

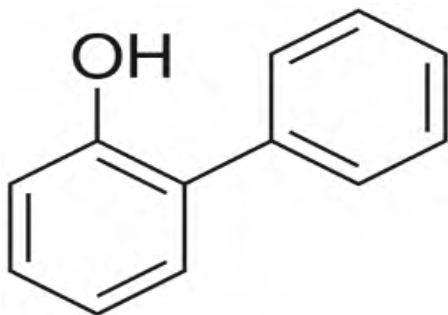


МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОРТОФЕНИЛЕНОЛА И ДИФЕНИЛА В ЦИТРУСОВЫХ ФРУКТАХ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.

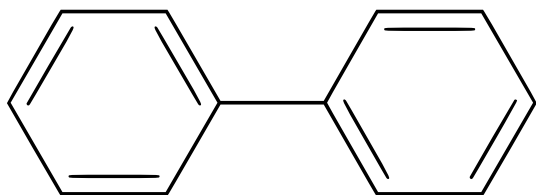
Полянских Елена Ильинична

Соавторы: Бельшева Л.Л., Фёдорова Т.А.,
Филатченкова Е.В.

Минск 2025



Орто-фенилфенол



Дифенил



В Республике Беларусь консерванты **ортофенилфенол (E 231)** и **дифенил (E 230)** разрешены к использованию для поверхностной обработки цитрусовых, для них установлен безопасный уровень применения. Согласно требованиям ТР ТС 029/2012 содержание консервантов в цитрусовых не должно превышать **12 мг/кг** (для ортофенилфенола) и **70 мг/кг** (для дифенила).

Цель и задачи

Разработать методику измерений массовой концентрации ортофенилфенола и дифенила в продукции растительного происхождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием.

- **Разработать условия хроматографического определения ортофенилфенола и дифенила в продукции растительного происхождения, позволяющие достичь максимальной величины отклика аналитов и удовлетворительного отделения от сопутствующих соединений;**
- **Разработать условия подготовки пробы обеспечивающие оптимальное выделение ортофенилфенола и дифенила из фруктов**

Научная работа выполняется в рамках задания
**02.13. «Разработать и внедрить метрологически
аттестованные методики измерений содержания
консервантов (дифенила, орто-фенилфенола,
натамицина) в пищевой продукции»**

подпрограммы «Безопасность среды обитания человека»

ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества
и доступности медицинских услуг», 2021-2025 годы

Условия хроматографирования

- жидкостной хроматограф **Agilent Technologies 1260 Series** с флуоресцентным детектором
- колонка: **Eclipse Plus C18 (150 мм x 4,6 мм, зернением 3,5 мкм)**
- температура термостата: **35 °C**
- объем вводимой пробы: **20 мкл**
- длина волны экстинции: **285 нм**
- длина волны эмиссии: **340 нм**
- скорость потока элюента: **1,0 мл/мин**
- подвижная фаза: А – 40% дистиллированная вода;
В - 60% ацетонитрил.



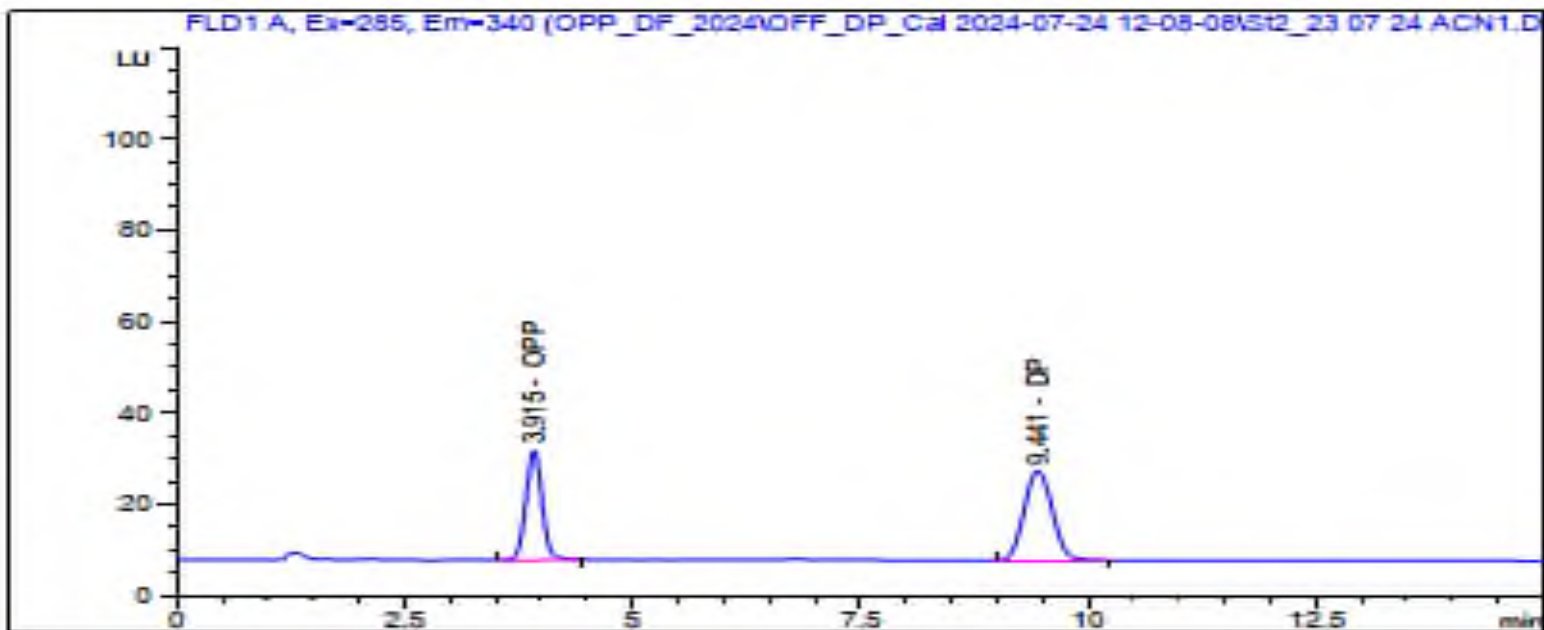


Рисунок 1 – Хроматограмма стандартного раствора ортофенилфенола с массовой концентрацией 0,02 мкг/см³ и дифенила с массовой концентрацией 0,20 мкг/см³

Таблица 1 – Схема приготовления градуировочных растворов ортофенилфенола и дифенила

| № гр. раств. р-ра | Массовая концентрация гр. раствора ОФФ, мкг/см³ | Объем аликвотной части раствора ОФФ (1,0 мг/см³), см³ | Массовая концентрация гр. раствора ДФ, мкг/см³ | Объем аликвотной части раствора ДФ (10,0 мг/см³), см³ | Вместимость мерной колбы для разведения, см³ |
|--------------------------|---|--|--|--|--|
| 1 | 0,01 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 10 |
| 2 | 0,02 | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 10 |
| 3 | 0,05 | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 10 |
| 4 | 0,075 | 0,75 | 0,75 | 0,75 | 10 |
| 5 | 0,10 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 10 |

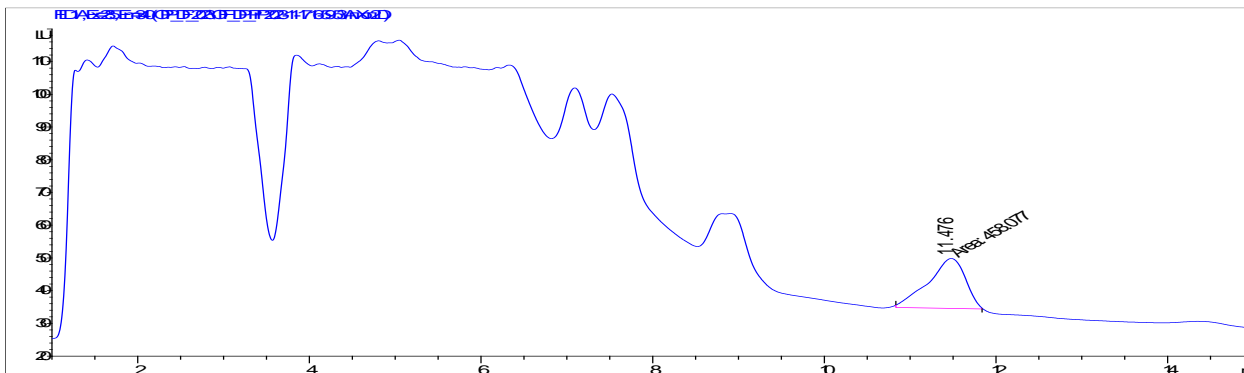


Рисунок 2 – Хроматограмма пробы апельсина после экстракции ортофенилфенола и дифенила метанолом и без проведения очистки пробы

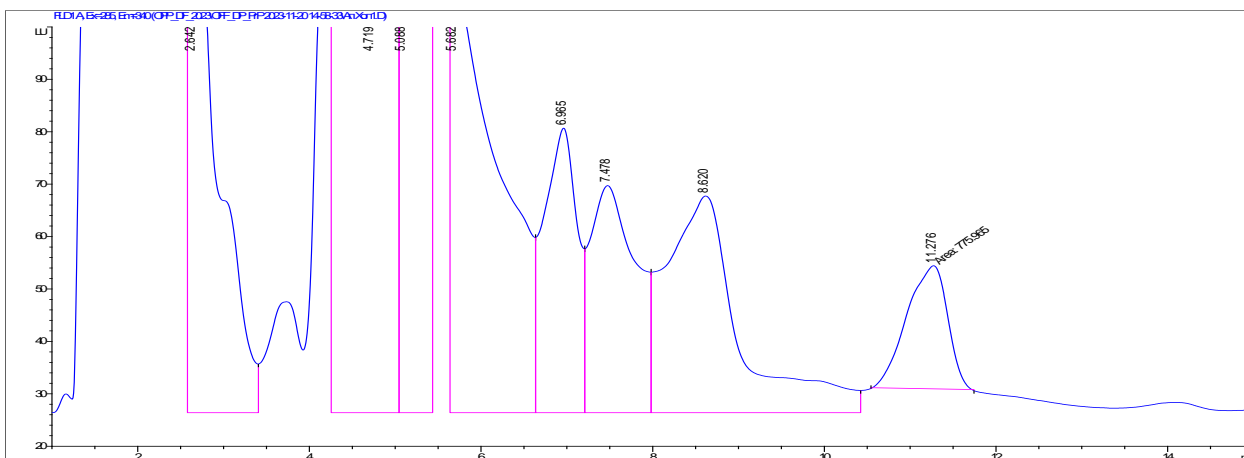


Рисунок 3 – Хроматограмма пробы апельсина после экстракции ортофенилфенола и дифенила ацетонитрилом и очистки экстракта с применением метода QuEChERS

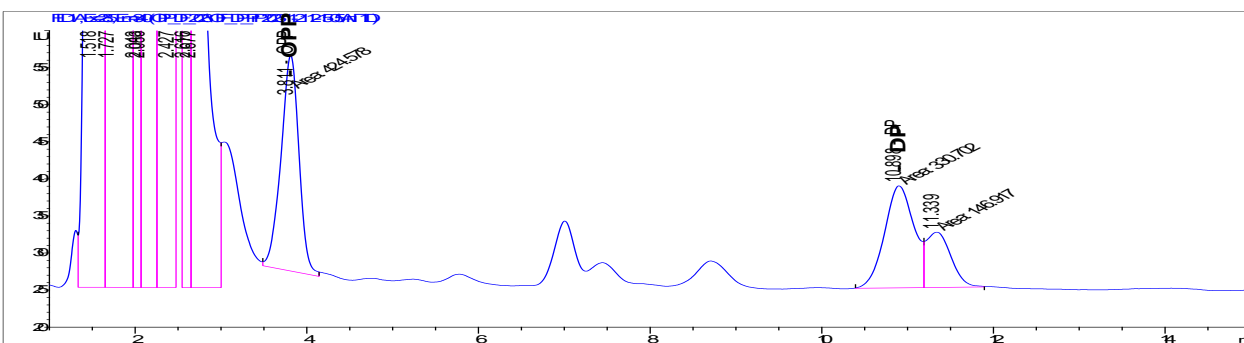


Рисунок 4 – Хроматограмма пробы апельсина с добавками ортофенилфенола и дифенила в количестве 1,0 и 10,0 мг/кг соответственно, после экстракции метанолом и проведения очистки пробы на катионообменном и анионообменном картриджах

Пробоподготовка citrusовых фруктов

1,0-1,5 г citrusовых
фруктов



Гомогенизация
пробы



+ ацетонитрил



Центрифугирование
10 000 об/мин, 10 мин

ВЭЖХ

Проведение твердофазной экстракции

Очистка пробы с использованием ТФЭ на анионообменном картридже Cromabond NH₂ последовательно соединенном с катионообменном картридже SCX Polymer

- 1) Активацию картриджей проводят путем последовательного пропускания через них 3 см³ метанола, 3 см³ дистиллированной воды и 3 см³ ацетонитрила;
- 2) Затем через картриджи пропускают 3 см³ пробы;
- 3) После этого еще 3 см³ пробы пропускают через картриджи и собирают экстракт пробы в центрифужную пробирку вместимостью 15 см³;

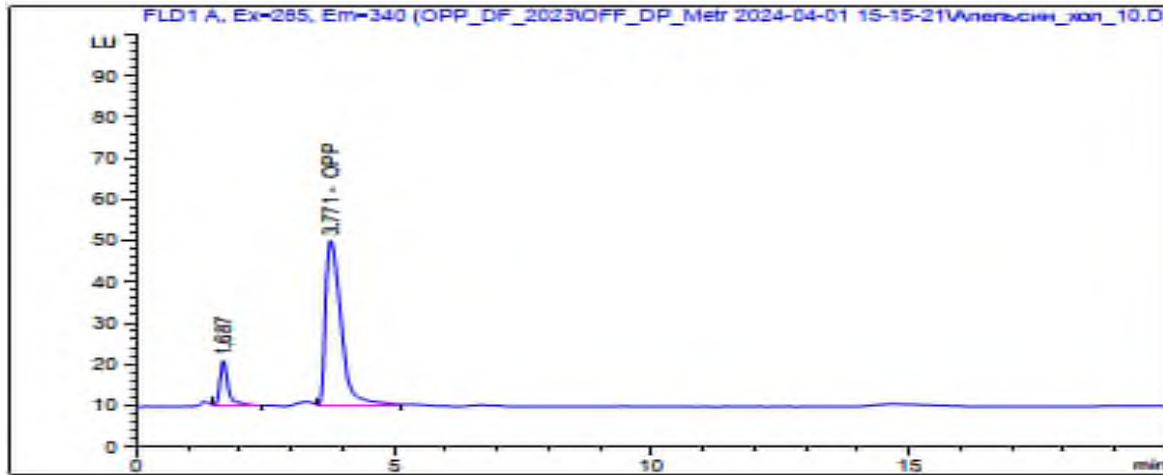


Рисунок 5 – Хроматограмма пробы апельсина после экстракции ацетонитрилом и проведения очистки пробы на катионообменном и анионообменном картриджах (содержание ортофенилфенола в пробе 4,1 мг/кг)

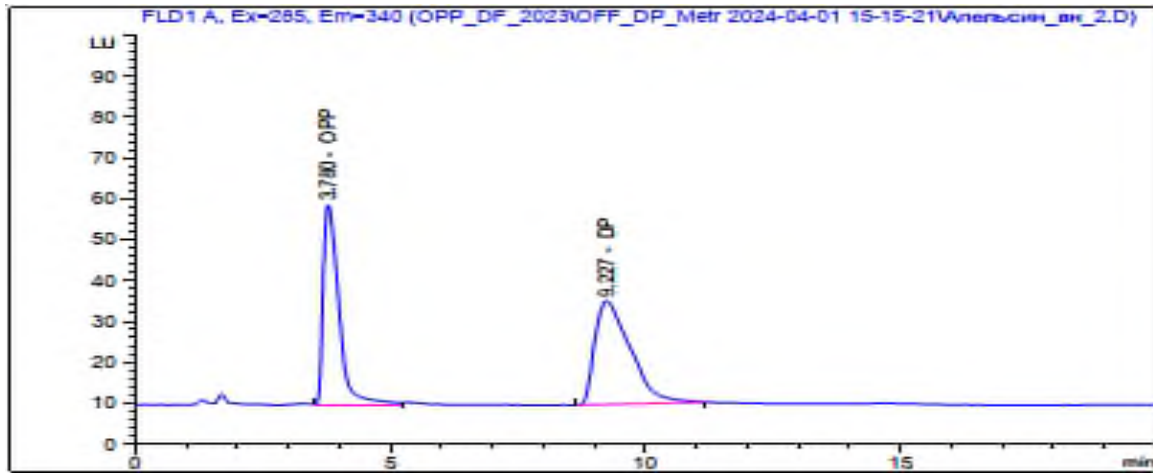


Рисунок 6 – Хроматограмма пробы апельсина с добавками ортофенилфенола и дифенила в количестве 1,0 и 20,0 мг/кг соответственно, после экстракции метанолом и проведения очистки пробы на катионообменном и анионообменном картриджах

Таблица 2 – Рабочие характеристики и показатели точности измерений методики измерений

| Измеряемая величина | Диапазон измерений, мг/кг | Относительное стандартное отклонение повторяемости $\sigma_r, \%$ | Относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности $\sigma_{I(TO)}, \%$ | Относительный предел повторяемости $r, \%$ | Относительный предел промежуточной прецизионности $R_{I(TO)}, \%$ | Относительная расширенная неопределенность U ($P = 95 \%$, $k = 2$), $\%$ |
|---|---------------------------|---|--|--|---|--|
| Массовая концентрация ортофенилфенола в фруктах | от 0,50 до 50,00 ВКЛ. | 3,9 | 4,2 | 11 | 12 | 23 |
| Массовая концентрация дифенила в фруктах | от 5,00 до 200,00 ВКЛ. | 5,1 | 6,1 | 14 | 17 | 19 |

Выводы:

- Разработана методика измерения массовой концентрации ортофенилфенола и дифенила в пищевой продукции растительного происхождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии;
- Диапазон измерений
 - от 0,50 до 50,00 мг/кг для **ортофенилфенола**
 - от 5,00 до 200,00 мг/кг для **дифенила**

Спасибо за внимание!