

**УКРАЇНА****(19) UA (11) 108336 (13) C2**
(51) МПК**G01N 33/04 (2006.01)****A23C 11/10 (2006.01)****ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ****(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер заявки:	а 2014 06333	<p>RU 2361204 C2, 10.07.2009. (abstract) Day G, LeBouf R, Grote A, Pendergrass S, Cummings K, Kreiss K, Kullman G. Identification and measurement of diacetyl substitutes in dry bakery mix production. J Occup Environ Hyg. 2011 Feb;8(2):93-103. Mamer OA, Montgomery JA, Deckelbaum RJ, Granot E. Identification of urinary 3-ethoxy-4-hydroxybenzoic and 3-ethoxy-4-hydroxymandelic acids after dietary intake of ethyl vanillin. Biomed Mass Spectrom. 1985 Apr;12(4):163-169. Кучменко Т. А., Масленникова Ю. А. Новый способ идентификации природы ароматизаторов в йогуртах и продуктах на их основе. Аналитика и контроль. 2007. 11, N 4, с. 266-273. Асанова Ю. А., Шогенов Ю. Х., Кучменко Т. А. Идентификация искусственных ароматизаторов в йогуртах и молочных напитках с применением масс-метрических сенсоров. Проблемы теоретической и экспериментальной химии: Тезисы докладов 15 Российской студенческой научной конференции, посвященной 85-летию Уральского государственного университета им. А. М. Горького, Екатеринбург, 19-22 апр., 2005. Екатеринбург: Изд-во УрГУ. 2005, с. 55-56</p>
(22) Дата подання заявки:	10.06.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.04.2015	
(41) Публікація відомостей про заяву:	25.09.2014, Бюл.№ 18	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.04.2015, Бюл.№ 7	
(72) Винахідник(и): Жукова Ярослава Фрідріхівна (UA), Петрищенко Сергій Станіславович (UA), Король Цвітана Олександрівна (UA), Малова Валерія Всеволодівна (UA), Козлова Людмила Геннадіївна (UA)		
(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ, вул. М. Раскової, 4-а, м. Київ, 02660 (UA)		
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:		
UA 32681 U, 26.05.2008 RU 2093822 C1, 20.10.1997 RU 2334228 C1, 20.09.2008. RU2488817 C1, 27.07.2013-07-27. Alewijn M, Sliwinski EL, Wouters JTM. A fast and simple method for quantitative determination of fat-derived medium and low-volatile compounds in cheese. International Dairy Journal, 2003.- Vol.13.-N.9. – P.733-741. EP 2522996 A1, 14.11.2012. RU 2348034 C1, 27.02.2009.		

(54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ШТУЧНИХ АРОМАТИЗАТОРІВ НА ОСНОВІ ПРОПІЛЕНГЛІКОЛЮ У МОЛОЧНИХ ТА МОЛОКОВІСНИХ ПРОДУКТАХ**(57) Реферат:**

Винахід належить до молочної промисловості, а саме до хімічних методів аналізу молочних та молоковісних продуктів, призначений для якісного виявлення в них штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю. Спосіб передбачає екстрагування етиловим спиртом летких сполук проб продуктів за температури 50 °С, осадження білків проби, додавання хлориду натрію та центрифугування, введення супернатанту в інжектор газового хроматографа і аналізування наявності пропіленгліколю у пробі за часом виходу на капілярній колонці. Спосіб дозволяє

UA 108336 C2

виявляти у молочних та молоковісних продуктах штучні ароматизатори на основі пропіленгліколю, який становить не менше, ніж 0,10 мг на 100 г продукту.

Винахід належить до харчової промисловості, а саме до фізико-хімічних методів аналізу молочних та молоковісних продуктів, призначений для визначення в них штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю. Пропіленгліколь - безбарвна органічна сполука, майже без запаху, прозора, в'язка зі слабо вираженим солодким смаком.

У харчовій промисловості пропіленгліколь зареєстровано в якості харчової добавки E1520 як вологоутримуючий, пом'якшуючий і диспергуючий агент, який є розчинником і консервантом харчових продуктів. Використовується пропіленгліколь при приготуванні приправ, екстракції спецій із природних продуктів - ванільних бобів, кави, какао тощо; як розчинник запашних речовин, ефірних масел і при виробництві харчових ароматизаторів.

Харчовий пропіленгліколь визнаний нетоксичним і безпечним до застосування, що не викликає побічних ефектів. Однак серйозної шкоди пропіленгліколь завдає організму при концентрації у плазмі крові понад 1 г/літр. Випадки отруєння пропіленгліколем, як правило, пов'язані з надмірним внутрішньовенним введенням з лікувальними препаратами або випадковим проковтуванням його великої кількості. Внутрішньовенне введення у великих дозах препаратів, до складу яких входить пропіленгліколь може призводити до гіпотензії, брадикардії, аритмії, зупинки серця, гемолізу тощо. Підвищена концентрація пропіленгліколю у повітрі приміщень може призводити до виникнення дихальних та імунних порушень.

Відомо спосіб кількісного визначення ароматичних альдегідів в коньяку та коньячному спирті за допомогою системи капілярного електрофорезу з ультрафіолетовим детектуванням без додаткової обробки зразків у розчині тетрабарату натрію з рН 9,0-9,6 і співставлення отриманих даних з калібрувальним графіком. [Спосіб визначення ароматичних альдегідів в коньяках та коньячних спиртах UA № 32681 U, Бюл. № 10, 2008 р.] Спосіб потребує дороговартісного обладнання.

Відомо спосіб аналізу рідких препаратів на основі рослинної сировини методом хроматографії, який включає витяг летких речовин відгонкою вихідної проби паром, концентрування летких речовин екстракцією низько киплячим розчинником з його наступним відгоном і визначенням компонентів методами газової або рідинної хроматографії [Спосіб аналізу жидких препаратів на основі рослинного сировини, RU 2093822 C1, G01N 30/04, опубл. 1997 г.]. Недоліком способу є невисока інформативність результатів, що ускладнює їх тлумачення.

Відомо спосіб виявлення фальсифікації штучними ароматизаторами молочних та кисломолочних продуктів для дитячого харчування. Спосіб передбачає використання статичного приладу "електронний ніс", матрицю якого формують три мас-чутливі п'єзосенсиори з власною частотою коливань 8-10 МГц, які модифікують, для чого на електроди мас-чутливих п'єзосенсиорів рівномірно наносять плівки етанольних розчинів двох полярних і одного середньополярного хроматографічних сорбентів масою 10-15 мкг, піддають їх сушінню за температури 40 °C упродовж 15 хв., модифіковані мас-чутливі п'єзосенсиори закріплюють у тримачах на кришці і поміщають в корпус статичного "електронного носа". [Спосіб установлення фальсифікації молочних, кисломолочних продуктів для дитячого та лікувального харчування штучними ароматизаторами, RU 2334228 C1, G01N33/04, опубл. 20.09.2008]. Спосіб потребує специфічної пробопідготовки та дороговартісного обладнання.

Відомо спосіб аналізування якості коньячних виробів, що здійснюють шляхом комплексного аналізу складу летких ароматичних компонентів, при цьому в якості показників, що підтверджують натуральність коньячних дистилятів, використовують ацетальдегід, етилацетат, метилацетат, 1-пропанол, ізобутанол, ізоаміловий спирт, 2-пропанол, 1-бутанол, 1-гексанол, оцтову кислоту, пропіонову кислоту, масляну кислоту, 2-фенілетанол, ванілін, кротоновий альдегід і 1,2-пропіленгліколь, значення співвідношень показників: ізоаміловий спирт/ізобутанол, бузкова альдегід/ванілін, бузковий альдегід/бузкова кислота, ванілін/ванілінова кислота, а також за масовою часткою галової кислоти у складі дубильних речовин [Спосіб определения качества коньячных дистиллятов, RU № 2488817, Гугучкина Т.И., Оселедцева И.В.].

Відомо спосіб аналізування вмісту летких ароматичних речовин у сирі Гауда методом газової хроматографії, який полягає в тому що подрібнену пробу розтирають з цитратом натрію, переносять у центрифужну пробірку і додають ацетонітрил. Потім пробірку нагрівають за 45 °C упродовж 10 хв. і центрифугують за швидкості 700 g упродовж 4 хв. за 4 °C, витримують за температури 4 °C 15 хв., відбирають верхній шар з ацетонітрилом, переносять його в іншу пробірку, яку витримують за (-20)°C упродовж 30 хв., повторюють центрифугування за швидкості 2500 g упродовж 5 хв. і 1 мл супернатанту переносять у газохроматографічну віалу і піддають аналізуванню [International Dairy Journal, 2003, - v.13, - P. 733-741]. Цей спосіб є дороговартісним і тривалим у часі.

Спосіб виявлення штучних ароматизаторів у молочних та молоковісних продуктах, що заявляється дозволяє виявляти штучні ароматизатори на основі пропіленгліколю у молочних та молоковісних продуктах методом газової хроматографії, оскільки час утримування летких органічних сполук на капілярній колонці відрізняється в залежності від хімічної будови молекул, що відображується на хроматограмі.

Спосіб виявлення штучних ароматизаторів у молочних та молоковісних продуктах на основі пропіленгліколю методом газової хроматографії передбачає екстрагування летких сполук із проб продуктів етиловим спиртом, додавання хлориду натрію для осаду білків проби, нагрівання за температури 50 °С, подвійне центрифугування, введення другого супернатанту в інжектор газового хроматографа і аналізування наявності пропіленгліколю на капілярній колонці FFAP за часом утримування піку пропіленгліколю на хроматограмі, що ідентифікує штучний ароматизатор.

У відповідності з винаходом пробу готують з хлоридом натрію та етиловим спиртом, нагрівають пробу за температури 50 °С упродовж 20 хв., центрифугують за 13 тис.об/хв. упродовж 15 хв., відбирають супернатант і центрифугують його за 13 тис.об/хв. упродовж 10 хв., відбирають другий супернатант і вводять в інжектор газового хроматографа, виявляють штучний ароматизатор за ідентифікуванням піку пропіленгліколю на хроматограмі продукту.

У способі виявлення штучних ароматизаторів у молочних та молоковісних продуктах на основі пропіленгліколю готування проби для екстрагування летких сполук відбувається відбиранням наважки (0,8±0,001) г, додаванням хлориду натрію (0,8±0,001) г, та (0,4±0,001) г етилового спирту. Отриману суміш струшують для отримання гомогенності проби. Нагрівають пробу на водяній бані за температури 50 °С упродовж 20 хв. і центрифугують за 13 тис.об/хв. упродовж 15 хв. Супернатант - рідина, що утворилася над осадом, - відбирають і центрифугують за 13 тис.об/хв. упродовж 10 хв. Відбирають другий супернатант і у кількості 1 мм³ вводять в інжектор газового хроматографа, обладнаного капілярною колонкою FFAP. Отримують хроматограму. Порівнюють отриману хроматограму із стандартною хроматограмою. Виявлення штучного ароматизатора у молочних та молоковісних продуктах на основі пропіленгліколю проводять за ідентифікацією пропіленгліколю шляхом порівнянням піку пропіленгліколю і часу його утримування.

Спосіб виявлення штучних ароматизаторів у молочних та молоковісних продуктах виконують таким чином.

Готують пробу пропіленгліколю - розчин стандарту 0,01 % пропіленгліколю у водно-спиртовій суміші складу 30/70 об. % і вводять 1 мм³ проби в інжектор газового хроматографа "Кристаллюкс 4000М", обладнаного капілярною колонкою FFAP 60 м із внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною шару нерухомої фази 0,25 мкм. Вимірювання у газо-хроматографічній системі проводять за програмування температури термостату колонки 60-180 °С із швидкістю 5 °С/хв.; температури детектора - 200 °С, температури інжектора - 200 °С, коефіцієнту поділу потоку - 80:1, газу-носія - гелію, за швидкості потоку 30 дм³/год. Реєструють піки в інтервалі часу утримування, які відповідають стандарту пропіленгліколю. Оброблення результатів вимірювань виконують, використовуючи програмне забезпечення, яке входить у комплект газового хроматографа. Пробу пропіленгліколю аналізують двічі за умов збіжності у відповідності з вимогами ДСТУ ISO 5725-1. Таким чином отримують стандартну хроматограму піку і час утримування речовини - пропіленгліколю.

Готують пробу молочних і молоковісних продуктів. Відбирають наважку проби у кількості (0,8±0,001) г, додають хлорид натрію (0,8±0,001) г, та (0,4±0,001) г етилового спирту. Отриману суміш струшують для отримання гомогенності проби. Нагрівають пробу на водяній бані за температури 50 °С упродовж 20 хв. і центрифугують за 13 тис.об/хв. упродовж 15 хв. Супернатант - рідина, що утворилася над осадом, - відбирають і центрифугують за 13 тис.об/хв. упродовж 10 хв. Відбирають другий супернатант у кількості 1 мм і вводять в інжектор газового хроматографа "Кристаллюкс 4000М", обладнаного капілярною колонкою FFAP 60 м із внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною шару нерухомої фази 0,25 мкм, і отримують хроматограму проби продукту.

Отриману хроматограму проби продукту порівнюють із стандартною хроматограмою пропіленгліколю, аналізують та ідентифікують на наявність штучного ароматизатора у пробі за піком і часом утримування пропіленгліколю на хроматограмі. Оброблення результатів вимірювань виконують, використовуючи програмне забезпечення, яке входить у комплект газового хроматографа.

Оскільки час виходу летких органічних сполук на капілярній колонці відрізняється в залежності від хімічної будови молекули, в основу способу покладено газохроматографічний

метод розділення хімічних сполук, тому спосіб дозволяє виявляти штучні ароматизатори на основі пропіленгліколю у молочних та молоковмісних продуктах методом газової хроматографії.

Приклад 1. Спосіб отримання стандартної хроматограми на основі пропіленгліколю.

Готували пробу пропіленгліколю - розчин стандарту 0,01 % пропіленгліколю у водно-спиртовій суміші складу 30/70 об. % і вводили 1 мм³ проби в інжектор газового хроматографа "Кристаллюкс 4000М", обладнаного капілярною колонкою FFAP 60 м із внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною шару нерухомої фази 0,25 мкм. Вимірювання у газо-хроматографічній системі проводили за програмування температури термостату колонки 60-180 °C із швидкістю 5 °C/хв.; температури детектора -200 °C, температури інжектора -200 °C, коефіцієнту поділу потоку - 80:1, газу-носія - гелію, за швидкості потоку 30 дм³/год. Реєстрували піки в інтервалі часу утримування, які відповідали стандарту пропіленгліколю. Оброблення результатів вимірювань виконували, використовуючи програмне забезпечення, яке входить у комплект газового хроматографа. Пробу пропіленгліколю аналізували двічі за умов збіжності у відповідності з вимогами ДСТУ ISO 5725-1. Таким чином отримували стандартну хроматограму піку і час утримування речовини - пропіленгліколю.

На фіг. 1 зображено стандартну хроматограму піку і час утримування пропіленгліколю. Висота і площа піку відповідає концентрації пропіленгліколю у вихідному стандартному розчині 2,25 г/100 г, час утримування - 27,28 хв.

Приклад 2. Спосіб виявлення штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю у маслі солодковершковому із вмістом жиру 78 %.

Готували пробу масла солодковершкового. Відбирали наважку проби у кількості (0,8±0,001) г в епендорф об'ємом 2 см², додали хлорид натрію (0,8±0,001) г, та (0,4±0,001) г етилового спирту. Отриману суміш, для гомогенізації проби, струшували на центрифугі-вортекс Biosan, Латвія. Нагрівали пробу на водяній бані за температури 50 °C упродовж 20 хв. і центрифугували на мікроцентрифугі 18 Beckman Coulter, США, за 13 тис.об/хв. упродовж 15 хв. Відбирали супернатант і центрифугували на мікроцентрифугі 18 Beckman Coulter, США, за 13 тис.об/хв. упродовж 10 хв. Відбирали другий супернатант і вводили у кількості 1 мм³ в інжектор газового хроматографа "Кристаллюкс 4000М". Для хроматографічного розділення використовували капілярну колонку FFAP 60 м із внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною шару нерухомої фази 0,25 мкм і отримали хроматограму проби масла солодковершкового.

Оброблення результатів вимірювань виконували, використовуючи програмне забезпечення, яке входить у комплект газового хроматографа.

Отриману хроматограму проби масла солодковершкового 78 % порівнювали із стандартною хроматограмою пропіленгліколю, аналізували на наявність штучного ароматизатора у пробі за піком пропіленгліколю на хроматограмі.

На фіг. 2 зображено хроматограму масла солодковершкового 78 % жирності. Порівнянням і аналізом отриманої хроматограми масла солодковершкового 78 % і стандартної хроматограми пропіленгліколю не ідентифікували наявність штучного ароматизатора. Пік, що відповідає пропіленгліколю з часом утримування - 27,28 хв. відсутній, тобто штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю у маслі солодковершковому не виявлено.

Приклад 3. Спосіб виявлення штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю у спреї солодковершковому із вмістом жиру 72,5 %.

Спосіб за прикладом 3 виконували аналогічно прикладу 2, готували пробу спрею солодковершкового із вмістом жиру 72,5 %.

Отриману хроматограму проби спрею солодковершкового порівнювали із стандартною хроматограмою пропіленгліколю, аналізували на наявність штучного ароматизатора у пробі за піком пропіленгліколю на хроматограмі.

На фіг. 3 зображено хроматограму спрею солодковершкового із вмістом жиру 72,5 %. Порівнянням і аналізом отриманої хроматограми спрею солодковершкового із вмістом жиру 72,5 % і стандартної хроматограми пропіленгліколю ідентифікували наявність штучного ароматизатора за піком, що відповідає пропіленгліколю з часом утримування - 27,29 хв., концентрації - 25,7 мг/100 г продукту.

Приклад 4. Спосіб виявлення штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю у біоїогурті із вмістом жиру 1,5 %.

Спосіб за прикладом 4 виконували аналогічно прикладу 2, готували пробу біоїогурту із вмістом жиру 1,5 %.

Отриману хроматограму проби біоїогурту із вмістом жиру 1,5 % порівнювали із стандартною хроматограмою пропіленгліколю, аналізували на наявність штучного ароматизатора у пробі за піком пропіленгліколю на хроматографі.

На фіг. 4 зображено хроматограму біойогурту із вмістом жиру 1,5 %. Порівнянням і аналізом отриманої хроматограми біойогурту із вмістом жиру 1,5 % і стандартної хроматограми пропіленгліколю ідентифікували наявність штучного ароматизатора за піком, що відповідає пропіленгліколю з часом утримування - 27,25 хв., концентрації - 108,0 мг/100 г продукту.

5 Приклад 5. Спосіб виявлення штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю у сирі твердому сичужному з ароматом топленого молока з вмістом жиру 45 % у перерахунку на сухі речовини.

Спосіб за прикладом 5 виконували аналогічно прикладу 2, готували пробу сиру твердого сичужного з ароматом топленого молока з вмістом жиру 45 % у перерахунку на сухі речовини.

10 Отриману хроматограму проби сиру твердого сичужного з ароматом топленого молока з вмістом жиру 45 % у перерахунку на сухі речовини порівнювали із стандартною хроматограмою пропіленгліколю, аналізували на наявність штучного ароматизатора у пробі за піком пропіленгліколю на хроматограмі.

15 На фіг. 5 зображено хроматограму сиру твердого сичужного з ароматом топленого молока з вмістом жиру 45 % у перерахунку на сухі речовини.

20 Порівнянням і аналізом отриманої хроматограми сиру твердого сичужного з ароматом топленого молока з вмістом жиру 45 % у перерахунку на сухі речовини і стандартної хроматограми пропіленгліколю ідентифікували наявність штучного ароматизатора за піком, що відповідає пропіленгліколю з часом утримування - 27,20 хв., концентрації - 23,4 мг/100 г продукту.

За наведеними прикладами у запропонованому способі готування проб молочних продуктів та молоковісних продуктів і їх аналізування на газовому хроматографі, обладнаному капілярною колонкою FFAP, дозволяє в продуктах виявляти штучні ароматизатори на основі пропіленгліколю.

25 Технічним результатом винаходу є нове забезпечення якісного виявлення штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю у молочних та молоковісних продуктах методом капілярної газової хроматографії. Ідентифікація пропіленгліколю дозволяє визначити наявність ароматизатора при одночасному підвищенні точності та оперативності визначення.

30 Спосіб дозволяє ідентифікувати пропіленгліколь незалежно від масової частки жиру у продукті. Цей спосіб не вимагає складної апаратурної бази та реактивів, що мають високу вартість. Спосіб дозволяє, у молочних та комбінованих продуктах, а також сирах, виявляти наявність штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю, вміст якого складає не менше, ніж 0,10 мг на 100 г продукту, і може бути використаний для виявлення штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю в контролюванні якості харчових продуктів.

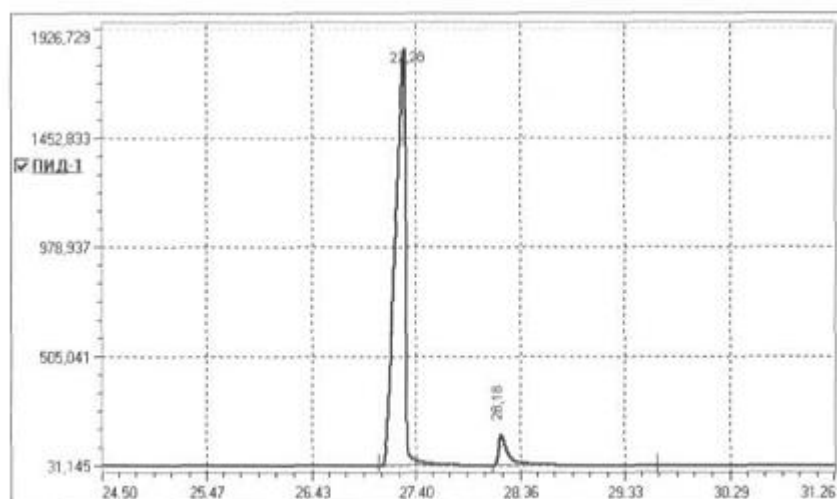
35 Таким чином, заявлений спосіб виявлення штучних ароматизаторів у молочних та молоковісних продуктах за вмістом пропіленгліколю методом капілярної газової хроматографії є ефективним, економічним та зручним для якісного виявлення штучних ароматизаторів.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

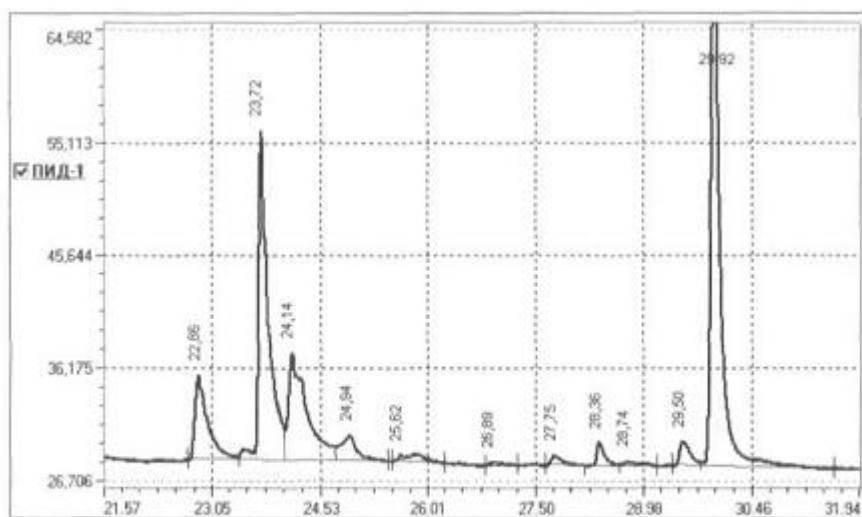
40

Спосіб виявлення штучних ароматизаторів на основі пропіленгліколю у молочних та молоковісних продуктах методом газової хроматографії передбачає готування проби, введення супернатанту в інжектор газового хроматографа, отримання стандартної хроматограми і хроматограми продукту, порівняння їх, який **відрізняється** тим, що готують пробу продукту з хлоридом натрію та етиловим спиртом, нагрівають пробу за температури 50 °С упродовж 20 хв., центрифугують за 13 тис. об./хв. упродовж 15 хв., відбирають супернатант і центрифугують його за 13 тис. об./хв. упродовж 10 хв., відбирають другий супернатант і вводять в інжектор газового хроматографа, виявляють штучний ароматизатор за ідентифікуванням піка пропіленгліколю на хроматограмі продукту.

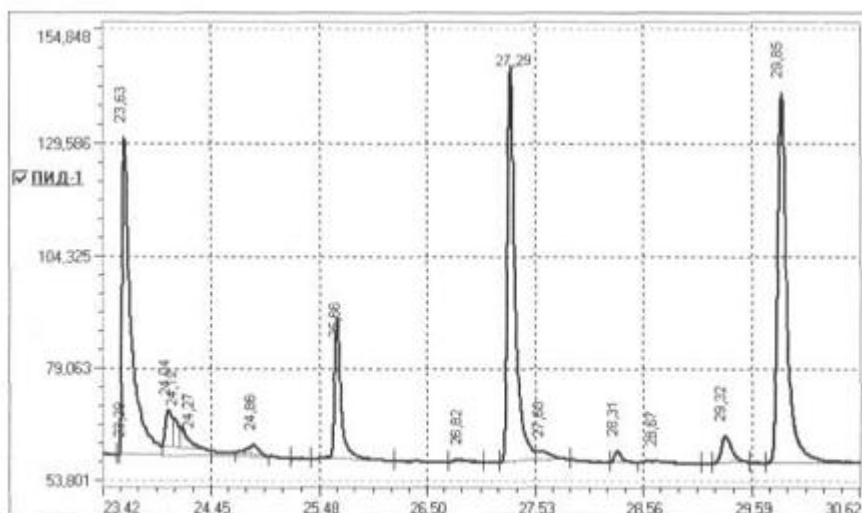
45



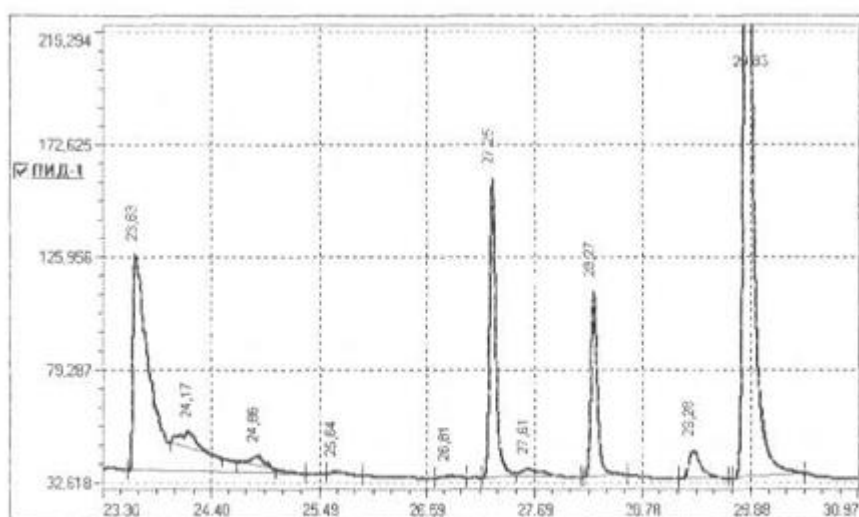
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

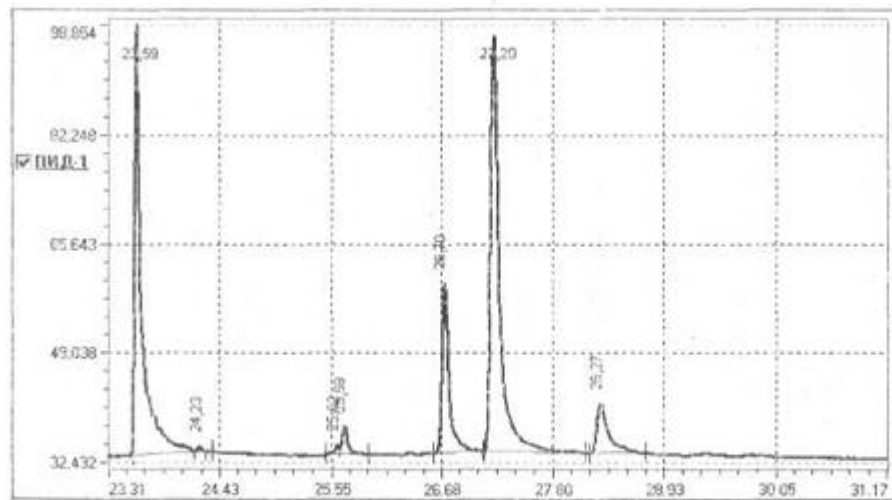


Fig. 5

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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