

ІННОВАЦІЙНА АКВАНАНОТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ ЦИТРАТУ ЦИНКУ ДЛЯ ВИКОРИСТАННЯ В ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВОСТІ ТА ОПРАЦЮВАННЯ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ЇХ СКЛАДНИКІВ

Гуліч М.П., д-р мед. наук, професор, Ємченко Н.Л., канд. хім. наук, старш. наук. співр., Єрмоленко В.П., Харченко О.О., Моїсеєнко І.Є., Яценко О.В.

Державна установа «Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва» АМН України

У роботі проведено аналіз можливості та доцільності застосування в харчовій промисловості цитрату цинку, отриманого за допомогою аквананотехнології. Показано перспективність його для збагачення харчових продуктів. Оскільки за даною технологією утворюються водні розчини цитрату цинку, концентрація яких варіює в залежності від умов отримання, для полегшення їх практичного застосування опрацьовані методи визначення складників цих розчинів. Комплексонометричний метод визначення цинку і титриметричний метод (за реакцією нейтралізації) визначення лимонної кислоти після певної модифікації запропоновано для аналізу цих нових об'єктів в якості лабораторних. Вони відрізняються простотою, експресністю, низькою собівартістю і при цьому, досить високою точністю і правильністю.

Analysis of possibility and expediency of the application in food industry of zink citrate obtained with the help of aqua nanotechnology is demonstrated in the paper. The perspective of zink citrate application for the enrichment of the foodstuffs is presented. The methods for the determination of the components in these solutions have been found for the facilitation of practical application of zink citrate water solutions. Complexometric method for zink determination and titrimetric method for citric acid determination (by the reaction of neutralization) after full modification are suggested for the analysis of these new objects as the laboratory ones. They are notable for simplicity, rate, low cost, and, at the same time, high, precision and correctness.

Ключові слова: аквананотехнологія, цитрати, цинк, лимонна кислота, комплексонометрія, інверсійна вольтамперометрія, рідинна хроматографія.

Загальновідомо, що цинк – один з найбільш важливих есенціальних мікроелементів.

Наявність дефіциту цинку в харчовому раціоні населення приводить до необхідності збагачення ним харчових продуктів, а також розробки способів збагачення ним харчових продуктів.

При розробці способів збагачення необхідно дотримуватися закону біотичної адекватності харчування, який полягає в тому, що їжа як елемент навколишнього середовища має бути біотичною, тобто нешкідливою і не вносити до внутрішнього середовища організму ксенобіотики хімічного і біологічного походження [1]. До числа проблем, що вимагатимуть грамотного вирішення при розробці і виробництві збагачених продуктів, належить і вибір фізико-хімічних форм мікронутрієнтів [2].

Ще в 70-х роках минулого сторіччя висловлювались здогади, що всі іони біометалів повинні мати свої транспортні форми (іонофори) для доставки їх у клітини організму [3]. Проте, тільки в останні роки цей факт знайшов своє практичне втілення у клінічній (фармакологічній) практиці для розробки транспортних форм для ліків і навіть, частково, в харчуванні для підвищення засвоюваності металовмісних дієтичних добавок [4,5].

Вважається, що при переході від неорганічних форм біоелементів до органічних засвоюваність їх зростає в 10 і навіть більше разів. Проте не всі органічні сполуки можуть виступати як іонофори і підвищувати біодоступність металу. Так, для цинку, міді, хрому і марганцю в якості комплексоутворювача запропоновано сполуку білкового походження. Але порівняльна оцінка біодоступності цієї органічної та неорганічної форм цинку ($ZnSO_4$) не виявила статистично достовірних відмінностей [6].

Особливу групу іонофорів становлять цитрати. В організмі вони включаються в енергетичний цикл трикарбонових кислот – цикл Кребса; з цинком вони утворюють від'ємно заряджені комплекси, що притягуються до позитивно зарядженої стінки кішківника, з кровотоком підходять до клітин організму і крізь мембрани проникають всередину.

Цитрати біометалів безпечні [7], більше того, вони проявляють антиоксидантну і радіопротекторну дію, позитивно впливають на серцево-судинну і імунну системи організму. Тому ці сполуки найбільш повно відповідають вимогам, що ставляться до інгредієнтів у складі продуктів харчування. Вони дозволені до застосування в харчових продуктах, в тому числі і для дитячого харчування [8].

Цитрати натрію, калію, магнію і заліза використовують при виробництві харчових продуктів як регулятори кислотності, як емульгатори, стабілізатори тощо [9]. Доведена можливість їх успішного застосування для збагачення відповідними мікроелементами хлібобулочних, борошняних, кондитерських виробів [10], а також кисломолочних продуктів [11].

Наразі вони синтезуються з харчової лимонної кислоти [7]. Цитрат цинку не синтезовано. На відміну від інших неорганічних сполук, цитрат цинку до недавнього часу не був «продажним» реактивом і тільки з 2000 р. він виробляється і продається фірмою Мерк. Цей реактив має високу вартість і при цьому не дуже високу чистоту (97% основної речовини), а отже, не задовольняє вимоги, що ставляться до речовин, які використовуються для збагачення харчових продуктів, щодо їх біотичності.

Як альтернативу хімічним методам синтезу сполук металів з органічними кислотами (карбоксилатів металів), у тому числі й цитрату цинку, авторами робіт [12, 13] запропоновано метод їх отримання за допомогою аквананотехнології. При цьому на першому етапі методом електроімпульсної абляції отримують аквакомплекс металів, а на другому – прямою взаємодією цих високоактивних часточок з лимонною кислотою – їх цитрати. Цей спосіб отримання цитратів металів більш дешевий, ніж хімічний, і дозволяє вийти на промислові обсяги виробництва. Крім того, в даному випадку є можливість за допомогою варіації чистоти вихідних компонентів реакції отримувати продукт потрібної (заданої) чистоти.

Оскільки за даною технологією отримуються розчини цитратів, концентрація їх варіює в досить широкіх межах залежно від параметрів фізичного процесу. Для полегшення практичного застосування цих фортифікантів необхідно було опрацювати методи визначення їх складників (цинк, лимонна кислота), придатних для використання у заводських лабораторіях.

Загалом існує велика кількість чисто хімічних та інструментальних методів визначення цинку [14]. Вагові і титриметричні методи розраховані на визначення грамових і міліграмових кількостей цинку, опектрофотометричні, спектральні і атомноабсорбційний – на його мікрограмові кількості, метод інверсійної вольтамперометрії – на мікрограмові і нанограмові його кількості.

Оскільки розчини цитрату, цинку отримані за аквананотехнологією досить концентровані (1-20 г/дм³), для визначення в них цинку нами вибрано дешевий, доступний і експресний метод комплексонометричного титрування. (Титрування цинку етилендіамінтетрауксусною кислотою (вона ж комплексон, вона ж трилон Б) в присутності металохромних індикаторів.

Комплексонометричне титрування проводили в такий спосіб. В конічну колбочку ємкістю 100 см³ вносили 5,0 см³ буферного розчину та 3-5 крапель 0,17 розчину металохромного індикатора або його суміш з NaCl (на кінчику скальпеля) і титрували із бюретки 0.1N розчином трилону Б, приготовленого із фіксаналу, інтенсивно перемішуючи до переходу забарвлення. Паралельно проводили титрування холостої проби.

Апробація на зразках цитрату, отриманого за нанотехнологією показала придатність методу. Проте при обчисленні результатів ми зіткнулись з труднощами, оскільки в розрахункову формулу для цього методу входить величина наважки, і все обчислення ґрунтується на знанні формули речовини, яку визначаємо. Для отримання формули, яка б нас задовольнила, довелося допустити, що і в цитраті цинку отриманого за нанотехнологією при достатній кількості лимонної кислоти співвідношення компонентів буде 1:1, як і в звичайному комплексі.[15]

При цьому реакцію між цитратом цинку і трилоном Б можна представити як $ZnCit^+ + H_2EDTA = ZnEDTA + H_2Cit$, тобто вона проходить в еквімолярних кількостях.

Кількість цинку в об'ємі розчину, взятому на титрування, в цьому випадку визначатиметься за формулою:

$$X = 0,001 \cdot 0,1 \cdot a \cdot E \quad (1)$$

де a – кількість трилону Б 0.1 N, що пішла на титрування, см³;
 E – еквівалент цинку

$$E_{Zn} = A_{в/2} = 65,37 = 32,685. \quad (2)$$

Тоді концентрація цинку в г/дм³ обчислюватиметься за формулою

$$X = \frac{0,1 \cdot 32,685 \cdot a}{V}, \quad (3)$$

де V – об'єм розчину, взятого на титрування, см³.

Оскільки точність комплексонометричного титрування в основному залежить від правильного вибору металохромного індикатора, було проведено порівняльне титриметричне визначення досліджуваного зразка розчину цитрату цинку з різними металохромними індикаторами в слабкислому і лужному середовищі. Результати його наведено в табл. 1

Таблиця 1 – Результати визначення концентрації цинку в розчинах його цитрату, отриманого за нанотехнологією в присутності 4х металохромних індикаторів

Індикатор	pH	Результати, г/дм ³ M±m, n=5	S	Похибка, %	Перехід забарвлення індикатора
Параамінорезорцин (ПАР)	4,8-10,0	5,15±0,16	0,148	3,07	оранжевий – жовтий
Мурексид	10,0	5,07±0,12	0,109	2,30	рожевий – фіалковий
Ксиленоловий оранжевий (КО)	5,0-7,0	5,41±0,06	0,277	5,51	бузковий – блідо-жовтий
Еріохром-чорний (ЕХЧ)	10,0	5,19±0,06	0,055	1,37	бузковий – синій

Найбільш чіткий перехід забарвлення в точці еквівалентності спостерігався з індикатором еріохром-чорним Т. Він же виявився найбільш точним. Рівноточність цих визначень перевірили за критерієм Фішера (F), що розраховується як відношення квадратів дисперсій [16]. Розрахунок підтвердив, що методи нерівноточні. Найближчий за точністю до методу комплексонометричного титрування з індикатором еріохромчорним Т є метод титрування з індикатором мурексидом.

Проведено також визначення цинку в цих зразках методом інверсійної вольтамперометрії на вольтамперометричному аналізаторі АВА-1 за методикою [17]. Пробопідготовка за ГОСТ 26929-86 [18].

Фоновий розчин – 8 см³ 0.05 н НСІ, 2 см³ КНО₃ 1 М, 1 крапля Нg(НО₃) 10 г/дм³ + 1 крапля Ga(НО₃) 0.001 М. Проте, з огляду на дуже високу чутливість цього методу, дослідні розчини доводилось розбавляти в 100-10000 разів, що звичайно збільшує похибку визначення.

Результати порівняльного визначення цинку в розчинах його цитрату, отриманого за нанотехнологією комплексонометричним і вольтамперометричним методами, наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Результати порівняльного визначення цинку в розчинах

№ серії	Зразок розчину цитрату цинку	Вміст цинку, г/дм ³		Розбіжність результатів, %	pH розчинів
		Комплексонометрія	Інверсійна вольтамперометрія		
1	Zn ₁	0,72	0,96	28,57	2,89
	Zn ₂	11,11	16,00	36,09	2,98
	Zn ₃	12,58	11,65	7,68	2,85
	Zn ₄	5,20	5,60	7,40	5,45
2	Zn № 1	2,83	3,10	9,11	3,55
	Zn № 2	5,7	5,50	3,57	3,86
	Zn № 3	1,32	1,33	0,75	3,57

Дані таблиці свідчать, що розбіжність результатів, отриманих двома методами загалом невелика (1-10 %) навіть у випадку зразків Zn₁ і Zn₂ її можна вважати прийнятною, оскільки розбіжність для самого атестованого і валідизованого вольтамперометричного методу становить 30 % [17]. Тобто можна зробити висновок про правильність запропонованого комплексонометричного методу.

Для визначення вмісту в розчинах цитрату лимонної кислоти як базовий метод нами прийнято метод ВЕРХ. Визначення проводили на рідинному хроматографі Agilent Technologies-1200 з УФ-детектором. Умови визначення: довжина хвилі (λ) 210 нм; колонка SB-C18; 150 мм x 4.6 мм x 5 р.к.м., t_{кол.} = 35 °С, F_{лов} = 1.0 мл/хв.

Стандарт – харчова лимона кислота

Рухома фаза: 99 % – 20мМКН₂РО₄, 1 % ацетонітрил

Вихід піку на 3.4 хв.

При хроматографуванні досліджувані розчини розбавляли в 100 разів. Розрахунок вели за формулою

$$X = \frac{Sp.л.к. \cdot Cст.л.к. \cdot F}{Scс.л.к.}, \quad (4)$$

де $S_{р.л.к.}$ і $S_{ст.л.к.}$ – площі піків лимонної кислоти на хроматограмах дослідного і стандартного розчинів, $см^3$,

$S_{ст.л.к.}$ – концентрація лимонної кислоти в робочому розчині, $мг/см^3$,

F – фактор розведення.

Встановлено, що лимонна кислота і цитрат виходять на хроматограмі одним піком, не розділяючись. Сульфат цинку на хроматограмах не проявляється. Тобто, визначається як вільна, так і зв'язна лимонна кислота.

Проведена валідація хроматографічного методу на стандартному зразку лимонної кислоти за площею її піка. Результати її наведено в таблиці 3. Вона показала, що метод точний і достатньо прецизійний (відтворюваність результатів 5.6 % задовольняє умови, що ставляться до кількісного аналізу).

Таблиця 3 – Результати валідації методу ВЕРХ визначення лимонної кислоти

Концентрація стандарту, $мг/см^3$		S , $мг/см^3$	S_2 , %	Збіжність, $г=2,8 \cdot S$ $мг/см^3$	Похибка, %
Введено	Знайдено				
23,60	23,60±1,61	1,324	5,61	3,70	6,8

Враховуючи, що метод рідинної хроматографії дорогий і вимагає наявності відповідного обладнання, доцільно було б залишити його як арбітражний метод і знайти для рутинних аналізів більш простий і дешевий.

Загальновідомо, що кислоти визначаються за реакцією нейтралізації титруванням лугом (NaOH). Але карбонові кислоти навіть при високих розведеннях хоча й дисоціюють по реакції $R\text{COOH} \rightleftharpoons R\text{COO}^- + H^+$, але слабо.

Проте ті з них, що мають величину константи іонізації $pK_a \leq 5-6$, можна титрувати QIN розчином NaOH в присутності фенолфталеїну з чітким переходом забарвлення в точці еквівалентності [19].

Константи іонізації лимонної кислоти варіюють від 3,13 до 6,40. Отже, необхідно було перевірити можливість проведення реакції нейтралізації лимонної кислоти. Якщо кислота титрується лугом, можна визначити кислотно-еквівалентну масу титрованої кислоти (КОЕ), тобто кількість кислоти в г, яка еквівалентна 1дм^3 1 N розчину лугу [19]

$$КОЕ, г = \frac{g \cdot 1000}{V \cdot N}, \quad (5)$$

де g – кількість титрованої кислоти;

V – об'єм титранту, що пішов на титрування;

N – нормальність титранту.

Знаючи КОЕ і молекулярну масу лимонної кислоти, можна визначити в ній число карбоксильних груп. Апробація методу на зразку харчової лимонної кислоти показало його придатність. Титрування йде в еквімолярних співвідношеннях. Кислотно-еквівалентна маса кислоти в цьому випадку становить 64,945 г.

$M_{в.к-ти}$ – 192,13 г, отже число карбоксильних груп у молекулі кислоти буде:

$$192,13 : 64,945 = 2,96 \approx 3.$$

Таким чином, у лимонній кислоті 3 карбоксильні групи, що відповідає дійсності, а отже, метод цілком придатний для визначення концентрації лимонної кислоти. Апробація методу на розчинах цитрату цинку, отриманого за нанотехнологією, показала, що, оскільки, на відміну від методу ВЕРХ, цим методом визначається тільки незакомплексована лимонна кислота, то для визначення «валового» вмісту лимонної кислоти отримані результати треба перерахувати за формулою:

$$X_{(г/дм^3)} = B + 2C_{Zn}, \quad (6)$$

де B – концентрація лимонної кислоти визначена за титруванням, $г/дм^3$;

C_{Zn} – концентрація в розчині цинку, $г/дм^3$.

При виведенні формули керувались тим, що за реакцією нейтралізації не титруються 2 карбоксильні групи зв'язані з цинком, а вагове співвідношення між компонентами цитрату дорівнює 1:3.

Таблиця 4 – Результати визначення лимонної кислоти в розчинах цитрату цинку, отриманих за аквананотехнологією

№ серії	Зразок	Концентрація лимонної кислоти, г/дм ³			Розбіжність між методами, %	рН розчинів
		Метод ВЕРХ	Метод нейтралізації			
			Без перерахунку	З перерахунком		
1	Zn ₁	24.79	24.33	25.77	3.65	2.89
	Zn ₂	72.86	51.87	74.09	1.67	2.98
	Zn ₃	78.59	63.40	89.02	12.44	2.85
2	Zn №1	12.69	7.04	12.10	4.76	3.55
	Zn №2	18.73	8.25	19.65	4.79	3.86
	Zn №3	6.08	3.52	6.16	1.31	1.31

Як видно із наведених даних, розбіжність між методами загалом не перевищує 5 %, в той час як для самого методу ВЕРХ розбіжність між паралельними становить 16 %.

Висновки

Доведено перспективність для фортифікації продуктів харчування цинком застосування його органічної форми – розчину цитрату цинку, отриманого за аквананотехнологією.

З метою полегшення практичного застосування цих розчинів – розробки технології і збагачення ними продуктів харчування вибрано, опрацьовано та за необхідності модифіковано 4 методи визначення складників даних розчинів.

В якості рутинних (лабораторних) методів визначення цинку і лимонної кислоти запропоновано експресні, дешеві і прості методи комплексонометричного титрування цинку з індикатором еріохромчорним Т і титрування лимонної кислоти за реакцією нейтралізації.

Порівняння результатів, отриманих даними методами і офіційними методами інверсійної вольтамперометрії і ВЕРХ, довело їх правильність і можливість використання в заводських лабораторіях.

Література

1. Бацукова Н.Л. Современные проблемы питания человека / Бацукова Н.Л., Филонов В.П., Аветисова А.Р.; – Беларусь, Минск: Здоровье и окружающая среда, вып. 12, 2008. – 8 с.
2. Спиричев В.Б. Обогащение пищевых продуктов микронутриентами : научные подходы и практические решения / Спиричев В.Б., Шатнюк Л.Н., Позняковский В.М.: Пищевая промышленность, 2000. – № 3, С. 10-16.
3. Яцимирский К.Б. Моделирование в бионеорганической химии / К.Б. Яцимирский. – Журн. Всесоюзного хим. общества им. Д.И. Менделеева, 1976. – т. 21, № 6, С.605 – 611.
4. Кузнецова С.А., Лебедева А.Ф. Наноккомпозиты лекарственных веществ с арабиногалактоном. – Вестник Красноярского гос. ун-та. Сер. естественных наук, 2005. – № 2, – С. 121 – 124.
5. Негаева С.В. Новое поколение биологически активных добавок / С.В. Негаева. – Москва, ООО НПП «Биотика – С». (<http://www.biotika.ru>)
6. Сравнительная оценка биодоступности органической и неорганической форм цинка in vivo / М. Баяржаргал, И.С. Зилова, С.Н. Зорин, И.В. Гмошинский, А.В. Бучанова, Л.В. Шевякова, Н.Н. Махова, В.К. Мазо; – Вопросы питания, 2008. – № 9.– С. 34 – 37
7. Новинюк Л.В. Цитраты – безопасные нутриенты / Л.В. Новинюк. – Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2009.- №3 – С. 70-71.
8. Гигиенические требования по применению пищевых добавок : Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы : СанПин 2.3.2. 1293 – 03. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 416 с.
9. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия / Л.А. Сарафанова. – СПб: ГИОРД. – 2003. – 123 с.
10. Использование цитратов в производстве хлебобулочных изделий / [Н.Я. Новотельнова, Т.А. Никифорова, Л.И. Кузнецова, Н.С.]. – Качество и безопасность с.-х. сырья. – Углич, 2004. – С. 32-34.
11. Новинюк Л.В. Обогащение молочных продуктов цитратами и лактатами / Л.В. Новинюк, Т.А. Кудрявцева. Молочная промышленность. – № 9. – 2007. – С. 18 – 23.

12. Патент України № 37412. Спосіб отримання екологічно чистих наночастинок електропровідних матеріалів «Електроімпульсна абляція» МПК ВОj 2/02. Опубл. 25.11.2008. Бюл. № 22.
13. Патент України № 39397 Надчистий водний розчин нанокарбоксилату металу. МПК (2009) C07C 51/41; C07F 5/00; C07T 15/00; C07C 53/00. Опубл. 25.02.2009. Бюл. № 4.
14. В.П. Живописцев. Аналитическая химия цинка / В.П. Живописцев, Е.А. Селезнева. «Наука», М.-1975. – 197 с.
15. Талалаева О.Д. Изучение комплексообразования ионов цинка с лимонной кислотой. ЖОХ. / О.Д. Талалаева, А.С. Тихонов. – № 23. – 1953. – 2067 с.
16. Рего К.Г. Метрологическая обработка результатов технических измерений / К.Г. Рего. – Киев: «Техника», 1987. – 127 с.
17. Методика виконання вимірювань вмісту цинку в водних розчинах методом інверсійної вольтамперометрії. МВВ № 084 – 12/04 – 98.
18. ГОСТ 26929-86 «Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения токсичных элементов.
19. Мазор Л. Методы органического анализа / М. – 1986. – 584 с.

УДК 613.2:351.773:546.15:543.06

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ КОНТРОЛЯ ЙОДА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ

Ермоленко В.П., научный сотрудник, Харченко О.О., младший научный сотрудник,
Моисеенко И.Е., научный сотрудник
Институт гигиены и медицинской экологии им. А.М. Марзеева, г. Киев

Работа посвящена выбору, апробации и модификации метода определения йода в пищевых продуктах. Проведен сравнительный анализ титриметрических, экстракционно-спектрофотометрических и вольтамперометрических методов определения йода в продуктах питания.

Work is devoted to a choice of approbation and modification of the method for a determination of iodine in foodstuffs. The comparative analysis of titrimetric, extraction- and spectrophotometrical and voltamperometrical methods for the determination of iodine in the foodstuffs has been carried out.

Ключевые слова: йод, йодид-ион, методы определения, титрование, электрод, вольтамперометрия, мониторинг.

Вступление. В последнее время на рынке Украины появилось значительное количество продуктов питания, обогащенных йодом: молочнокислая, хлебобулочная продукция, диетические добавки. Для осуществления контроля за содержанием йода в йодированных продуктах и йодсодержащих пищевых добавках необходимо разработать легко воспроизводимый и высокочувствительный экспресс-метод определения йода.

Цель. Мы поставили перед собой задачу выбора, апробации и модификации метода определения йода в пищевых продуктах, пригодного для осуществления мониторинга за содержанием йода.

Аналитическая химия располагает не слишком обширным арсеналом методов определения йода. Общеизвестно качественное его определение с крахмалом, с образованием комплекса синего цвета. Существует ряд титриметрических методов определения йодидов:

- титрование тиосульфатом;
- титрование N – бромсукцинимидом. Интервал определения от 50 мкг до 20 мг КJ;
- титрование J в среде 0.15 – 0.2 N HNO₃ стандартным раствором азотной ртути в присутствии дифенилкарбазида.

Титриметрический метод определения йодата калия в поваренной соли не обладает достаточной чувствительностью. Минимальное определяемое его количество составляет 54 мг/кг, что на два – три порядка выше содержания йода, например, в хлебобулочных изделиях. В России предложен кинетический роданидно-нитритный метод. Но хотя он и располагает достаточным пределом обнаружения и точностью, но является косвенным и трудоемким. Кроме того, он не имеет удовлетворительных метрологических характеристик.

Вторая группа методов основана на экстракционно-спектрофотометрическом определении йодидов.