



تقدير بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم في الأغذية المختلفة في الأسواق العراقية باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

عمر حمد شهاب العبيدي

سهام توفيق أمين

عادل إسماعيل جبار

قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة تكريت قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة تكريت قسم الكيمياء، كلية التربية للبنات، جامعة الأنبار

الخلاصة :

تم في هذا البحث استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) كطريقة سريعة وموثوقة لتقدير المواد الحافظة لبنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم في عصير الفواكه والمشروبات الغازية وصلصة الطماطم. تم إعداد عينات السائل عن طريق تخفيف 1 مل من العينة مع 10 مل من محلول (الأسيتونيتريزل / بفر خلات الامونيوم) وإعداد عينات من النماذج اللزجة أو الصلبة عن طريق مزج العينة مع المحلول نفسه في نسبة 1: 5 تليها التخفيف مطابقة لعينات السائل. تم ترشيح جميع العينات لإزالة الجسيمات قبل التحليل. استخدام عمود C18 وطول موجي نحو 225 نانومتر لبنزوات الصوديوم و 255 نانومتر لسوربات البوتاسيوم لتقدير المواد الحافظة. تم حساب النسبة المئوية للمواد الحافظة في العينة القياسية الخارجية باستخدام المواد القياسية لبنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم. كانت نسبة الاسترداد تتراوح ما بين 80-102 % سوربات البوتاسيوم و 80-97% لبنزوات الصوديوم. كلمات مفتاحية: مشروبات غازية؛ عصائر الفاكهة؛ بنزوات الصوديوم؛ سوربات البوتاسيوم؛ المواد الحافظة.

Abstract:

In this research the use of technology high-performance liquid chromatography (HPLC) as a fast and reliable method for estimating the preservatives sodium benzoate and potassium sorbate in fruit juice, soft drinks and tomato sauce. Fluid samples have been prepared by easing 1 ml of the sample with 10 ml of solution (acetonitrile / ammonium acetate buffer solution). Samples were prepared from viscous or solid models by mixing the sample with the same solution in the ratio of 1: 5, followed by mitigation matching fluid samples. All samples were nominated to remove particles before analysis. An assessment was made of preservatives HPLC using a C18 column and wavelength of about 225 nm UV for sodium benzoate and 255 nm for potassium sorbate. The percentage was calculated for preservatives in the external standard sample using standard materials for sodium benzoate and potassium sorbate. The recovery rate ranging between 80-102 % of potassium sorbate and 80-97% of sodium benzoate.

Keywords: Drinks; fruit juices; sodium benzoate; potassium sorbate, preservatives

1. المقدمة

تستخدم المواد المضافة في الأغذية المصنعة، مثل عصير الفاكهة والصودا، وفول الصويا والمعترف بها عموماً على أنها آمنة (مختبرياً) وصلصة وجبن كريمة، والتي أكدتها بحوث سابقة كما في العديد من المنتجات الغذائية⁽¹⁾. مثلاً تباع الاغذية وفيها ملح كلوريد الصوديوم المضافة لمنع التلف. ويمكن استخدام بنزوات كمادة حافظة في العصائر، عادة، بنزوات الصوديوم و / أو البوتاسيوم ومع ذلك، استخدامها لا ينبغي أن يؤدي إلى مستويات تتجاوز الحدود المسموحة، المواد الحافظة التي تستخدم لـ 0.1% في العصائر وفي المشروبات⁽¹⁾، في حين أملاح البوتاسيوم يمكن استخدامها لمنع نمو العفن، ومنع التلف، والحفاظ على مستويات السوربات من 0.1-0.2%⁽²⁾. بنزوات الصوديوم هو ملح الصوديوم من حامض البنزويك ويعمل بشكل جيد في الأغذية كوسائل حامضية لمنع الخمائر، ونمو البكتيريا. يتم استخدامه في مجموعة متنوعة من المنتجات، مثل مستحضرات التجميل والمستحضرات الصيدلانية، ولكن الأكثر شيوعاً في الأطعمة مثل الصودا وعصير الفاكهة للحفاظ عليها طازجة⁽²⁻⁹⁾. سوربات البوتاسيوم هي ملح لحامض السوربيك، وهي أحماض دهنية غير مشبعة المستخدمة لمنع نمو العفن في العصائر⁽²⁾.



أفادت الدراسات السابقة في تقدير المواد الحافظة هذه باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالي الأداء (HPLC) في عصير البرتقال⁽³⁾، العلك والجيلي وفي مربى الفواكه المختلفة⁽⁴⁾. تم الحصول على السوربات بهذا الأسلوب كان باستخدام رباعي هيدرو الفيوران كطور متحرك أو الاسيتونتريل⁽¹⁰⁾.

الغرض من هذه الدراسة للتحقيق في كميات المواد الحافظة بنزوات الصوديوم، سوربات البوتاسيوم، في عصائر الفواكه والمشروبات الغازية وصلصة الطماطم المتاحة تجارياً في الأسواق المحلية في العراق، من أجل مقارنة مستويات الحدود المسموح بها لكل منها. حيث نحدد بإجراء مبسط في كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لمزيج من بنزوات الصوديوم E211 وسوربات البوتاسيوم E202. طبقت الطريقة هذه على تحليل المواد الحافظة في 12 نموذج من عصير فواكه ومشروب غازي وصلصة طماطم.

2. الجزء العملي

2.1 المواد المستخدمة وطريقة العمل

2.1.1 جمع العينات

جمعت العينات من العصائر والمشروبات الغازية وصلصة الطماطم من 5 شركات المستوردة في الأسواق العراقية. وتم حفظها بجو معقم و مطهر ما مجموعه 5 عينات من العصير , 5 عينات من المشروبات الغازية , 2 عينات من صلصة الطماطم، والمبينة أنواعها ومنشأها أدناه . تم إجراء تحليل لكل منها 3 مرات (مكررات).

المنتشأ	النموذج	التسلسل
تركيا	FuRRiT extra (برتقال)	نموذج (1)
تركيا	FuRRiT extra (رمان)	نموذج (2)
سوريا	شراب الرمان الطبيعي	نموذج (3)
تركيا	SIRMA (مياه معدنية طبيعية غازية)	نموذج (4)
الأردن	بي أم تفاح	نموذج (5)
الكويت(خالي من المواد الحافظة)	داليا برتقال وجزر	نموذج (6)
السعودية	راني شراب الفاكهة (برتقال)	نموذج (7)
سوريا	شراب العنب الطبيعي	نموذج (8)
السعودية	فيزي ويزي ليمون لايت	نموذج (9)
سوريا(خالي من المواد الحافظة)	شراب البرتقال الطبيعي	نموذج (10)
سوريا	معجون طماطم (السعادة)	نموذج (11)
السعودية	معجون طماطم (لونا)	نموذج (12)

2.1.2 المواد المستخدمة

الميثانول والماء الخاص بجهاز ال HPLC والكواشف الأخرى (الصنف المستخدم للأغراض التحليلية) تم شراؤها من شركة ميرك (Darmstadt، ألمانيا).



2.2 تحليل بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم

2.2.1 تحضير العينة

استخدمت تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لتقدير تركيز كل من بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم في العينات المختارة وفقا لطريقة العمل التي وصفت في البحوث السابقة⁽¹¹⁾. وأضيف حوالي 20 مل من الماء إلى 5 مل لكل من العينات المتجانسة والغير متجانسة لمدة 10 دقائق على سرعة متوسطة في جهاز الطرد المركزي. تم استخلاص بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم من الميثانول. تم خلطها بشكل جيد مع 35 مل من الميثانول. وقد تم إكمال الحجم إلى 100 مل مع الماء وترشيحها من خلال ورقة ترشيح نوع واتمان NO.1 لترشيح العينات قبل الحقن، تم استخدام فلتر نايلون نوع 45.HV Millex 0 ميكرون.

2.2.2 عمل جهاز ال HPLC

أجري تحليل الكروماتوغرافي السائلة عالية الأداء HPLC (super fast scanning-D,A,D) ، في كلية الزراعة- جامعة الانبار) مجهزة بمضخة نوع G1311A ، صمام ثنائي نوع الكاشف multi wavelength (190-380 نانومتر)، وأخذت العينات بشل التلقائي، ومبرمج لل ChemStation. وقد تحقق الفصل الكروماتوغرافي مع عمود (C18 (Hypersil)، 25 سم 4.6 X ملم ، 5 ميكرومتر لحجم الجسيمات). كان الطور المتحرك 65:35 خلالت : ميثانول، (الرقم الهيدروجيني 4.74) . و إجري التحليل في درجة حرارة الغرفة باستخدام معدل سرعة الجريان 0.8 مليلتر / دقيقة. وكان حجم الحقن 20 ميكرو لتر. تم تسجيل كروماتوغرام لمدة 20 دقيقة وكان زمن الاحتجاز 18 دقيقة وبطول موجي 255 نانوميتر لسوربات البوتاسيوم . وأجري الكشف عن بنزوات الصوديوم في درجة حرارة الغرفة باستخدام معدل سرعة الجريان 0.65 مليلتر / دقيقة. بلغ حجم الحقن 20 ميكرو لتر. تم تسجيل كروماتوغرام لمدة 8 دقيقة وكان زمن الاحتجاز 6.24 دقيقة وبطول موجي 225 نانوميتر .

2.3 إعداد المنحنى القياسي

استخدمت أسلوب المعايرة الخارجية القياسية. تكرر الحقن من 20 مايكرو لتر بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم واستخدمت المحاليل القياسية لرسم خطوط الانحدار الخطي (منطقة الامتصاص الأعظم مقابل التركيز). حددت القمم اعتمادا على الوقت الاحتجاز. تم الحصول على المنحنيات القياسية مع خمس نقاط عن كل من بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم. وكانت التراكيز 5، 10، 20، 50 و 100 mg/L لبنزوات الصوديوم و 5، 10، 20، 50 و 100 mg/L لسوربات البوتاسيوم.

2.4 دراسة الاسترداد

وبغية التحقق من الدقة والإحكام لإجراء التحليل، تم إجراء دراسات الاسترداد . وإضافة إلى استرداد بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم التي أجريت إلى عينات خالية من المواد الحافظة. وقد تم تحليل عينتين من العصائر والمشروبات الغازية قبل وبعد إضافة 100 و 200 ملغ من بنزوات الصوديوم و سوربات البوتاسيوم إلى 100 غرام من العينات.

3 . النتائج والمناقشة

ذكرت العديد من الطرق المعقدة باستخدام إجراءات مكثفة قبل المعالجة مثل التقطير بالبخار متعددة الخطوات والتخلص من الأجزاء الصلبة⁽¹²⁾-⁽¹⁵⁾. مقارنة مع الطرق السابقة⁽¹⁶⁻¹⁹⁾، وطريقة التحليل في هذا البحث يبسط إلى حد كبير التحليل للمواد الحافظة، والحد من التكلفة والوقت اللازم للتحليل والذي كان بمعدل (4-6 دقائق) ويشمل أيضا مستوى أعلى من الحساسية وانخفاض مستوى LOD و LOQ. حدود الكشف LOD تعرف على أنها أصغر قمة بارتفاع الإشارة بثلاثة أضعاف من تلك للخط القاعدي بينما حدود تحديد الكمية LOQ المشار إليها بأدنى مستوى والذي يمكن تحديده بدرجة مقبولة من الثقة. ويبين الجدول 1 تراكيز (مغ / لتر) لكل من بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم للنماذج المختارة من الأسواق المحلية العراقية وفي الجدول (2 و 3) تبين المواصفات التحليلية المهمة مع حدود الثقة والدقة ونسبة الاسترداد لكل من سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم على التوالي .



جدول (1): التركيز (ملغ/ لتر) من بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم في النماذج الغذائية .

samples	potassium sorbate	sodium benzoate
	C (mg/L)	C (mg/L)
1	238.39	-
2	192.16	-
4	-	505.9
5	-	1962.29
8	179.4	-

جدول (2) : الانحراف القياسي والدقة والموثوقية ونسبة الاسترداد لسوربات البوتاسيوم بطريقة HPLC لثلاث مكررات.

C mg / L	Height (st / Ist) Average	SD	RSD %	Amount Founded (mg/L)	Recovery %
5	19.37	0.85	4.38	4.00	80
10	44.21	0.97	2.19	9.10	91
20	93.86	1.05	1.11	19.15	95.75
40	193.25	0.87	0.45	41.15	102.5
80	391.97	1.47	0.37	78.18	97.72

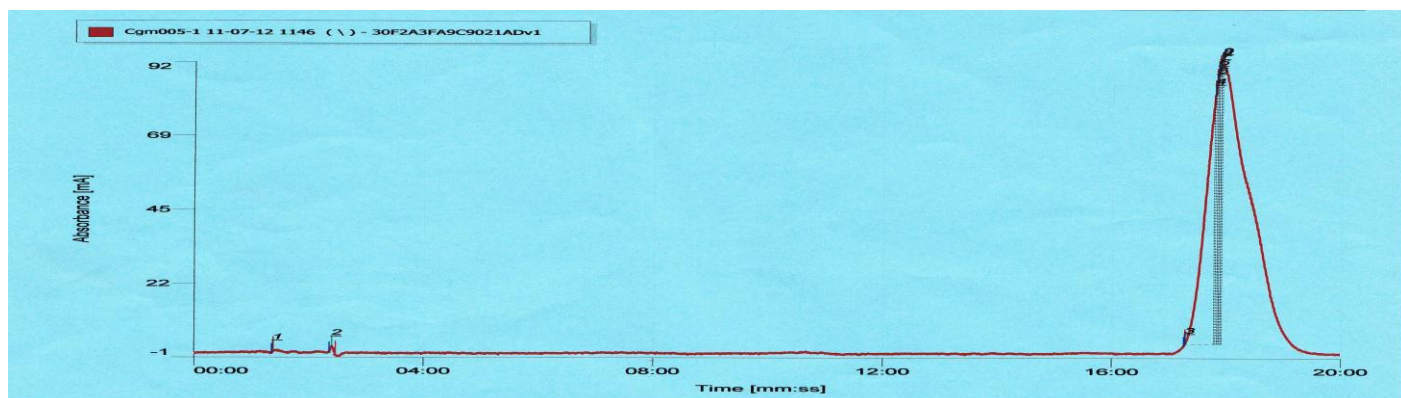


جدول (3) : الانحراف القياسي والدقة والموثوقية ونسبة الاسترداد لبنزوات الصوديوم بطريقة HPLC لثلاث مكررات.

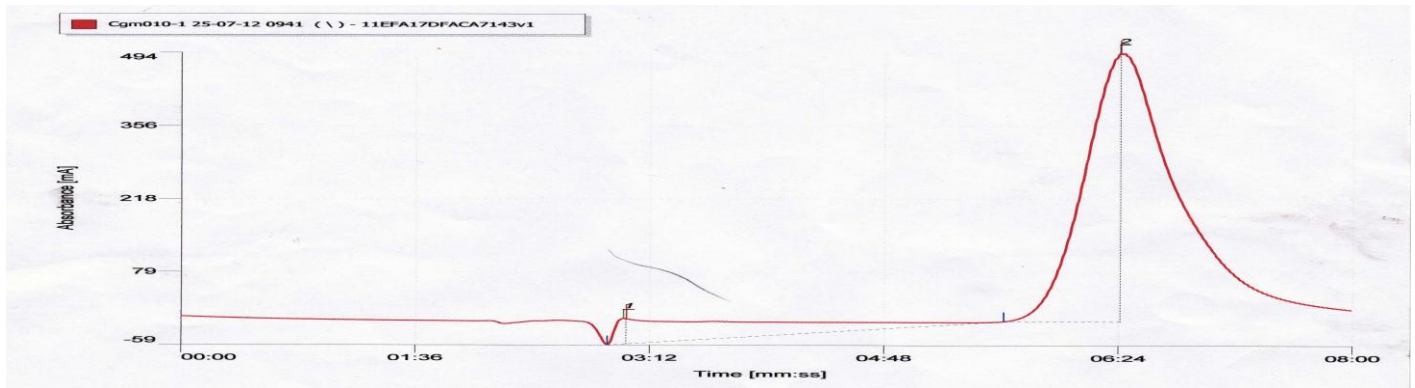
C mg / L	Height (st / Ist) Average	SD	RSD %	Amount Founded (mg/L)	Recovery %
100	99.18	0.77	0.77	80.20	80.20
150	178.53	1.60	0.89	140.10	93.40
200	257.88	1.07	0.414	188.20	94.20
250	337.23	1.82	0.540	240.30	96.12
300	416.58	1.08	0.259	291.40	97.13

وقد تم تطوير طريقة الـ HPLC والتحقق من صحتها بتعيين كمية بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم في المشروبات الغازية والعصائر. هذه المعلومات تبين أن تركيز البنزوات والسوربات في عينات المشروبات الغازية العادية التي هي أعلى ADI حتى بالنسبة للمستهلكين ، استنادا إلى الحدود القصوى المنصوص عليها في المعايير الدولية وعلى أساس (WHO، 2000)⁽²⁰⁾. ولذلك، من أجل الحد من المبالغة ، فمن المستحسن أن يتم تكرار القياس كلما كان ذلك ممكنا لتقدير كمية المواد المضافة وبواسطة طرق أكثر دقة باستخدام البيانات التحليلية. ينبغي تنظيم استخدام السوربات والبنزوات فقط كوسيلة للسيطرة على الخميرة بتركيزات لا تتجاوز الحاجة الفعلية لها لحين وصول المنتج إلى المستهلك.

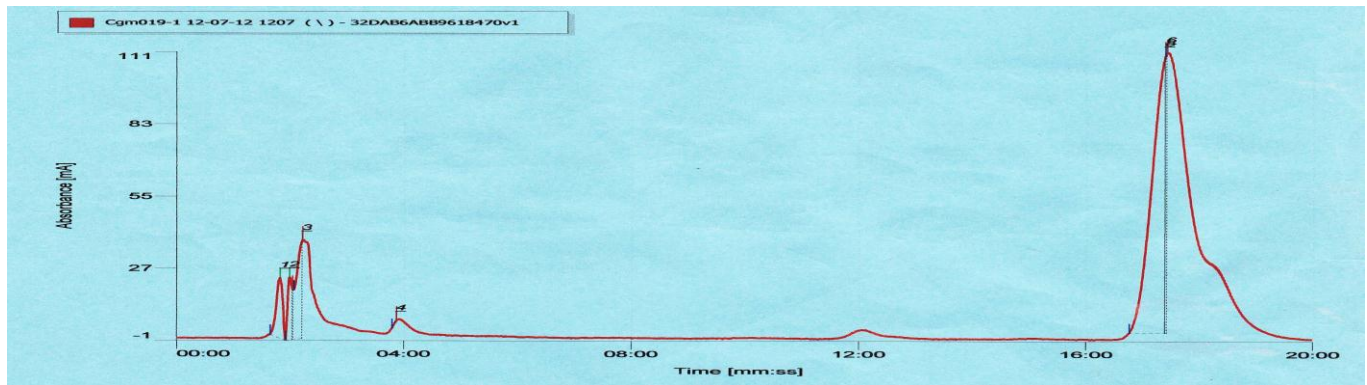
في بحثنا هذا كانت (زمن الاحتجاز) التقريبي 6.24 دقيقة لبنزوات الصوديوم و 18 دقيقة للسوربات البوتاسيوم على التوالي. ويبين الجدول 1 تراكيز (مغ / كغ) لكل من بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم للنماذج المختارة من الأسواق المحلية العراقية ، في حين يتم عرض كروماتوغرام نموذجي لكل من بنزوات الصوديوم القياسية وسوربات البوتاسيوم في الشكل (1 و 2) وتبين الأشكال (3-7) كروماتوغرامات لكل من النماذج المدروسة والحاوية على بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم .



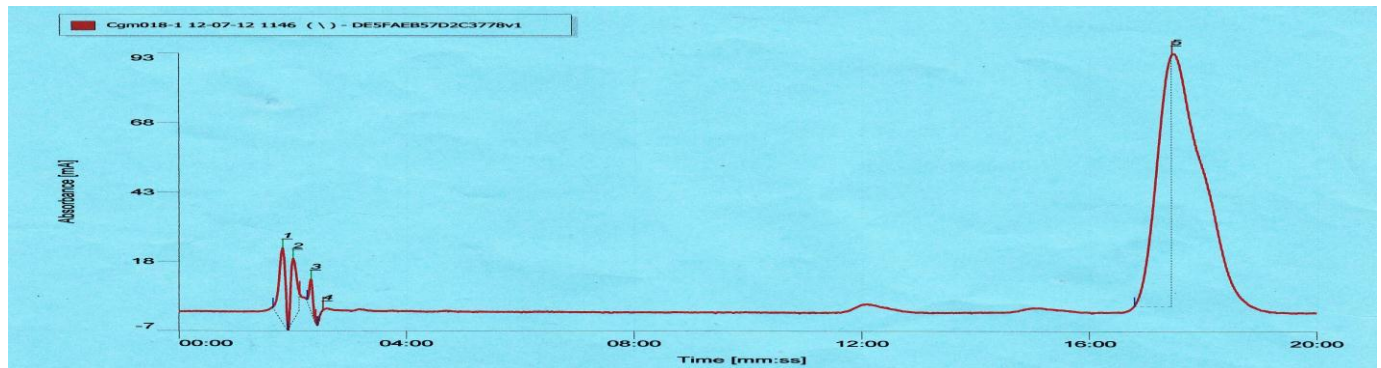
الشكل 1. كروماتوغرام نموذجي قياسي يحتوي على تركيز 40 ملغ / لتر من سوربات البوتاسيوم .



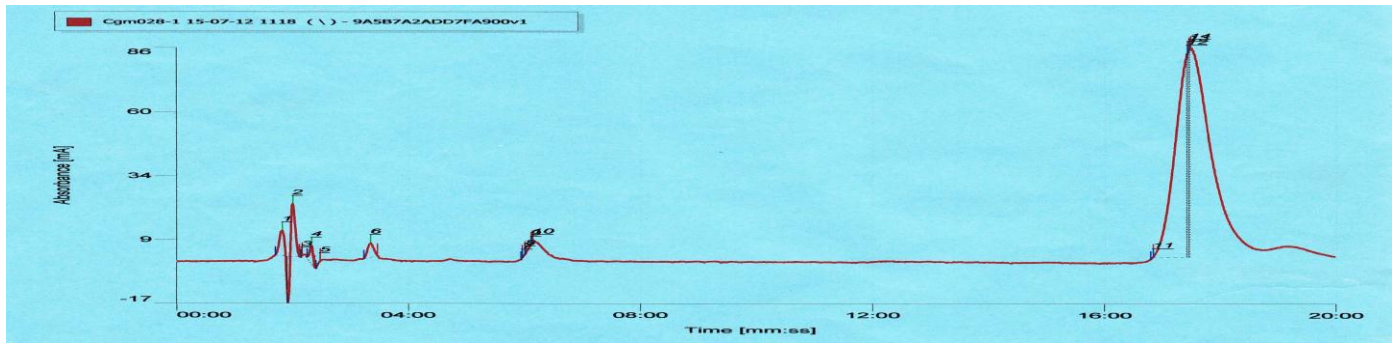
الشكل 2. كروماتوغرام نموذجي قياسي يحتوي على تركيز 40 ملغ / لتر من بنزوات الصوديوم .



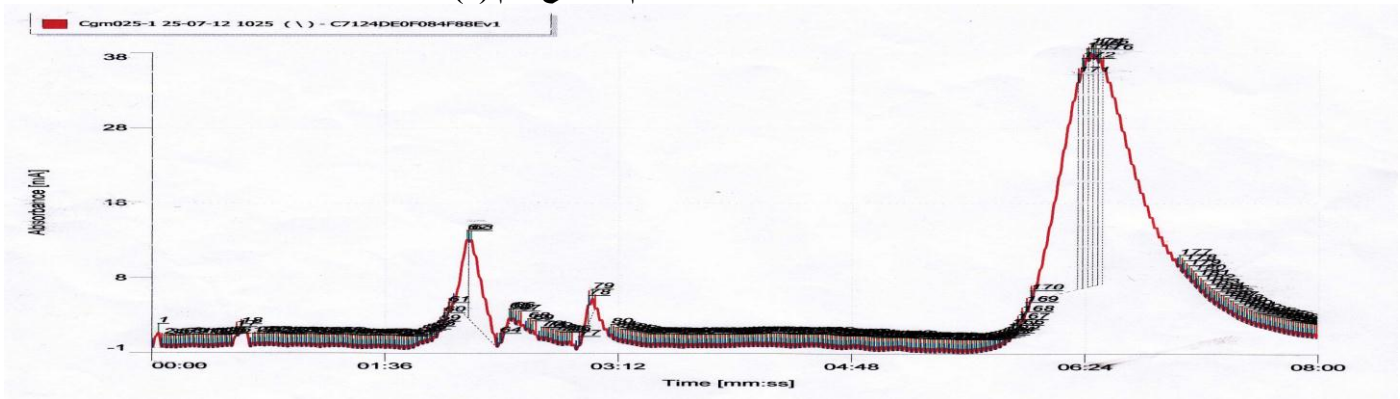
الشكل 3. كروماتوغرام للنموذج رقم (1) .



الشكل 4. كروماتوغرام للنموذج رقم (2) .



الشكل 5. كروماتوغرام للنموذج رقم (8) .



الشكل 6. كروماتوغرام للنموذج رقم (4) .



الشكل 7. كروماتوغرام للنموذج رقم (5) .

4. الاستنتاجات

استخدمت 12 عينة في هذه الدراسة. تحتوي على بنزوات الصوديوم وسوربات البوتاسيوم ، انظر الجدول 1. المنتجات السائلة كانت عصير الفواكه والمشروبات الغازية وصلصة الطماطم. يبين الجدول 1 فقط العينات التي تحتوي على المواد الحافظة. العينات المختارة لهذه الدراسة (1) فقط المنتج الذي يحتوي على المواد الحافظة. العينات قسمت إلى فئتين؛ المنتجات التي أعلنت "المواد الحافظة على الملصق". وكانت هذه المنتجات تحتوي على مواد حافظة بنزوات الصوديوم و / أو سوربات البوتاسيوم . ومنتجات لم تحوي أصلا على أي من المواد الحافظة.

من أجل التأكد من صحة دقة الخطوات التحليلية، فقد أجريت دراسات الاسترجاع أو الاسترداد. لقد أضيف المقدار المعلوم من سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم إلى عينة النموذج. و تم تحليل العينات بصورة متطابقة.



الأسلوب المتبع للقياسات وتقدير المواد الحافظة في بحثنا تعتبر سريعة ومريحة وكذلك سهولة تحضير العينات التي يمكن استخدامها لتقدير السوربات والبنزوات في عينات من السوق المحلية العراقية .

المصادر

1. Code of Federal Regulations Title 21, US Government Printing Office, Washington, DC, Revised 1 April, 1999, Section: 184.1733, sodium benzoate, Section: 182.3640, potassium sorbate. Available online at: <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/cfr-table-search.html>
2. Jones. J.M., 1992. Food Safety, Eagan Press, St. Paul, MN.
3. Archer. A.W., 1980. Analyst 105 , 407.
4. Gagliardi L. , D. De Orsi, L. Manna, D. Tonelli., 1980. J. Liq., 675.
5. Mandrou B., F. Bressolle, J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63
6. Mandrou B. , V. Nollet, E. Gastaldi, H. Fabre., 1998. J. Liq Chromatogr Rel. Technol. 21 , 829.
7. Foulke J.E., 1993. FDA Consumer 27, 23.
8. Leco C.W. , 1988. FDA Consumer 22 , 16.
9. Brause A.R., 1993. Assoc. Food & Drug Off., 57, 6.
10. Coppola E.D., M.S. Starr, in: J.A. Attaway, M.E. Rhodes(Eds.), 1988. Adulteration of Fruit Juice Beverages, Marcel Dekker, New York, pp. 139–174, Chapter 8.
11. Anonymous., 1997b. NMKL (Nordic Committee on Food Analysis), No: 124, Oslo.
12. SAV Tfouni, MCF Toledo , 2002. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. Food Control; 13: 117 - 23.
13. Hajkova R., Solich P., Pospisilova M, Sicha J. ,2002. Simultaneous determination of methylparaben, propylparaben, sodium diclofenac and its degradation product in a topical emulgel by reversed-phase liquid chromatography. Analytica Chimica Acta ; 467: 91 - 6.
14. Kuo K.L., and Hsieh YZ., 1997. Determination of preservatives in food products by cyclodextrin-modified capillary electrophoresis with multiwavelength detection. J. Chromatography A.; 768:334 - 41.
15. Thomassin M, Cavalli E, Guillaume Y, Guinchard C. ,1997. Comparison of quantitative high performance thin layer chromatography and the high performance liquid chromatography of parabens. J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis; 15: 831 - 8.



16. Labat L, Kummer E, Dallet P, Dubost JP., 2000. Comparison of high- performance liquid chromatography and capillaryzone electrophoresis for the determination of parabens in a cosmetic product. J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis; 23: 763 - 9.
17. Horwitz W., 2000. Official Methods of Analysis of AOAC Inter.vol.2. AOAC .,Inter. ,Gaithersburg. Maryland, p: 9.
18. Dunn O.A., Clark VA., 1987. Linear Regression and correlation in: the United States of America AppliedStatistics: Analysis of Variance and Regression. Wiley. New York., p: 261.
19. Küçükçetin A., fiik B, Cicek A, Certel M., 2004. Determination of sodium benzoate and potassium sorbate in yoghurt and white pickled cheese by HPLC. Milchwissenschaft, 59: 420-422.
20. Wang L., Zhang X., Wang Y., Wang W., 2006. Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by a novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography. Analytica Chimica Acta, 577: 62-67.

Estimating sodium benzoate and potassium sorbate in different foods in Iraqi markets using technical high-performance liquid chromatography (HPLC)

Adel Ismail Jabbar Seham Tawfiq Amin
Department of Chemistry, Faculty of Science,
University of Tikrit

*Omar Hamad Shihab al-Obeidi
*Department of Chemistry
College of Education, University of Anbar