

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ЯБЛОЧНЫХ СОКАХ БЕЗ РАЗЛОЖЕНИЯ

Аналитические решения  
Markets and Applications Programs



**Agilent Technologies**

Authorized Partner Laboratory

### Авторы

Алексей Московец, Дмитрий Волков и Михаил Проскурнин

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова / партнерская лаборатория Agilent



Показана возможность определения тяжелых металлов в яблочных соках без разложения при помощи атомно- (оптико-) эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС [ИСП-ОЭС]). Использован оптический эмиссионный спектрометр Agilent 720-ES ICP-OES с аксиальным обзором плазмы. Методика определения металлов характеризуется высокой точностью и простой пробоподготовкой.

### Введение

Давно известен тот факт, что необходимым условием правильной диеты является потребление микро- и макроэлементов, таких как, например, Fe, Zn, Cu, Mn, Co, Cr, которые выполняют в организме множество функций: транспорт кислорода, катализ метаболических реакций окисления/восстановления, обеспечение трехмерной структуры некоторых молекул [1]. Хорошим источником этих и других элементов, а также различных органических кислот и витаминов являются фрукты. Некоторые элементы, напротив, даже в небольших концентрациях представляют опасность для человека. К ним относятся Pb [2, 3], Cd [4, 5], Hg [6], As [7, 8], содержание которых регламентировано правовыми документами в России и других странах [9, 10].

Далеко не всегда люди готовы покупать фрукты, зато люди готовы покупать фруктовый сок. Но является ли он правильной альтернативой свежим фруктам? Фруктовые соки — один из самых потребляемых напитков в мире. По статистике за 2002 год потребление соков в Канаде составило 52,6 л/(год×чел.), в США — 42,8 л/(год×чел.), в Европе каждый человек выпивает в год в среднем 25,6 литров сока [11]. Для России это значение по состоянию на 2008 год составляет 20 л/(год×чел.) [12]. Наиболее популярным, согласно опросу, проведенному в нашей стране [13], является яблочный сок.



Минеральный и органический состав фруктов, из которых производится сок, а также содержание в них тяжелых металлов, зависит от типа почвы в регионе произрастания, используемых удобрений, воды для орошения. После сбора урожая сок из фруктов выжимают и концентрируют, после чего он транспортируется на заводы, где подлежит восстановлению, упаковке и последующей продаже. В процессе восстановления и упаковывания возможно внесение в сок тяжелых металлов, а также потеря микро- и макроэлементов. Возникает резонный вопрос: как точно — речь идёт о здоровье людей — и быстро анализировать соки, т.е. образцы со сложным минеральным и органическим составом?

В настоящее время металлы в соках определяют с помощью различных методов, среди наиболее востребованных: инверсионная вольтамперометрия [14], пламенная атомно-абсорбционная спектрометрия (ПААС) [15], ИСП–ОЭС [16-19] и ИСП–МС [16, 20] как метод определения большинства тяжелых металлов. Инверсионно-вольтамперометрический метод определения характеризуется чувствительностью на уровне ИСП–ОЭС (нг/г), но пробоподготовка требует гораздо больше времени (до 24 ч и более) [14]. ПААС требует предварительного разложения, характеризуется несколько меньшей чувствительностью и не позволяет проводить обзорный анализ образцов, что увеличивает время анализа [15]. ИСП–МС позволяет определять концентрации на уровне пг/г [21], но анализ характеризуется большей стоимостью и подчас требует пробоподготовки, связанной с необходимостью удаления органической матрицы соков.

ИСП–ОЭС является наиболее предпочтительным из всех этих методов, поскольку он: (1) характеризуется высокой чувствительностью, соответствующей содержаниям большинства интересующих нас ионов металлов в соке; (2) требует минимальной пробоподготовки, практически не отличающейся для разных типов соков; (3) с легкостью позволяет проводить обзорный анализ сока на большинство металлов, что сокращает время анализа.

Для целей ИСП–АЭС анализа соков и других продуктов питания и пищевого сырья хорошо подходит прибор Agilent 720-ES ICP-OES: он предназначен для высокочувствительного и экспрессного анализа самого широкого круга объектов и позволяет получать точные результаты одновременно для большого числа элементов. Целью нашей работы было определить, возможен ли анализ широко распространённых соков без предварительного разложения их органической матрицы на данном приборе и проверить воспроизводимость результатов. В качестве объектов анализа выбраны яблочные соки, т.к. они являются наиболее популярными среди потребителей и представляют интерес как объект с достаточно сложной органической матрицей, но всё же не такой сложной, как в соках с мякотью, например, в апельсиновом.

## Экспериментальная часть

### Аппаратура

В работе использован ИСП-ОЭС спектрометр Agilent 720-ES с аксиальным обзором плазмы (рис. 1) в нижеследующей конфигурации (табл. 1). Параметры измерений сведены в табл. 2.

### Вспомогательное оборудование

Пробы отбирали автоматическими механическими дозаторами LabMate для объемов 100 мкл, Biohit Proline (200-1000 мкл, 5-10 мл).

### Посуда и расходные материалы

Базовый раствор готовили в стеклянной мерной колбе 1-го класса объемом 100 мл. Градуировочные растворы готовили в полипропиленовых колбах 2-го класса объемом 50 мл. Пробы отбирали в полипропиленовые пробирки объемом 15 мл. Для приготовления растворов использовали механические дозаторы со сменными универсальными полипропиленовыми наконечниками, объемом 200, 1000 и 5000 мкл (Ахуген, США; Biohit Group, Финляндия).

### Программное обеспечение

Agilent ICP Expert II версия 2.0.5

### Реагенты

- Стандартный раствор ICP-AM-6 («High-Purity Standards», США) с аттестованным значением элементов Al, Sb, Be, Ba, B, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Li, Mg, Mn, Ni, K, Si, Na, Sr, V, Zn 100 мкг/мл
- Азотная кислота (ч.д.а., «Реахим» ГОСТ 4461-77)
- Деионизованная вода для приготовления растворов (Q-18,2 МОм×см, Milli-Q-Academic, Millipore, Франция)

### Пробоподготовка

50 мл каждого сока переносили в полипропиленовые пробирки. Для каждого сока готовили три раствора: аликвоту 9,8 мл переносили в 10 мл пробирку, добавляли 200 мкл HNO<sub>3</sub>; аликвоту 8,8 мл переносили в 10 мл пробирку, добавляли 1 мл воды и 200 мкл HNO<sub>3</sub>; аликвоту 8,8 мл переносили в 10 мл пробирку, добавляли 1 мл стандартного раствора металлов до концентрации 400 мкг/л и 200 мкл HNO<sub>3</sub>, пробирки закрывали, растворы тщательно перемешивали, после чего регистрировали спектры эмиссии приготовленных растворов.

### Измерение и обработка данных

Пробы после описанной выше пробоподготовки вводили в ИСП-ОЭС спектрометр и регистрировали интенсивность излучения на длинах волн, приведенных в табл. 3.



Рисунок 1. ИСП-ОЭС спектрометр Agilent 720-ES с аксиальным обзором плазмы.

Описание	Номер по каталогу
Double-pass, glass cyclonic spray chamber	7910043700
Concentric glass nebulizer (Seaspray)	2010096400
Low flow axial quartz torch with 2.4 mm ID injector tube	2010090400

Таблица 1. Конфигурация ИСП-ОЭС спектрометра.

Параметр	Значение
Плазма, поток (л/мин)	15
Вспомогательный поток (л/мин)	1,5
Поток распылителя (л/мин)	1,2
Мощность индуктора (кВт)	1,2
Накопление сигнала (с)	20
Повторений регистрации спектра	2
Задержка на стабилизацию (с)	15
Задержка подхода образца (с)	15
Насос (оборотов/мин)	12
Отмыв, время (с)	15

Таблица 2. Параметры анализа.

Коррекцию базовой линии проводили автоматически программными средствами. Полученные данные сведены в табл. 4.

Элемент	Длина волны, нм	Элемент	Длина волны, нм	Элемент	Длина волны, нм	Элемент	Длина волны, нм	Элемент	Длина волны, нм
Ag	328,068	Be	234,861	Cu	324,754	Mo	281,615	V	289,265
	338,289		313,107		327,395		284,824		292,401
							289,099		311,837
Al	308,215	Cd	214,439	Fe	238,204				Zn
	396,152		214,439		238,204		206,2		
			226,502		239,563	Ni	230,299	213,857	
As	188,98	Co	231,16				231,604	213,857	
	193,696								
	197,198								
B	208,956	Cr	267,716	Li	460,289	Pb	220,353		
	249,678				610,365		261,417		
					670,783				
Ba	233,527	Cr	276,259	Mn	257,61	Sb	217,582		
	455,403		276,653		257,61		231,146		
	493,408		283,563		293,305	Sr	346,445		
			284,984	293,931	407,771				
	313,205			421,552					
					460,733				

Таблица 3. Длины волн регистрации эмиссии.

Элемент	I, мкг/л	Границы относительной погрешности, %	II, мкг/л	Границы относительной погрешности, %	III, мкг/л	Границы относительной погрешности, %	IV, мкг/л	Границы относительной погрешности, %	V, мкг/л	Границы относительной погрешности, %
Ag	<5	16	<5	16	<5	16	< 5	16	<5	16
Al	350±100	30	500±200	30	500±150	30	230±70	30	160±50	30
As	81±10	15	70±11	15	68±10	15	68±10	15	86±13	15
B	3000±300	10	3700±370	10	2300±200	10	1500±150	10	2300±230	10
Ba	130±30	20	140±30	20	140±30	20	180±40	20	120±20	20
Be	0,72±0,14	20	0,86±0,17	20	0,67±0,13	20	< 0,1	20	0,39±0,08	20
Cd	< 1	30	< 1	30	< 1	30	< 1	30	< 1	30
Co	< 5	25	< 5	25	< 5	25	< 5	25	< 5	25
Cr	5,3±1,3	25	10±3	25	6,5±1,6	25	7,8±2,0	25	4,2±1,0	25
Cu	65±13	20	57±11	20	38±8	20	35±7	20	40±8	20
Fe	600±90	15	930±140	15	940±140	25	640±100	15	260±70	15
Li	66±20	30	8,6±2,6	30	6,1±1,8	30	60±20	30	18±6	30
Mn	350±70	20	390±80	20	410±80	20	200±40	20	370±70	20
Mo	< 5	20	< 5	20	< 5	20	< 5	20	< 5	20
Ni	6,9±2,8	40	11±5	40	9,3±3,7	40	8,6±3,4	40	5,1±2,1	40
Pb	16±8	50	15±8	50	18±9	50	15±7	50	15±7	50
Sb	< 10	20	< 10	20	< 10	20	< 10	20	< 10	20
Sr	1300±300	20	200±40	20	200±40	20	5900±1200	20	460±90	20
V	< 5	20	< 5	20	< 5	20	< 5	20	< 5	20
Zn	96±34	35	100±30	25	110±30	35	77±30	35	83±29	25

Таблица 4. Концентрации элементов в соках (n=3, P=0,95).

## Результаты и их обсуждение

Для анализа выбраны 3 сока («I», «II» и «III»), входящих в шестерку самых покупаемых в России, согласно опросу FDFgroup [13], и 2 самых непопулярных сока: «IV» и «V», чтобы проверить, есть ли какие-либо существенные различия в содержании элементов в них. Для определения выбрано 20 элементов: Ag, Al, As, B, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sr, V, Zn.

Основная проблема любой пробоподготовки — не потерять часть образца и не загрязнить его. Для выполнения этих условий необходимо минимизировать количество этапов пробоподготовки и количество реактивов. Соки содержат различные сахара, простые органические кислоты, витамины, ароматические вещества и другое. Все это называется органической матрицей, которая может исказить результаты анализа, поэтому от нее по возможности и необходимости избавляются вскрытием пробы. Процесс вскрытия чрезвычайно важен для вольтамперометрического и ПААС определения соков [14, 15], т.к. проведение анализа без вскрытия при использовании этих методов приведет к искажению результатов или вообще к невозможности проведения анализа (затухание факела в случае ПААС).

Существует несколько основных методов вскрытия. В большинстве методик анализа ИСП–ОЭС используют вскрытие пробы с помощью кислот и микроволнового излучения [18, 19] или с помощью озоления [17]. В первом случае возможно внесение различных металлов в пробу, во втором — потеря части образца. Также есть метод анализа с предварительным разбавлением азотной кислотой в различных пропорциях [18]. Решено проводить анализ соков без вскрытия и без разбавления, что сокращает время пробоподготовки, но ставит вопрос перед возможностями оборудования: возможно затухание плазменного факела из-за большого количества органических веществ. При использовании предложенной пробоподготовки прибор Agilent 720-ES ICP-OES в выбранном режиме прекрасно справляется с анализом с вводом практически неразбавленных соков.

Полученные данные представлены в табл.4. Стандартное отклонение составило 0,4 – 2,6%, что является показателем хорошей воспроизводимости. Чувствительность анализа высокая, что позволяет проводить анализы соков на соответствие стандартам пищевой промышленности: пределы определения элементов составили около 5 мкг/л для всех элементов, кроме As, Cd и Be (табл. 5). Предел определения As

находится на уровне 10 мкг/л, а в случае Cd — на уровне 1 мкг/л, а для Be — на уровне 0,1 мкг/л. Пределы определения находили исходя из экспериментального диапазона линейности градуировочных зависимостей. Примеры градуировочных зависимостей для Cd, As, Pb, Be, Cu представлены на рис. 2–6.

Металл	Концентрация, мкг/л
Ag	<5
Al	<5
B	<5
Ba	<5
Co	<5
Cr	<5
Cu	<5
Fe	<5
Li	<5
Mn	<5
Mo	<5
Ni	<5
Pb,	<5
Sr	<5
V	<5
Zn	<5
As	<10
Sb	<10
Cd	<1
Be	<0,1

Таблица 5. Минимальные определяемые концентрации металлов в соке, мкг/л.

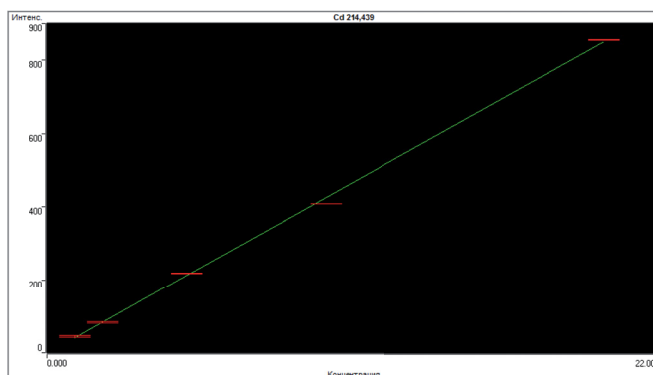
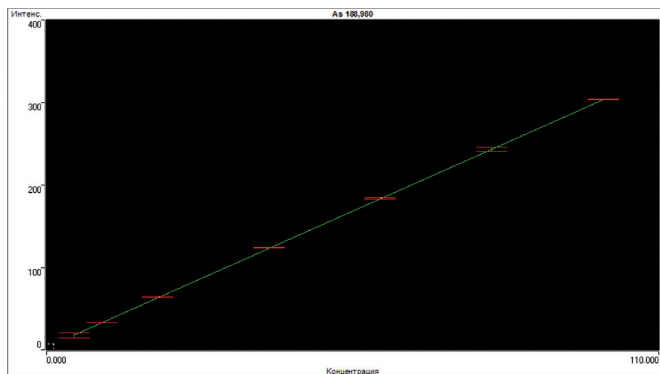
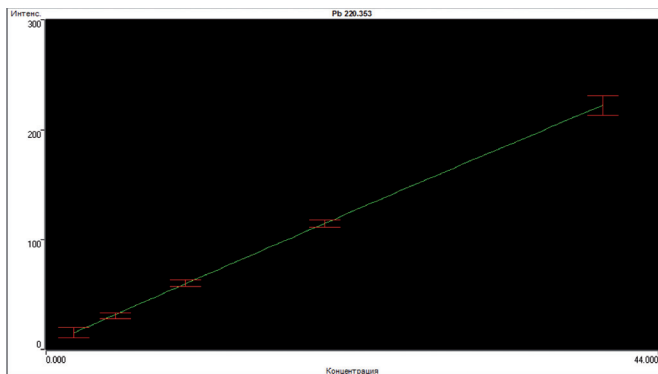


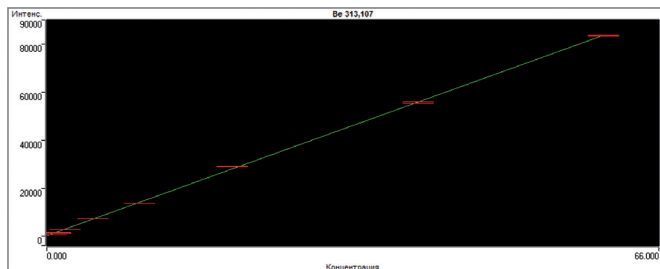
Рисунок 2. Калибровочная кривая для Cd. Длина волны регистрации — 214,439 нм. Концентрация в мкг/л.



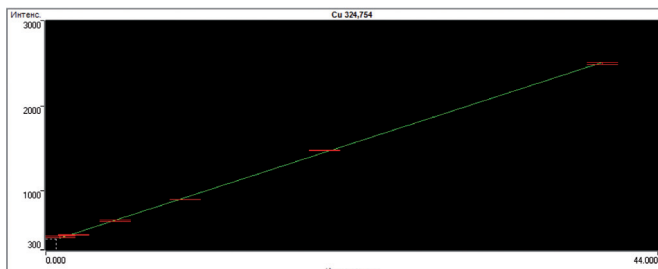
**Рисунок 3. Калибровочная кривая для As. Длина волны регистрации — 188,980 нм. Концентрация в мкг/л.**



**Рисунок 4. Калибровочная кривая для Pb. Длина волны регистрации — 220,353 нм. Концентрация в мкг/л.**



**Рисунок 5. Калибровочная кривая для Be. Длина волны регистрации — 313,107 нм. Концентрация в мкг/л.**



**Рисунок 6. Калибровочная кривая для Cu. Длина волны регистрации — 324,754 нм. Концентрация в мкг/л.**

В российском законодательстве нет документа, который регулировал бы содержание разнообразных элементов в соках (за исключением As, Cd, Pb, Hg), поэтому сравнивали полученные данные со значениями ПДК для воды, представленными в СанПиН 2.1.4.559-96 [22] (табл. 4). В таблице указана погрешность определения, рассчитанная по ГОСТ Р 51309–99, которая включает не только погрешность прибора, но и другие случайные и систематические погрешности, возникающие в процессе пробоподготовки. Стоит отметить, что погрешность определения каждого конкретного анализа может быть значительно меньше приведенных в таблице величин — все зависит от качества пробоподготовки, системы ввода пробы, используемого вспомогательного оборудования (например, автоматических микродозаторов) и расходных материалов.

Особо стоит отметить, что концентрация As (в 1,4–1,6) и Be (в 2–4 раза) превышает ПДК для воды, а Be и As негативно влияют на здоровье человека, к тому же, Be является канцерогеном [7, 8, 23]. Однако следует помнить, что данные ограничения относятся к питьевой воде, а не к сокам: они предполагают постоянное потребление воды не только непосредственно, но и для приготовления пищи, мытья посуды и т.д. В результате СанПиН 2.1.4.559-96 ограничивает содержания гораздо большего числа элементов и более строго (ПДК элементов для воды меньше в 4–30 раз ПДК для соков). Так что при

употреблении сока в адекватных количествах, осложнения, вызываемые повышенным относительно стандарта на воду содержанием тяжелых элементов, маловероятны.

Существующие нормативные документы на пространстве РФ и ЕС устанавливают нормы по содержанию в соках тяжелых металлов, а именно As, Cd, Pb, Hg. Данные по содержанию этих элементов в соках, кроме Hg, содержание которой не определялось в ходе данной работы, а также ПДК по нормативным документам приведены в табл. 6. Из нее видно, что концентрации тяжелых металлов находится в пределах, допустимых нормативными документами.

Сравнивая наиболее (I, II, III) и менее популярные (IV, V) соки, приходим к выводу, что принципиальной разницы по содержанию элементов в соках нет. Интересно было проверить, насколько хороши соки в качестве источника микроэлементов. Для этого было проведено сравнение содержания элементов в соках с Рекомендуемыми Институтом Медицины Национальной Академии количествами потребления элементов [24] (табл. 7) Исходя из значений, представленных в табл. 6, в среднем в одной маленькой упаковке сока на 200 мл содержится Cr — 4 % от РСД (Рекомендуемой Суточной Дозы), Cu — 1 %, Fe — 2 %, Mn — 3 %, Zn < 0,5 %, Mo < 2 %. Таким образом, сок может служить хорошим источником таких элементов как Cr, Mn, но не Fe или Cu.

Сок	As	1	3	Cd	1	2	Pb	1	2
I	81	200	400	<1	30	50	16	400	50
II	70			<1			15		
III	68			<1			18		
IV	68			<1			15		
V	86			<1			15		
1 - СанПиН 2.3.2.1078-01									
2 - Commission Regulation (EC), 1881/2006									
3 - The Arsenic in Food Regulations, 1959									

Таблица 6. Содержание тяжелых металлов (мг/л) в соках и допустимые уровни, согласно правовым документам.

Элемент	РСД, среднее значение	Ед. изм.
Cr	35	мкг
Cu	900	мкг
Fe	8	мг
Mn	2,3	мг
Mo	45	мкг
Zn	11	мг

Таблица 7. Рекомендуемые суточные дозы (РСД) элементов, согласно данным Института Медицины.

## Заключение

В данной статье рассмотрен метод анализа яблочных соков без мякоти. Стабильность плазмы хорошая, воспроизводимость и чувствительность анализов находится на высоком уровне, что вкупе с многоэлементностью и минимальным временем пробоподготовки делает прибор отличным выбором для проведения экспрессных и точных анализов соков. Прибор также отлично подойдет для анализа других пищевых продуктов, но для этого необходима разработка соответствующей продукту методики.

## Список литературы

1. F. H. Nielsen, "TRACE ELEMENTS", in Book "TRACE ELEMENTS", C. Editor-in-Chief: Benjamin, editor Oxford: Academic Press, 2003. Pp. 5820-5828.
2. "ATSDR Case Studies in Environmental Medicine - Toxicological Profile for Lead", 2007. 582.
3. "ATSDR Case Studies in Environmental Medicine - Lead Toxicity", 2010. 71.
4. "ATSDR Case Studies in Environmental Medicine - Cadmium Toxicity", 2008. 61.
5. "ATSDR Case Studies in Environmental Medicine - Toxicological Profile for Cadmium", 2012. 487.
6. "ASTDR Case Studies in Environmental Medicine - Toxicological Profile for Mercury", 1999. 676.
7. "ATSDR Case Studies in Environmental Medicine - Arsenic Toxicity", 2009. 125.
8. "ATSDR Case Studies in Environmental Medicine - Toxicological Profile for Arsenic", 2007. 559.
9. "Commission Regulation (EC) No 1881/2006", 2006.
10. "Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов: санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. 2.3.2. Продовольственное сырье и пищевые продукты. СанПиН 2.3.2.1078-01", Рит Экспресс, 2002.
11. Fruit Juice Consumption, [http://www.nationmaster.com/graph/fo\\_fru\\_jui\\_con-food-fruit-juice-consumption](http://www.nationmaster.com/graph/fo_fru_jui_con-food-fruit-juice-consumption).
12. Рынок соков: Лебедянский, Мултон, Нидан, [http://expert-rating.ru/marketing\\_research/index.php?productID=893](http://expert-rating.ru/marketing_research/index.php?productID=893).
13. Маркетинговое исследование потребителей соков, <http://www.fdfgroup.ru/?id=261>.
14. F. Lo Coco, P. Monotti, F. Cozzi, G. Adami, "Determination of cadmium and lead in fruit juices by stripping chronopotentiometry and comparison of two sample pretreatment procedures", *Food Control*, 17(12), 966-970, 2006. DOI: 10.1016/j.foodcont.2005.06.015.
15. N. Jalbani, F. Ahmed, T. G. Kazi, U. Rashid, A. B. Munshi, A. Kandhro, "Determination of essential elements (Cu, Fe and Zn) in juices of commercially available in Pakistan", *Food Chem Toxicol*, 48(10), 2737-2740, 2010. DOI: 10.1016/j.fct.2010.06.048.
16. W. A. Simpkins, H. Louie, M. Wu, M. Harrison, D. Goldberg, "Trace elements in Australian orange juice and other products", *Food Chemistry*, 71(4), 423-433, 2000. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00150-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00150-3).
17. S. Nikdel, C. M. Temelli, "Comparison of microwave and muffle furnace for citrus juice sample preparation and analysis using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry", *Microchemical Journal*, 36(2), 240-244, 1987. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0026-265X\(87\)90160-3](http://dx.doi.org/10.1016/0026-265X(87)90160-3).
18. I. J. Cindrić, M. Zeiner, M. Kröppl, G. Stingeder, "Comparison of sample preparation methods for the ICP-AES determination of minor and major elements in clarified apple juices", *Microchemical Journal*, 99(2), 364-369, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2011.06.007>.
19. I. Juranović Cindrić, I. Krizman, M. Zeiner, Š. Kampać, G. Medunić, G. Stingeder, "ICP-AES determination of minor- and major elements in apples after microwave assisted digestion", *Food Chemistry*, 135(4), 2675-2680, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.051>.
20. L. Tormen, D. P. Torres, I. M. Dittert, R. G. O. Araújo, V. L. A. Frescura, A. J. Curtius, "Rapid assessment of metal contamination in commercial fruit juices by inductively coupled mass spectrometry after a simple dilution", *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 95-102, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2010.06.004>.
21. N. S.M., "Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook", Blackwell Publishing, Oxford UK, 2005.
22. "Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Санитарные правила и нормы СанПиН 2.1.4.559-96", 1997.
23. "ATSDR Case Studies in Environmental Medicine - Beryllium Toxicity", 2008. 50.
24. "Medicine, I.o., Dietary Reference Intakes (DRIs). Food and Nutrition Board, 2004, National Academies: Canada."

Контакты: Agilent MAPs:  
**maps\_agilent@agilent.com**

Дополнительная информация:  
**<http://www.your-analytical-solution.com>**

This information is subject to change without notice.

© Agilent Technologies, Inc. 2014  
Published in USA, April 14, 2014  
5991-4226RURU

