

ГОТЕЛЬНО-РЕСТОРАННА СПРАВА

DOI: [https://doi.org/10.32782/2708-4949.1\(5\).2022.1](https://doi.org/10.32782/2708-4949.1(5).2022.1)

УДК 338.439.4: 543.55

О. В. Вишнікіна, О. А. Лихолат, О. В. Сабіров

Університет митної справи та фінансів

ОПТИМІЗАЦІЯ МЕТОДУ АНАЛІЗУ ФОСФАТІВ ДЛЯ КОНТРОЛЮ БЕЗПЕЧНОСТІ ТА ЯКОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

У зв'язку з широким використанням фосфатів та їх похідних у харчовій промисловості визначення їх концентрацій набуває особливого значення. Однак їх надмірне споживання, що впливає на гомеостаз організму, може призвести до токсичності фосфатів, наприклад до мінеральних і кісткових розладів, пов'язаних із хронічними захворюваннями нирок і серцево-судинними катастрофами. Проблеми з використанням (полі)фосфатів стосуються як аналітичних, так і законодавчих питань, таких як: (1) їх пряме виявлення; (2) надмірне додавання, що змінює сприйняття свіжості та вводить споживачів в оману; (3) неконтрольоване вживання, що збільшує вагу харчових продуктів; (4) застосування в продуктах, де вони не дозволені; та (5) відсутність вказівок на етикетці. Швидкий аналіз на конденсовані фосфати потрібен для виявлення незаконної фальсифікації перероблених продуктів, таких як риба та оброблені морські продукти, м'ясні та молочні продукти. Аналіз об'єктів, що містять фосфор, здійснюють спектроскопічними методами, зокрема, спектрофотометрією. Вони мають високу селективність, зручні у використанні, дають точні результати. Однак, визначення фосфатів в присутності деяких багатозарядних іонів, таких як вольфрам, титан, хром та ін., може давати хибні результати. Мета роботи полягала у підвищенні чутливості та селективності методу спектрофотометричного визначення фосфору з використанням ряду різних лігандів фосфору для кількісного визначення в широкому діапазоні (полі)фосфат-аніонів у різних харчових продуктах. Було оптимізовано аналітичний метод із застосуванням спектрометрії для швидкого та селективного виявлення конденсованих фосфатів у різних видах харчових продуктів на основі застосування гетерополікомплексів для реалізації реакції ампліфікації, що підвищує чутливість визначення в спектрофотометрії, атомно-абсорбційному аналізі та інших методах. Цю аналітичну процедуру пропонується застосовувати для кількісного визначення в широкому діапазоні для профілювання (полі)фосфат-аніонів у різних харчових продуктах, щоб отримати більш вичерпну інформацію про присутність добавки на рівні слідів. Ця методика може бути запропонована уповноваженим установам як валідований метод, що відрізняється високою чутливістю, вибірковістю та повторюваністю порівняно з існуючими, для підтримки виявлення незаконної підробки харчових продуктів (полі)фосфатами.

Ключові слова: продукти харчування, (полі)фосфати, гетерополікомплекси, спектрофотометричний метод, селективність методики.

Постановка проблеми та її актуальність. Якість і безпека харчових продуктів є питаннями, які хвилюють уряд, харчову промисловість і споживачів; отже, необхідно виявляти шкідливі речовини в харчових продуктах. У зв'язку з широким використанням фосфатів та їх похідних у харчовій промисловості, побутовій хімії та косметичці визначення їх концентрацій набуває особливого значення. Фосфати присутні в багатьох харчових продуктах і виробляються синтетичним шляхом з фосфорної кислоти. Фосфати використовуються в харчовій промисловості для різних цілей. Конденсовані фосфати навмисно додають до багатьох харчових продуктів, щоб збільшити вагу продуктів. Однак їх надмірне споживання, що впливає на гомеостаз організму, може призвести до токсичності фосфатів, наприклад до мінеральних і кісткових розладів, пов'язаних із хронічними захворюваннями нирок і серцево-судинними катастрофами. Проблеми з використанням (полі)фосфатів стосуються як аналітичних, так і законодавчих

питань, таких як: (1) їх пряме виявлення; (2) надмірне додавання, що змінює сприйняття свіжості та вводить споживачів в оману; (3) неконтрольоване вживання, що збільшує вагу харчових продуктів; (4) застосування в продуктах, де вони не дозволені; та (5) відсутність вказівок на етикетці. Швидкий аналіз на конденсовані фосфати потрібен для виявлення незаконної фальсифікації перероблених продуктів, таких як риба та оброблені морські продукти, м'ясні та молочні продукти.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Поліфосфати – це харчові добавки, що належать до категорії загусників, стабілізаторів і емульгаторів, які законно додаються до різних харчових продуктів, таких як оброблене м'ясо, сир, молочні продукти, морепродукти тощо. (Полі)фосфати ефективні для покращення якості харчових продуктів і збільшення терміну зберігання. Крім того, ці добавки мають інші функції, такі як запобігання розкладанню та знебарвленню, а також підтримують буферність рН [1].

Так, у м'ясопереробній та рибній промисловості трифосфати (E451) використовують як регулятор кислотності, текстуратор, комплексоутворювач, стабілізатор, фіксатор кольору, антиоксидант [4].

Додавання фосфатів до м'яса і риби призводить до підвищення кислотності продуктів і, як наслідок, до підвищення вологості зв'язуючих властивостей білків, що найбільше сприяє емульгуванню жиру. Трифосфати використовуються у виробництві спеціальних спортивних напоїв, безалкогольних напоїв. E451 додають до стерильного і пастеризованого молока, морозива, молодих сирів, сметани, збитої яєчної суміші для омлетів та інших яєчних продуктів. Харчова добавка E451 використовується при виготовленні макаронних виробів, сухих супів, рибного фаршу, сиропів, декоративних виробів (наприклад, глазури), бутербродів на маргарині, кондитерських виробів, випічки різноманітних кексів, тістечок та інших видів здоби [5; 6].

Зовсім іншою проблемою є оманлива, незадекларована обробка (полі)фосфатами різних свіжих необроблених продуктів харчування. Цій темі в останні роки приділено велику увагу науковців. Так, дослідженню незадекларованого вмісту поліфосфатів у продуктах харчування присвячені роботи Weiner M.L. (2001), Cynthia S (2016), Parpia A.S. (2018), Huang J. (2019), Вишнікіної А.В., Вишнікіна А.Б., Лихолат О.А. (2019), Pavlovic R. (2021). Було встановлено, що така обробка подовжує комерційний термін служби харчових продуктів, утримуючи воду протягом більш тривалого періоду, що часто дезінформує споживачів. Небезпека для здоров'я такого типу продукції очевидна; фактично, розвиток патогенних мікроорганізмів та/або сполук розпаду (наприклад, біогенних амінів) може бути прискорений у рибній та м'ясній продукції. Таким чином, мікробіологічний та хімічний ризик споживання таких небезпечних харчових продуктів дуже високий і його слід вважати надзвичайно важливим [1].

Мета статті – проаналізувати технічні Регламенти ЄС, розробити методику спектрофотометричного визначення фосфору з використанням ряду різних лігандів фосфору для підвищення чутливості та селективності методу кількісного визначення (полі)фосфат-аніонів в широкому діапазоні у різних харчових продуктах.

Виклад основного матеріалу дослідження. (Полі)фосфати визначено в Додатку II до Регламенту (ЄС) № 1333/2008 щодо харчових добавок (Регламент Комісії ЄС № 1129/2011) зі змінами [2; 3]. На жаль, вже для цієї класифікації можна знайти розбіжності та неправильне тлумачення щодо поточних процедур контролю харчових продуктів тваринного походження. Конкретно, пірофосфати та трифосфати часто помилково включаються в категорію поліфосфатів, що дуже заплутано з точки зору регуляторних питань. Регламент Комісії ЄС № 1129/2011 присвоює різні ідентифікаційні коди різним типам фосфатних добавок; E450, E451 та E452, відповідно, означають пірофосфати, трифосфати та (полі)фосфати, вказуючи на суворі законодавчі відмінності [2].

Введення фосфатів у рибну продукцію сприяє підвищенню її стійкості при холодильному зберіганні, оскільки ці добавки уповільнюють денатурацію білків, а також запобігають окисленню жирів і проростанню спор деяких мікроорганізмів. У Європі використання триполіфосфату натрію дозволено Ветеринарною комісією ЄС відповідно до директиви ЄС 95/2. Але використання не повинно перевищувати 5 грамів на кілограм. Стільки ж дозволено використовувати в США. При цьому допустимий вміст фосфатів може перевищувати встановлені норми після видалення води з рибної продукції під час її термічної обробки [7–11].

Використання фосфатів понад допустиму норму може негативно вплинути на здоров'я людини. До недавнього часу (полі)фосфати не вважалися токсичними, але завищене споживання ресурсів фосфатів може негативно впливати на кістки та серцево-судинну систему. Через надлишок фосфатів в організмі погіршується засвоєння кальцію, що, в свою чергу, призводить до відкладення кальцію і фосфору в нирках і сприяє розвитку остеопорозу. При одноразовому передозуванні добавки E451 у людини може виникнути розлад травлення, метаболічний ацидоз [6]. Тривогу викликають результати дослідження, які показали їхню здатність утримувати мінерали (кальцій, залізо та магній), присутні в харчових продуктах, таким чином перешкоджаючи правильній адсорбції. Зокрема, позбавлення організму правильної добової дози кальцію може призвести до зменшення кальцифікації кісток, причому немовлята та діти раннього віку є найбільш вразливою віковою групою. Крім того, споживання (полі)фосфатів також слід зменшити або уникати жінкам у період менопаузи, тим, хто страждає на остеопороз, або пацієнтам із порушеною функцією нирок [12].

Незважаючи на чудові комерційні переваги, зловживання цими добавками може призвести до економічного шахрайства, і воно здійснюється деякими компаніями з метою збільшення ваги продукту та отримання більших прибутків. Маркування доданих (полі)фосфатів має важливе значення для захисту вразливих груп населення та запобігання недобросовісній торговельній практиці, що призводить до економічного шахрайства [13]. Проте зростання занепокоєння споживачів щодо аспектів складу харчової продукції та їх законне збентеження щодо компонентів із чисто хімічним походженням призвело до зростання попиту на чисті етикетки «без хімії». Регламент 1169/2011 забезпечує прозоре маркування та покращує захист споживачів від звичайного шахрайства. Для перевірки відповідності законодавству та дотримання правильного маркування як виробники, так і інспекційні органи повинні (1) знати природний склад харчового матеріалу та наявність будь-якого збігу з екзогенно доданими речовинами, а також (2) застосовувати більш точні аналітичні техніки, наприклад, іоннообмінну хроматографію, з різними режимами виявлення. Таким чином, вимога щодо більш точних аналітичних методів для

кількісного визначення (полі)фосфатів була чітко підтверджена звітом Наукового комітету EFSA [14–16].

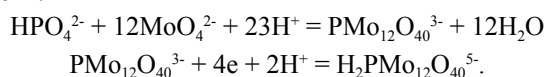
Традиційно з цією метою застосовують біохімічні та інструментальні методи аналізу, такі як хроматографія та хромато-мас-спектрометрія. Ці методи, однак, займають багато часу і не дозволяють отримати просторовий розподіл аналітів. Таким чином, розробка швидких, неруйнівних технологій візуального виявлення в режимі реального часу стала нагальною потребою в галузі досліджень харчових продуктів [17].

Аналіз об'єктів, що містять фосфор, здійснюють спектроскопічними методами, зокрема, спектрофотометрією. Вони мають високу селективність, зручні у використанні, дають точні результати. Однак, визначення фосфатів в присутності деяких багатозарядних іонів, таких як вольфрам, титан, хром та ін., може давати хибні результати. Вирішити цю проблему можливо за використання вольфрамових або змішано-лігандних фосфорних гетерополікомплексів (ГПК).

Гетерополікомплекси (ГПК) – одна з найпоширеніших аналітичних форм визначення фосфору. З їх використанням можна реалізовувати реакції ампліфікації, що підвищує чутливість визначення в спектрофотометрії, атомно-абсорбційному аналізі та інших методах.

Натепер дуже поширена процедура, що заснована на відновленні 12-молібдофосфату ГПК (12-молібдофосфорної кислоти) аскорбіновою кислотою при кімнатній температурі в присутності іонів сурми (III) (звичай у формі антимонілтартрата) [18].

На повноту формування відновленої форми 12-МФК впливає кілька факторів. Це, перш за все, два взаємозалежних фактори – концентрація молібдату і кислоти.



Для гарантованого повного утворення 12-МФК слід додати досить великий надлишок молібдату. Але в той же час діапазон кислотності, в якому можливе надлишкове відновлення молібдату, розширюється в кислу область, що змушує створювати вищу кислотність. Занадто висока кислотність, у свою чергу, призводить до руйнування 12-МФК. Таким чином, інтервал, в якому, з одного боку, кількісно утворюється 12-МФК, а з іншого – не відновлюється надлишок молібдату, є досить вузьким і, крім того, зміщується зі зміною концентрації молібдату.

Особливу увагу приділено вибору відновника. При використанні звичайних хімічних відновників утворюється 2- або 4-електронний змішано-валентний гетерополіблюз (що означає відновлення 2–4 атомів молібдену (VI) з 12 до 12-МФК до п'ятивалентного стану). При надлишку відновника, як правило, рівновага зміщується в бік найбільш інтенсивно забарвленого 4-електронного гетерополіуму в синій колір. При кімнатній температурі відновлення більшості реагентів відбувається дуже повільно. Тому рекомен-

дується кип'ятити розчин протягом 5–10 хвилин, що подовжує визначення і є причиною погіршення його точності. Найбільш зручними і доступними відновниками є аскорбінова кислота і гідразин.

У цій роботі ми спробували порівняти смуги поглинання в спектрах конкретних сполук, знайти причини таких різноманітних спектральних проявів, які виникають при відновленні молібдофосфорної кислоти в присутності іонів деяких металів. Крім того, ми знайшли додаткове обґрунтування того факту, що не тільки солі сурми (III), а й солі вісмуту (III) можуть бути успішно використані як метал, що сприяє відновленню аскорбінової кислоти.

Таким чином, отриманий комплекс заведеної реакції відновлення є середньостійким. Для зміщення рівноваги цієї реакції в бік гетерополісполуки необхідний надлишок іонів металу. Тільки в цьому випадку можна отримати продукт з певними хімічними властивостями і спектральними характеристиками. Підкреслимо, що швидке відновлення можливе лише для потрійного молібденового ГПК структур Кеггіна, що містять Sb (III) та Bi (III) при кімнатній температурі.

Утворений ГПК є кінетично стабільним у значно ширшому діапазоні рН порівняно з окисленою формою.

Висновок. Ми оптимізували аналітичний метод із застосуванням спектрометрії для швидкого та селективного виявлення конденсованих фосфатів у різних видах харчових продуктів. Запропоновано нові аналітичні форми визначення фосфору: це відновлена триметалозаміщена ГПК формули $\text{PMe(III)Mo}_{11}\text{O}_{39}^{6-}$ (Me = Sb, Bi). Виявлено умови кількісного утворення та відновлення цих сполук аскорбіновою кислотою, що дозволило їх синтезувати та провести фізико-хімічне дослідження. Проведено інтерпретацію спектрів поглинання відновленої потрійної ГПК у видимій частині спектра. Оцінено стабільність фосфорних подвійних і потрійних ГПК.

Цю аналітичну процедуру пропонується застосовувати для кількісного визначення в широкому діапазоні для профілювання (полі)фосфат-аніонів у різних харчових продуктах, щоб отримати більш вичерпну інформацію про присутність добавки на рівні слідів. Це дозволить виявляти незаявлене додавання (полі)фосфатів. Отже, цю методику можна запропонувати уповноваженим органам як валідований метод для підтримки виявлення незаконної підробки харчових продуктів (полі)фосфатами. Доведено, що розроблені аналітичні стратегії доповнюють одна одну, особливо коли необхідно аналітично визначити вміст або підтвердити виявлення незадекларованого використання (полі)фосфатів.

На запропонованій основі можна розробити метод визначення вмісту (полі)фосфатів в харчових продуктах, що відрізняється високою чутливістю, вибірковою та повторюваністю порівняно з існуючими.

References:

1. Pavlovic, R., Cesare, F. Di., Longo, F., Abballe, F., Panseri, S., Bonanni, R. C., ... Chiesa, L. M. (2021). Undeclared (Poly)phosphates Detection in Food of Animal Origin as a Potential Tool toward Fraud Prevention. *Foods*. Jul 4;10(7):1547. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10071547>.
2. European Commission Commission Regulation (EU) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives. *OJEU*. 2011 295:1–177. Available at: <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/1129/oj>.
3. European Commission Commission Regulation (EU) No. 231/2012 of 9 March 2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No. 1333/2008 of the European Parliament and of the Council Text with EEA relevance. *OJEU*. 2012 83:1–295. Available at: <http://data.europa.eu/eli/reg/2012/231/oj>.
4. EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (FAF) Re-evaluation of phosphoric acid–phosphates–di-, tri- and polyphosphates (E 338–341, E 343, E 450–452) as food additives and the safety of proposed extension of use. *EFSA J.* (2019);17:e05674. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5674>.
5. Parpia, A.S., Darling, P.B., L'Abbé, M.R., Goldstein, M.B., Arcand, J., Cope, A., et al. (2018) The accuracy of Canadian Nutrient File data for reporting phosphorus, potassium, sodium, and protein in selected meat, poultry, and fish products. *Can. J. Public Health*, vol. 109, no.1, pp. 150–152. DOI: <https://doi.org/10.17269/s41997-018-0043-8>.
6. Weiner, M.L., Salminen, W.F., Larson, P.R., Barter, R.A., Kranetz, J.L., Simon, G.S. (2001). Toxicological review of inorganic phosphates. *Food Chem. Toxicol.*, vol. 39, no. 8, p. 759–786. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(01\)00028-x](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(01)00028-x).
7. Huang, J., Bakry, A.M., Zeng, S., Xiong, S., Yin, T., You, J., et al. (2019). Effect of phosphates on gelling characteristics and water mobility of myofibrillar protein from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Food Chem.*, vol. 30, no. 272, pp. 84–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.028>.
8. Standard for Crackers from Marine and Freshwater Fish, Crustaceans and Molluscan Shellfish CODEX STAN 222-2001 Provisions for polyphosphates (GSFA FC 09.2.5)
9. WHO. WHO Commission on Health and Environment. Report of the Panel on Food and Agriculture. WHO/EHE/92.2. Geneva: World Health Organisation, (1992), p. 191.
10. Standard for fresh and quick frozen raw scallop products. CODEX STAN 315-2014, Adopted in 2014, Revised in 2017, Amended in 2016.
11. International Organisation for Standardization ISO 5553:1980 Meat and meat products detection of polyphosphate. Available at: <https://www.iso.org/standard/11620.html>.
12. Cynthia S. Ritter and Eduardo Slatopolsky. (2016). Phosphate Toxicity in CKD: The Killer among Us *Clin J Am Soc Nephrol*. Jun 6; 11(6): 1088–1100. DOI: <https://doi.org/10.2215/CJN.11901115>.
13. European Parliament. Council of the European Union Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council of 15 March 2017 on official controls and other official activities performed to ensure the application of food and feed law, rules on animal health and welfare, plant health and plant protection products, amending Regulations (EC) No 999/2001, (EC) No 396/2005, (EC) No 1069/2009, (EC) No 1107/2009, (EU) No 1151/2012, (EU) No 652/2014, (EU) 2016/429 and (EU) 2016/2031 of the European Parliament and of the Council, Council Regulations (EC) No 1/2005 and (EC) No 1099/2009 and Council Directives 98/58/EC, 1999/74/EC, 2007/43/EC, 2008/119/EC and 2008/120/EC, and repealing Regulations (EC) No 854/2004 and (EC) No 882/2004 of the European Parliament and of the Council, Council Directives 89/608/EEC, 89/662/EEC, 90/425/EEC, 91/496/EEC, 96/23/EC, 96/93/EC and 97/78/EC and Council Decision 92/438/EEC. *OJEU*. 2017 95:1–142. Available at: <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/625/oj>.
14. EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (FAF) Re-evaluation of phosphoric acid–phosphates–di-, tri- and polyphosphates (E 338–341, E 343, E 450–452) as food additives and the safety of proposed extension of use. *EFSA J.* 2019;17:e05674. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5674>.
15. European Commission Commission Decision 2002/657/EC of 14 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (notified under document number C (2002) 3044) *OJEC*. 2002 221:1–35. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dec/2002/657/2004-01-10>.
16. Community Reference Laboratories Residues (CRLs) Guidelines for the Validation of Screening Methods for Residues of Veterinary Medicines (Initial Validation and Transfer) 2010. Available at: https://ec.europa.eu/food/system/files/2016-10/cs_vet-med-residues_guideline_validation_screening_en.pdf.
17. Deng, Y., Wang, X., Yang, M., He, M., & Zhang F. (2020). Research advances in imaging technology for food safety and quality control *Se Pu*. Jul 8; 38(7):741–749. DOI: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2020.03015>.
18. Vishnikina, O.V., Vishnikin, A. B., Miekh, Y.V., Lykholat, O.A. (2019). Assessment of influence of various factors on stability of molybdenum heteropoly anions with keggin structure. *Journal of Chemistry and Technologies*, 27(1), pp. 71–78. DOI: <https://doi.org/10.15421/081908> [in Ukrainian].

Olena Vyshnikina, Olena Lykholat, Oleksandr Sabirov
University of Customs and Finance

OPTIMIZATION OF THE PHOSPHATE ANALYSIS METHOD FOR FOOD SAFETY AND QUALITY CONTROL

In connection with the wide use of phosphates and their derivatives in the food industry, the determination of their concentrations is of particular importance. However, their excessive consumption, which affects the body's homeostasis, can lead to phosphate toxicity, such as mineral and bone disorders associated with chronic kidney disease and cardiovascular catastrophes. Problems with the use of (poly)phosphates relate to both analytical and legislative issues, such as: (1) their direct detection; (2) excessive addition, which alters the perception of freshness and misleads consumers; (3) uncontrolled consumption, which increases the weight of food products; (4) use in products where they are not permitted; and (5) lack of labeling. Rapid analysis for condensed phosphates is needed to detect illegal adulteration of processed products such as fish and processed seafood, meat and dairy products. Analysis of objects containing phosphorus is carried out by spectroscopic methods, in particular, spectrophotometry. They have high selectivity, are convenient to use, and give accurate results. However, the determination of phosphates in the presence of some multi-charged ions, such as tungsten, titanium, chromium, etc., can give false results. The aim of the work was to increase the sensitivity and selectivity of the method of spectrophotometric determination of phosphorus using a number of different phosphorus ligands for the quantitative determination of a wide range of (poly)phosphate anions in various food products. An analytical method using spectrometry was optimized for rapid and selective detection of condensed phosphates in various types of food products based on the use of heteropolycomplexes for the implementation of the amplification reaction, which increases the sensitivity of determination in spectrophotometry, atomic absorption analysis and other methods. This analytical procedure is proposed to be applied for quantitative determination in a wide range for the profiling of (poly)phosphate anions in different food products to obtain more comprehensive information about the presence of the additive at the trace level. This method can be proposed to the authorized institutions as a validated method with high sensitivity, selectivity and reproducibility compared to existing ones, to support the detection of illegal food adulteration with (poly)phosphates.

Key words: food products, (poly)phosphates, heteropolycomplexes, spectrophotometric method, selectivity of the method.

Статтю подано до редакції 30.08.2022