

Газохроматографическое определение количественного состава пищевых эмульгаторов E471

А.В. Зыков¹, В.А. Крысанов², Н.Я. Мокшина^{3*}

¹Открытое акционерное общество «Эфирное», Российская Федерация, 309850, Белгородская обл., г. Алексеевка, ул. Фрунзе, 2

²ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Российская Федерация, 394006, Воронеж, Университетская площадь, 1

³ВУНЦ ВВС «Военно-воздушная академия им. профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина», Российская Федерация, 394064, Воронеж, ул. Старых большевиков, 54 а

*Адрес для переписки: Мокшина Надежда Яковлевна, E-mail: moksnad@mail.ru

Поступила в редакцию 21 февраля 2015 г., после исправлений – 15 апреля 2015 г.

Пищевая добавка E471 обозначает ряд моноглицеридов и диглицеридов жирных кислот и применяется в пищевой промышленности в качестве добавки эмульгатора-стабилизатора. Наиболее часто используется при производстве маргарина, мороженого, майонезов, йогуртов и других продуктов с высоким содержанием жира. Разработана методика газохроматографического определения количественного состава пищевых эмульгаторов на основе моноглицеридов (E471). Сущность методики заключается в превращении компонентов пробы в более летучие силильные производные в присутствии пиридина и N-метил-N-(триметилсилил)трифторацетамида и последующем газохроматографическом определении с применением внутренних стандартов (пропиленгликоль и трикаприн). Анализ проводили на газовом хроматографе Bruker 451 GC с пламенно-ионизационным детектором, капиллярная колонка – BR-5ht (100 %-диметилполисилоксан). Идентификацию продуктов реакции осуществляли с применением масс-спектрометра ScionTQ и библиотеки масс-спектров NIST11. Выбранные условия хроматографирования характеризуются незначительной продолжительностью приборного анализа (35 мин) и отсутствием перекрывания пиков. Установлено содержание глицерина и диглицерина, свободных жирных кислот, моно-, ди- и триглицеридов в семи коммерческих образцах.

Ключевые слова: эмульгатор E471, моноглицериды жирных кислот, газовая хроматография.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2015, vol. 19, no. 2, pp. 169-174

DOI: 10.15826/analitika.2015.19.2.004

Determination of the quantitative composition of food emulsifier E471 by gas chromatography

A.V. Zykov¹, V.A. Krysanov², N.Ya. Mokshina^{3*}

¹Open joint stock company "Efirnoe", ul. Frunze, 2, Alekseevka, Belgorod region, 309850, Russian Federation

²FSEI HPE "Voronezh State University", Universitetskaia pl., 1, Voronezh, 394006, Russian Federation

³N. Zhukovskii and Yu. Gagarin Air Force Academy, ul. Starykh bol'shevikov, 54a, Voronezh, 394064, Russian Federation

*Corresponding author: Nadezhda Ia. Mokshina, E-mail: moksnad@mail.ru

Submitted 21 February 2015, received in revised form 15 April 2015

E471 nutritional supplement designates a number of monoglycerides and diglycerides of fatty acids, and is applied in the food industry as an emulsifier-stabilizer additive. It is most often used during the production of margarine, ice cream, mayonnaise, yogurts and other products with the high fat content. The technique of gas chromatographic determination of the quantitative composition of food emulsifiers on the basis of monoglycerides (E471) was developed. The essence of the technique consists in transformation of components of the sample into more volatile silyl derivatives in the presence of pyridine and N-Methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide and the subsequent gas chromatographic determination with the application

of internal standards (propylene glycol and tricaprin). The analysis was carried out on a Bruker 451 GC gas chromatograph with a flame ionization detector, capillary column - BR-5ht (100 %-dimethylpolysiloxane). Identification of the reaction products was performed with an application of a Scion TQ mass spectrometer and NIST11 library of mass spectrums. Selected chromatographic conditions were characterized by a short duration of the instrument analysis (35 min) and the absence of overlapping peaks. The content of glycerin and diglycerin, free fatty acids, mono-, di- and triglycerides in seven commercial samples was established.

Keywords: emulsifier E471, monoglycerides of fatty acids, gas chromatography.

ВВЕДЕНИЕ

Моно- и диглицериды являются наиболее широко используемыми синтетическими эмульгаторами пищевого назначения (E471). Их получение основано на переэтерификации жиров в присутствии свободного глицерина или прямой переэтерификации глицерина жирными кислотами. Действующими веществами в большинстве случаев являются только моноглицериды, примеси – ди- и триглицериды, свободный глицерин и диглицерин, жирные кислоты и неомыляемые жиры [1].

Быстрый, точный и легкий в выполнении метод определения моноглицеридов в жирах стал важным требованием контроля качества, когда применение моноглицеридов в смесях для маргарина стало широко распространённым. В качестве основы такого метода наряду с другими процессами были исследованы определение гидроксильного числа, измерение поверхностного натяжения и спиртовая экстракция [2]. Эти методы признаны недостаточно специфичными и чувствительными или же не подходящими для использования при контроле качества. Наиболее удовлетворительным оказался метод определения моноглицеридов и свободного глицерина, основанный на их количественном окислении йодной кислотой. Моноглицериды существуют в α - и β -изомерных формах, из них только α -моноглицериды окисляются йодатами, этот факт значительно ограничивает применение данного метода [2-4].

Для определения моно-, ди и триглицеридов, а также свободного глицерина применяется высокоэффективная эксклюзионная хроматография с рефрактометрическим детектированием [5]. Недостатком данного способа является применение метода внутренней нормализации, подразумевающего допущение о том, что отклик детектора для всех определяемых компонентов одинаков, к тому же методика не учитывает содержание свободных жирных кислот и других примесей.

Известно газохроматографическое определение моно- и диглицеридов [6], однако при этом методика не позволяет одновременно определять содержание диглицерина и триглицеридов.

Цель данного исследования – разработка комплексной хроматографической методики определения количественного состава пищевых эмульгаторов на основе моно- и диглицеридов.

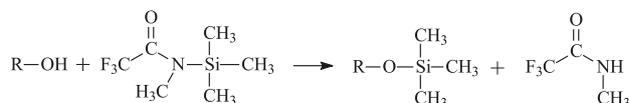
Экспериментальная часть

Приготовление внутреннего стандарта № 1 (раствор пропиленгликоля с концентрацией 5 мг/см³). Навеску пропиленгликоля (250 ± 10) мг переносят в мерную колбу объемом 50 см³ и при перемешивании доводят до метки пиридином.

Приготовление внутреннего стандарта № 2 (раствор трикаприна с концентрацией 40 мг/см³). Навеску трикаприна (1000 ± 100) мг переносят в мерную колбу объемом 25 см³ и при перемешивании доводят до метки пиридином.

Приготовление стандартного раствора. Навеску, содержащую моностеарин и монопальмитин по (900 ± 20) мг, мономиристин, моноолеин, трипальмитин и тристеарин по (100 ± 10) мг, дипальмитин и диолеин по (250 ± 10) мг, глицерин, диглицерин и пальмитиновую кислоту по (50 ± 10) мг, переносят в мерную колбу объемом 25 см³ и при перемешивании доводят до метки пиридином.

Приготовление градуировочных растворов. Готовят 10 градуировочных растворов, помещая с помощью автоматических дозаторов в хроматографические виалы объемом 10 см³ стандартный раствор (от 100 до 1000 мкл), внутренние стандарты № 1 (80 мкл) и № 2 (800 мкл). Добавляют 250 мкл N-метил-N-(триметилсилил)трифторацетамида (**MSTFA**) в каждый из градуировочных растворов, виалы герметично закрывают и интенсивно встряхивают. Выдерживают 25 мин в сушильном шкафу при температуре 70 °С. В результате реакции силилирования компоненты пробы превращаются в более летучие триметилсилильные производные:



Затем мерным цилиндром в каждую виалу добавляют 8 см³ хлористого метилена. Растворы готовы к газохроматографическому анализу.

Условия хроматографирования. Анализ проводили на газовом хроматографе Bruker 451 GC с пламенно-ионизационным детектором (ПИД). Для разделения компонентов применяли капиллярную колонку – BR-5ht (30 м x 0.25мм x 0.10 мкм) с неподвижной фазой – 100 %-диметилполисилоксан. Объем вводимой пробы – 1 мкл, газ-носитель – гелий, расход газа-носителя – 2 см³/мин, температура испарителя – 360 °С, с делением потока 40:1. Программирование термоста: начальная температура 90 °С выдерживается в течение трех минут, подъем до 240 °С со ско-

ростью 10 °С/ мин, 240 °С выдерживается одна минута, подъем до 360 °С (20 °С/ мин), конечная температура выдерживается в течение 10 мин.

Идентификацию компонентов проводили с применением масс-спектрометра ScionTQ и библиотеки масс-спектров NIST11.

Определение количественного состава пищевых эмульгаторов. В хроматографическую виалу объемом 10 см³ помещают (80 ± 10) мг гомогенизированного анализируемого пищевого эмульгатора, добавляют 80 мкл внутреннего стандарта № 1 и 800 мкл внутреннего стандарта № 2, 250 мкл MSTFA, виалу герметично закрывают и интенсивно встряхивают. Выдерживают 25 мин в сушильном шкафу при температуре 70 °С, затем мерным цилиндром в виалу добавляют 8 см³ хлористого метилена. Раствор готов к газохроматографическому анализу.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве внутреннего стандарта при определении глицерина рекомендовано применение 1,4-бутандиола или 1,2,4-бутантриола [7, 8]. Оба вещества относятся к прекурсорах наркотических средств во многих странах, поэтому их коммерческое распространение сильно ограничено. В качестве внутреннего стандарта при определении глицерина, диглицерина и свободных жирных кислот нами предложено применять пропиленгликоль. Внутренний стандарт для определения моно-, ди- и триглицеридов – трикаприн.

Изученные пищевые эмульгаторы изготавливаются из полностью или частично гидрогенизированного пальмового масла, иногда с добавлением подсолнечного или соевого, в которых преобладают пальмитиновая и С₁₈-кислоты (стеариновая, олеиновая и линолевая кислоты). Согласно расчетному методу [9], поправочный коэффициент С₁₈-кислот

относительно пальмитиновой кислоты равен 0.986, т.е. стремится к единице. Исходя из этого, поправочным коэффициентом для С₁₈-кислот можно пренебречь, и для определения общего содержания свободных жирных кислот применить градуировочный график, построенный по пальмитиновой кислоте.

В табл. 1 приведены уравнения градуировочных графиков для количественного определения аналитов. Из градуировочных уравнений находят фактор отклика детектора (коэффициент чувствительности детектора) *f*

$$f = \frac{S_{st}}{\frac{m_{st}}{S_i} \cdot m_i}, \quad (1)$$

где *S_{st}* – площадь пика внутреннего стандарта, *m_{st}* – масса внутреннего стандарта, *S_i* – площадь пика определяемого компонента, *m_i* – масса определяемого компонента.

Массовую долю определяемого компонента в образце находят по известной формуле [8]:

$$\omega = \frac{(S_i/S_{st}) \cdot f \cdot m_{st}}{m_{пробы}} \cdot 100 \% \quad (2)$$

где *m_{пробы}* – масса анализируемого образца.

На рис. 1 представлена типовая хроматограмма градуировочного раствора. Концентрационные зоны компонентов не перекрываются, продолжительность хроматографирования 35 минут.

Проанализировано 7 коммерческих образцов пищевых эмульгаторов различных производителей (табл. 2). Согласно описанию продукта Di-modanHP, содержание в нем моноглицеридов не менее 90, глицерина не более 1, свободных жирных кислот не более 1.5 % мас. Состав, установленный по данной методике: 95.2, 0.40 и 1.22 % мас. соответственно. Полученные результаты для

Таблица 1

Уравнения градуировочных графиков и коэффициент чувствительности детектора *f*

Компонент	Уравнение	<i>f</i>	<i>R</i> ²	Внутренний стандарт
Моноглицериды	$\frac{\sum S_{mono}}{S_{st}} = 1.356 \cdot \frac{\sum m_{mono}}{m_{st}}$	0.737	0.998	Пропиленгликоль
Диглицериды	$\frac{\sum S_{di}}{S_{st}} = 1.139 \cdot \frac{\sum m_{di}}{m_{st}}$	0.878	0.999	
Триглицериды	$\frac{\sum S_{tri}}{S_{st}} = 0.605 \cdot \frac{\sum m_{tri}}{m_{st}}$	1.653	0.995	
Глицерин	$\frac{S_{gly}}{S_{st}} = 1.104 \cdot \frac{m_{gly}}{m_{st}}$	0.906	0.999	Трикаприн
Диглицерин	$\frac{S_{digly}}{S_{st}} = 4.560 \cdot \frac{m_{digly}}{m_{st}}$	0.219	0.999	
Свободные жирные кислоты	$\frac{\sum S_{acid}}{S_{st}} = 5.138 \cdot \frac{\sum m_{acid}}{m_{st}}$	0.195	0.998	

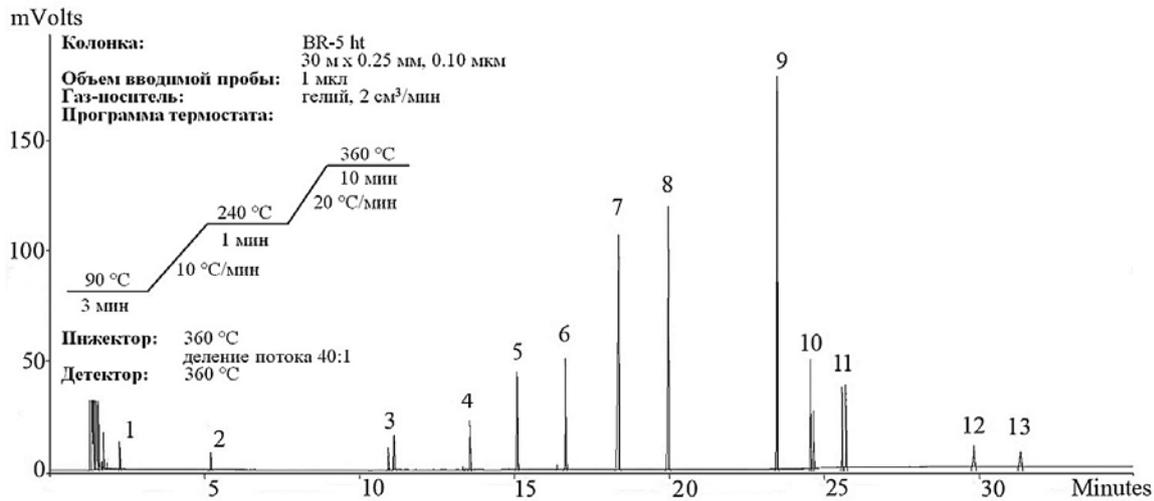


Рис. 1. Типовая хроматограмма градуировочного раствора. 1 – пропиленгликоль, 2 – глицерин, 3 – диглицерин, 4 – пальмитиновая кислота, 5 – б-монолаурин, 6 – б-мономиристин, 7 – б-монопальмитин, 8 – б-моностеарин, 9 – три-каприн, 10 – 1,2 и 1,3-дипальмитин, 11 – 1,2 и 1,3-дистеарин, 12 – трипальмитин, 13 – тристеарин

Таблица 2

Состав коммерческих эмульгаторов, % мас. (n = 3, P = 0.95).

Состав	Эмульгатор						
	Palsgaard DMG 0093	Myverol 18-80 K	Myverol 18-06 K	Myverol 18-04 K	Dimodan HP	Admul 60-04 K	БК Noi SV 45
Моноглицериды	95.8 ± 1.5	96.1 ± 1.5	94.6 ± 1.4	96.2 ± 1.5	95.2 ± 1.5	61.2 ± 1.1	47.5 ± 1.0
Диглицериды	1.88 ± 0.09	1.72 ± 0.09	2.24 ± 0.10	1.44 ± 0.08	1.92 ± 0.09	31.40 ± 0.7	39.40 ± 0.7
Триглицериды	0.30 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.28 ± 0.02	5.64 ± 0.24	9.45 ± 0.34
Глицерин	0.36 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.86 ± 0.06	1.32 ± 0.06
Диглицерин	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.02
Свободные жир-ные кислоты	1.25 ± 0.05	1.18 ± 0.04	1.32 ± 0.06	1.14 ± 0.05	1.22 ± 0.05	1.24 ± 0.05	1.28 ± 0.05

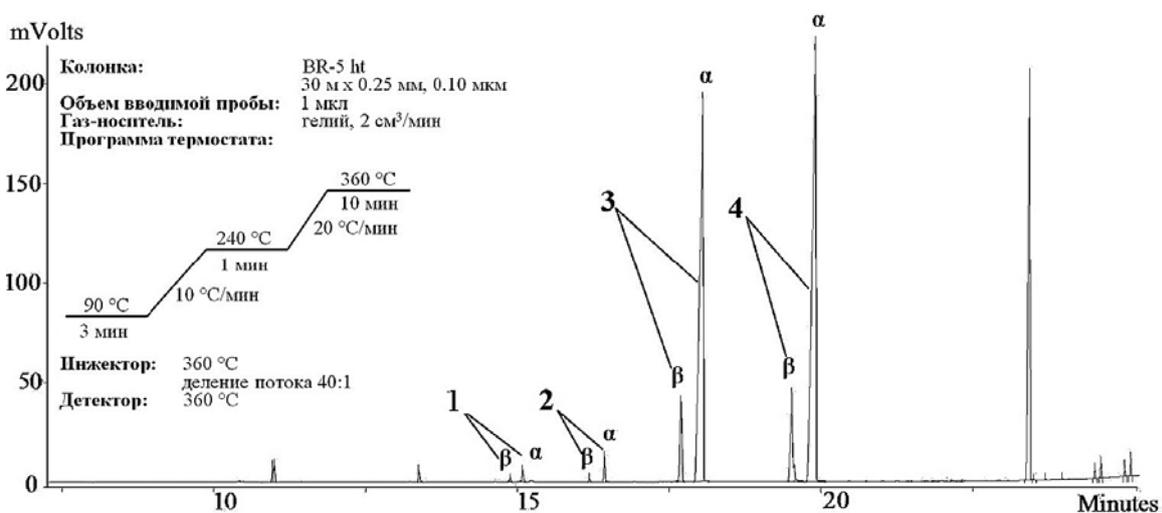


Рис. 2. Хроматограмма эмульгатора DimodanHP: 1 – α- и β-монолаурин, 2 – α- и β-мономиристин, 3 – α- и β-монопальмитин, 8 – α- и β-моностеарин

других продуктов также коррелируют с описанием (паспортами соответствия), предоставленными производителем. Например, массовая доля моноглицеридов в эмульгаторе БК NoISV 45, согласно паспорту соответствия, находится в пределах 42 – 48 %, найденное значение – 47.5 %.

Установлено, что в пищевых эмульгаторах с йодным числом менее 3 (все изученные, кроме Myverol 18-80 K) возможно раздельное определение α - и β -моноглицеридов. Изомерные α - и β -формы в виде триметилсилильных производных с успехом идентифицируются программным обеспечением NIST11. Масс-спектры этих соединений занесены в библиотеку и, несмотря на идентичную брутто-формулу, значительно отличаются.

Такая возможность имеет немаловажное значение с точки зрения прогнозирования функциональных свойств продукта. Моноглицериды в α -положении проявляют лучшую эмульгирующую способность, поэтому получение α -формы приоритетно для производителя и потребителя [1]. На рис. 2 представлена хроматограмма коммерческого эмульгатора DimodanHP, изготовленного из полностью гидрогенизированного пальмового масла (йодное число менее 3). В приведенных условиях моноглицериды в β -положении элюируются несколько раньше соответственной изомерной α -формы. Применяв метод внутренней нормализации для моноглицеридов, можно рассчитать массовую долю каждой изомерной формы (ω_α и ω_β):

$$\omega_\alpha = \frac{\sum S_\alpha}{\sum S_{\text{mono}}} \cdot \omega_{\text{mono}} = 0.9209 \cdot 95.2 = 87.67 \%;$$

$$\omega_\beta = \frac{\sum S_\beta}{\sum S_{\text{mono}}} \cdot \omega_{\text{mono}} = 0.0791 \cdot 95.2 = 7.53 \%, \quad (3)$$

где $\sum S_\alpha$ и $\sum S_\beta$ – сумма площадей пиков α -моноглицеридов и β -моноглицеридов соответственно, $\sum S_{\text{mono}}$ – сумма площадей пиков всех моноглицеридов, ω_{mono} – массовая доля моноглицеридов, найденная по формуле (2).

В эмульгаторе DimodanHP массовая доля α -моноглицеридов составила 87.67 %, β -моноглицеридов – 7.53 %.

Заключение

Разработана комплексная методика газохроматографического определения количественного состава пищевых эмульгаторов на основе моноглицеридов (E471). Методика позволяет одновременно определять моно-, ди- и триглицериды жирных кислот, свободные жирные кислоты, глицерин и диглицерин. Для эмульгаторов с йодным числом менее 3 возможно определение α - и β -изомерных форм моноглицерида. Установлен количественный состав семи коммерческих образцов пищевых эмульгаторов различных производителей.

Выполненное исследование представляет интерес для специалистов в области аналитического контроля пищевых продуктов, полученные резуль-

таты могут быть применены для определения количественного состава пищевых эмульгаторов E471.

Благодарности

Результаты получены в рамках выполнения работ по Постановлению Правительства РФ № 218 договор N 02.G25.31.0007 при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации.

Acknowledgements

The results are obtained in the framework of the works on the Resolution of the Government of the Russian Federation No. 218 the contract N 02.G25.31.0007 with assistance of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пищевые добавки: энциклопедия / Л.А. Сарафанова (сост.). СПб.: ИД «Профессия», 2012. 776 с.
2. Ричард Д. О'Брайен. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение / пер. с англ. 2-го изд. В.Д. Широков, Д.А. Бабекина, Н.С. Селиванова, Н.В. Магда. СПб.: ИД «Профессия», 2007. 752 с.
3. American Oil and chemists' Society, The official methods and recommended practices of the American oil chemists' society. 4th ed. Champaign, IL: AOCS Press, 1994. 1200 p.
4. ES ISO 7366:2012. Animal and vegetable fats and oils – Determination of 1-monoglycerides and free glycerol content. ESA, 2012. 3 p.
5. ES ISO 18395:2012. Animal and vegetable fats and oils – Determination of monoacylglycerols, diacylglycerols, triacylglycerols and glycerol by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC). ESA, 2012. 10 p.
6. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) Commission on Oils, Fats Derivatives. 1st Supplement to the 7th Revised and Enlarged Edition of Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 1992. Pp. 6.002/1 – 6.002/5.
7. ГОСТ Р ЕН 14105-2008. Производные жиров и масел. Метилловые эфиры жирных кислот (FAME). Определение содержания свободного и общего глицерина, моно-, ди-, триглицеридов (метод сравнения). М., 2009. 13 с.
8. ГОСТ Р ЕН 14106-2009. Производные жиров и масел. Метилловые эфиры жирных кислот (FAME). Определение содержания свободного глицерина. М., 2010. 11 с.
9. ГОСТ Р54686-2011. Изделия кондитерские. Метод определения массовой доли насыщенных жирных кислот. М., 2013. 12 с.

REFERENCES

1. *Pishchevye dobavki: entsiklopediia* [Food additives: Encyclopedia] / L.A. Sarafanova (sost.). SPb.: ID «Professiia», 2012. 776 p. (in Russian).
2. Richard D. O'Brien. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*. 2th ed. CRC Press, 2004. 592 p.
3. American Oil and chemists' Society, *The official methods and recommended practices of the American oil chemists' society*. 4th ed. Champaign, IL: AOCS Press, 1994. 1200 p.
4. ES ISO 7366:2012. *Animal and vegetable fats and oils – Determination of 1-monoglycerides and free glycerol content*. ESA, 2012. 3 p.

5. ES ISO 18395:2012. Animal and vegetable fats and oils – Determination of monoacylglycerols, diacylglycerols, triacylglycerols and glycerol by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC). ESA, 2012. 10 p.
6. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) Commission on Oils, Fats Derivatives. 1st Supplement to the 7th Revised and Enlarged Edition of Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 1992. Pp. 6.002/1 – 6.002/5.
7. GOST R EN 14105-2008. *Proizvodnye zhirov i masel. Metilovye efiry zhirnykh kislot (FAME). Opredelenie soderzhaniiia svobodnogo i obshchego glitserina, mono-, di-, triglitseridov (metod sravneniia)* [State Standard 14105:2003. Fat and oil derivatives. Fatty acid methyl esters (FAME). Determination of free and total glycerol and mono-, di-, triglyceride contents (reference method)]. Moscow, Standartinform Publ., 2009. 13 p. (in Russian).
8. GOST R EN 14106-2009. *Proizvodnye zhirov i masel. Metilovye efiry zhirnykh kislot (FAME). Opredelenie soderzhaniiia svobodnogo glitserina* [State Standard 14106:2003. Fat and oil derivatives. Fatty acid methyl esters (FAME). Determination of free glycerol content]. Moscow, Standartinform Publ., 2010. 11 p. (in Russian).
9. GOST R 54686-2011. *Izdeliia konditerskie. Metod opredeleniia massovoi doli nasyshchennykh zhirnykh kislot* [State Standard 54686:2011. Confectionery. Method of determination of a mass fraction of the sated fatty acids]. Moscow, Standartinform Publ., 2013. 12 p. (in Russian).