лабораторной пробы для испытания отбирают две параллельные навески. Перед отбором навески пробы гомогенизируют.

Углеводороды, в том числе бенз(а)пирен, экстрагируют н-гексаном из продукта, предварительно обработанного спиртовым раствором гидроксида калия. Необходимость проведения щелочного гидролиза обусловлена тем, что ПАУ, обладая липофильными свойствами, накапливаются в основном в жировой ткани продуктов питания. В связи с тем, что н-гексаном экстрагируется и неомыляемая часть липидов, далее проводят выделение бенз(а)пирена из полученного экстракта.

Разделение экстракта при дальнейшем определении бенз(а)пирена методом низкотемпературной флуориметрии проводят хроматографически в тонком слое оксида алюминия. На пластинку наносят равномерной сплошной полосой полученный экстракт, а также раствор-«свидетель», которым является раствор бенз(а)пирена в петролейном эфире. Пластинку помещают в хроматографическую камеру, заполненную петролейным эфиром, под небольшим углом (20–25 °). После того как фронт растворителя дойдет до верхнего края пластины, ее, не высушивая, облучают УФ-светом и по светящейся полосе «свидетеля» определяют место нахождения бенз(а)пирена в исследуемой пробе. Отмечают границы полосы бенз(а)пирена на хроматограмме исследуемой пробы.

Пластину высушивают на воздухе в вытяжном шкафу. Отмеченную на хроматограмме исследуемой пробы полоску оксида алюминия снимают с пластины и элюируют бенз(а)пирен с Al_2O_3 бензолом. Бензол упаривают досуха и остаток растворяют в н-октане. При определении методом ВЭЖХ или спектрофлуориметрией при комнатной температуре проводят реэкстракцию полученного экстракта смесью N,N-диметилформамид — вода с последующим экстрагированием н-гексаном, который упаривают, а остаток растворяют в этиловом спирте. Полученный раствор пропускают через колонку, заполненную сефадексом LH-20 (декстрановый эпоксимодифицированный адсорбент, обладающий липофильногидрофильными свойствами). Элюирование из колонки

полициклических ароматических соединений, в том числе бенз(а)пирена, проводят этиловым спиртом.

Дополнительную очистку пробы в тонком слое ацетиловой целлюлозы проводят при определении бенз(а)пирена методом спектрофлуориметрии. Хроматографирование полученной фракции осуществляют, используя в качестве подвижной фазы смесь этилового спирта, ацетона и воды. После хроматографического разделения и высушивания зону бенз(а)пирена, проявленную УФ-облучением, удаляют с пластины и элюируют бенз(а)пирен бензолом с последующим упариванием растворителя.

Определение и обработка результатов

1. Метод низкотемпературной флуориметрии

В полученном растворе (экстракте) определяют содержание бенз(а)пирена методом низкотемпературной спектрофлуориметрии. Аналитическая линия флуоресценции бенз(а)пирена равна 403 нм при длине волны возбуждающего света 367 нм. Измерения осуществляют при температуре жидкого азота ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$). Определение содержания проводят методом внутреннего стандарта, заключающегося в том, что к анализируемому и стандартным растворам бенз(а)пирена добавляют раствор внутреннего стандарта — 1,12-бензперилена в таком количестве, чтобы в спектре пробы интенсивность 1,12-бензперилена была в 3–5 раз больше интенсивности линии бенз(а)пирена. Измеряя высоты пиков в максимумах характеристических линий этих соединений, рассчитывают коэффициент отношения (K) интенсивности линии бенз(а)пирена (H_1) к интенсивности линии 1,12-бензперилена (H_2), $K = H_1/H_2$.

Далее определяют этот коэффициент для стандартных растворов бенз(а)пирена ($K_{ст}$).

2. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Фракцию, содержащую бенз(а)пирен, анализируют с помощью ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием при длине волны излучения 418 нм и длине волны возбуждающего света 300 нм. Неподвижной фазой является сорбент с привитой обращенной фазой (например, supelcosil LC-PAN, хромосил С18), подвижной — смесь ацетонитрила и воды.

Определение содержания бенз(а)пирена проводят методом добавок или методом внутреннего стандарта. Внутренний стандарт — бенз(в)хризен. Время удерживания бенз(а)пирена — 5 мин, бенз(в)хризена — 13 мин.

Метод ВЭЖХ является одним из лучших для определения ПАУ, но применение одного детектора — флуориметрического недостаточно для полной уверенности в надежной идентификации целевого соединения. В этом случае лучше использовать тандем детекторов для ВЭЖХ (флуориметрический и УФ детекторы) или амперометрический детектор, хотя достоверная идентификация возможна лишь при применении спектральных детекторов — масс-спектрометрического или ИК-Фурье-спектрометра.

3. Спектрофлуориметрия при комнатной температуре

Количественное определение содержания бенз(а)пирена в продуктах питания проводят методом стандартов. Флуоресценцию пробы продукта и

пробы контрольного опыта с добавкой бенз(а)пирена измеряют при длине волны флуоресценции 406 нм и длине волны возбуждения 386 нм.