

PREREQUISITES TO IMPROVE THE SAFETY OF SMOKED FOODSTUFFS**N. Usatenko¹, M. Kalashnik¹, S. Dobroskok¹, S. Verbitskyi²***e-mail: ni.usatenko@gmail.com, verb@ipr.net.ua*¹Pereiaslav-Khmelnytskyi Hryhorii Skovoroda State Pedagogical University

30, Sukhomlynsky Str., Pereiaslav, 08401, Ukraine

²Institute of Food Resources of the NAAS Ukraine

4a, Ye. Sverstiuk Str., Kyiv, 02002, Ukraine

The conditions of the generation process of industrial smoking medium were studied in order to reduce the risk of the formation of polycyclic aromatic hydrocarbon 3, 4-benzo (a) pyrene - a carcinogen of the 1st hazard class, one of the most active in terms of the formation and development of cancer cells in a living organism. The work was carried out on the basis of the use of modern research equipment and instruments. The main method for the determination of 3, 4-benz (a) pyrene was high performance liquid chromatography (HPLC) with fluorimetric detection. The basis of this method is considering the fluorescence spectra of the sample solution of the investigated smoke, taken under the conditions of isokineticity at the exit of the smoke generator prior to mixing with air and a standard solution of 3, 4-benz (a) pyrene (standard). The absence of this carcinogen in the smoke, which was obtained at a temperature in the zone of generation of the Ya5-FKE smoke generator within 450 °C ÷ 500 °C was proven. It has been established that stabilization of the smoldering temperature in this range is possible due to a complex of measures: when using sawdust moistened to 35.0 ± 2.5%, obtained by fine grinding of deciduous trees (alder, birch without bark, oak, aspen) and juniper; maintaining the height of the layer of sawdust in the smoldering zone in the range from 0.06 m to 0.08 m with simultaneous mechanized loosening of the layer in order to increase its porosity and, as a result, a uniform distribution throughout the volume of fresh air, its consumption for decay of 1 kg of sawdust should be from 20 m³ / kg to 40 m³ / kg. It was determined that to purify the generated smoke from the ballast components (soot and tar) it is rational to use the method of water-inertial purifying. The absence of 3, 4-benz (a) pyrene in samples of the generated smoke was confirmed by its absence in the sample of a natural sausage casing separated from the cooked smoked sausage "Moskovska", which according to the technology had been smoked in the said medium for 12 hours. The expediency of continuing research in the direction of determining technological methods to reduce the regulated carcinogenic PAH in smoked products has been proven.

Key words: benzo(a)pyrene, generation, smoke, polycyclical, temperature, hydrocarbons.

ПЕРЕДУМОВИ ПІДВИЩЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ КОПЧЕНИХ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ**Н. Ф. Усатенко¹, М. Г. Калашник¹, С. С. Доброскок¹, С. Б. Вербицький²***e-mail: ni.usatenko@gmail.com, verb@ipr.net.ua*¹Переяслав-Хмельницький ДПУ ім. Г. С. Сковороди

вул. Сухомлинського, 30, м. Переяслав-Хмельницький, Київська обл., 08401, Україна

²Інститут продовольчих ресурсів НААН України

вул. Є. Сверстюка, 4а, м. Київ, 02002, Україна

Вивчено умови процесу генерації промислового коптильного диму з метою зменшення ризику утворення поліциклічного ароматичного вуглеводню 3, 4-бенз(а)пірен-канцерогена I-ого класу небезпеки, одного з найактивніших у частині утворення та розвитку в живому організмі ракових клітин. Роботи проводили з використанням сучасного дослідницького обладнання та приладів. Основним методом визначання 3, 4-бенз(а)пірену була високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) з флуориметричним детектуванням. В основу цього методу було покладено розгляд спектрів флуоресценції розчину проби досліджуваного диму, взятого з дотриманням умов ізокінетичності на виході з димогенератора до змішування з повітрям та стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену (еталон). Доведена відсутність цього канцерогену в димі, який отримували за температури в зоні генерації димогенератора Я5-ФКЕ в межах 450 °C ÷ 500 °C. Встановлено, що стабілізація температури тління тирси в цьому діапазоні можлива завдяки комплексу заходів: за використання зволоженої до 35,0±2,5 % тирси, отриманої при мілкому подрібненні листяних порід дерев (вільхи,

берези без кори, дубу, осики) та ялівцю; підтримуванні висоти шару тирси в зоні тління в діапазоні від 0,06 м до 0,08 м за одночасного механізованого розпушування шару з метою збільшення його пористості і, як наслідок, рівномірного розподілу по об'єму свіжого повітря, витрати якого на тління 1 кг тирси мали бути від 20 м³/кг до 40 м³/кг. Визначено, що для очищення генерованого диму від баластних компонентів (сажі та смоли) раціонально використовувати метод водоінерційного очищення. Підтверджено факт відсутності 3, 4-бенз(а)пірену в дослідних зразках генерованого диму відсутністю його в дослідному зразку натуральної ковбасної оболонки, відокремленої від батона варено-копченої ковбаси «Московська», яку, за технологією, піддавали копченню цим димом протягом 12 годин. Доведено доцільність продовження досліджень у напрямку визначення технологічних прийомів зі зниження регламентованих канцерогенних ПАВ у копченостях.

Ключові слова: 3, 4-бенз(а)пірен, високоефективна рідинна хроматографія, генерація, поліциклічні ароматичні вуглеводні.

Постановка проблеми

Важливе місце при вивченні хімічної природи процесу копчення харчових продуктів з м'яса, риби, сирів тощо належить визначанню якісних характеристик коптільного диму і, насамперед, його безпечності для споживачів та довкілля.

Коптільний дим виникає у процесі піролізу деревини. В основі піролізу лежать вільнорадикальні реакції термодеструкції геміцелюлоз, целюлози і лігніну. Зазначені реакції протікають за температури вище ніж 200 °С з утворенням фенолів, спиртів, карбонільних з'єднань [1]. При потраплянні до продукту в процесі фізико-хімічних перетворень низка компонентів коптільного диму позитивно впливає на якість копченостей, забезпечуючи бактерицидний, антиокислювальний і антипротеолітичний ефекти, а також надаючи продуктам приємного специфічного смаку та аромату. При цьому, процес піролізу деревини супроводжується також утворенням шкідливих компонентів – таких, як поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ), що виявляють яскраво виражені канцерогенні, мутагенні і тератогенні впливи на організм людини [2].

Відповідно до Постанови Комісії ЄС № 208/2005 [3] як показник наявності і впливу канцерогенних поліциклічних ароматичних вуглеводнів у харчових продуктах можна використовувати вміст у них бенз(а)пірену, який відносять до числа найбільш поширених канцерогенних речовин у навколишньому середовищі.

Регламентом Комісії (ЄС) № 1881/2006 від 19 грудня 2006 року [4] встановлено максимальні рівні деяких контамінантів в харчових продуктах: нітратів, мікотоксинів, металів, 3-монохлорпропан-1,2-діолу (3-MCDP), діоксинів і поліхлорованих біфенілів (ПХБ), меламіну та поліциклічних ароматичних вуглеводнів.

Визначено, що копчені продукти мають містити не більше ніж 5 мкг/кг бенз(а)пірену. Цю норму вмісту бенз(а)пірену в копченостях зменшено до 2 мкг/кг Регламентом Комісії (ЄС) N 835/2011 від 19 серпня 2011 року [5].

В Україні інтегрований у світову торговельну систему та глобальну економіку, 2016 року було надано чинності Регламенту максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах [6], який адаптовано до вимог зазначених вище Регламентів ЄС.

З точки зору актуальності проблеми безпеки копчених харчових продуктів, пріоритетним щодо спостереження є 3, 4-бенз(а)пірен – канцероген 1-го класу небезпеки і один з найактивніших у сенсі утворення та розвитку в живому організмі ракових клітин. Саме тому у всьому світі набувають актуальності наукові та практичні дослідження з метою пошуку рішень щодо зниження вмісту бензапіренів у копченостях і, насамперед, зниження вмісту цих речовин у коптільному димі, яким обробляють зазначені продукти.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

В результаті проведених в останні роки досліджень [7] доведено, що якість і хімічний склад технологічного коптільного диму змінюються залежно від умов його отримання: способу генерації; виду деревини, використовуваної для спалювання, та ступеня її подрібнення; вологості і щільності шару деревини в зоні тління; доступу свіжого повітря до зони димоутворення та температури димоутворення; способу очищення диму від баластних компонентів дисперсної фази та умов транспортування підготованого за технологічними параметрами диму безпосередньо до зони обробки продукту.

Враховуючи різноманіття умов отримання якісного коптільного диму, можна припустити,

що саме в промислових умовах рішення завдання з контролювання його хімічного складу в процесі генерації є достатньо складним і особливо проблематичним у частині запобігання утворенню бластоомогенних поліциклічних ароматичних вуглеводнів.

Вирішенням цього питання займалися провідні науковці різних країн. Ґрунтовні дослідження в цьому напрямку провели вчені-біофізики інституту онкології м. Санкт-Петербург [8], які здійснили піроліз деревини в реторті в ізотермічних умовах. В результаті проведеної роботи встановлено, що мінімальний рівень утворення поліциклічного ароматичного вуглеводню 3, 4-бенз(а)пірену під час піролізу деревини в реторті в ізотермічних умовах відповідає діапазону температур від 450 °C до 500 °C.

Інші провідні вчені [9], які також в лабораторних умовах досліджували залежність вмісту ПАВ від умов формування компонентів димних композицій, довели, що збільшення температури з 450 до 700 °C спричиняє 2-3-кратне збільшення кількості ПАВ у м'ясній продукції.

Мета, завдання та методика досліджень

Метою роботи були дослідження процесу утворення поліциклічного ароматичного вуглеводню 3, 4-бенз(а)пірену при термічному розкладанні (тлінні) деревини за температури від 450 °C до 500 °C в промислових умовах для зниження його вмісту в копильному димі.

Отримання технологічного копильного диму в промислових умовах здійснювали без постійного використання теплоти ззовні (за виключенням моменту розпалювання тирси) в димогенераторі марка Я5-ФКЕ серійного зразка, конструкція якого дозволяла регулювати: доступ повітря в зону тління тирси; параметри шару тирси в зоні її тління (висоту та щільність); очищення диму від баластних компонентів (сажі та смоли) водоінерційним способом [10].

Відбір проб для дослідження хімічного складу копильного диму здійснювали з дотриманням умов ізокінетичності на виході з димогенератора до змішування з повітрям.

Масу дослідних зразків вимірювали за допомогою ваги квадрантної CHIRANA P3/200 та ваги торсійної ВТ-1г.

Визначення температурних параметрів здійснювали термопарним комплексом, який складається з 12 мідь-константових термопар з виведенням їх показників на вторинний прилад А-565-002-01 та хромель-алюмелевою термопарою з вторинним приладом Щ-4300.

Вилучення 3, 4-бенз(а)пірену з дослідних зразків копильного диму здійснювали за методикою, яка полягала в екстракції дослідних зразків диму метанолом, відгонці розчинника, фракціонуванні отриманого екстракту методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [11].

В основу цього методу було покладено розгляд спектрів флуоресценції розчину проби досліджуваного диму, взятого на виході з димогенератора, та стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену (еталон).

Для виявлення 3, 4-бенз(а)пірену використовували рідинний хроматограф LG-6A SHIMADZU. Ділення на фракції виконували за допомогою колонки ZORBAX C8 25,0см x 4,6мм. Мобільна фаза (елюент) – вода : метанол : ацетонітрил, приготований в об'ємному співвідношенні 35:35:30, відповідно.

Виявлення поліциклічних ароматичних вуглеводнів здійснювали за допомогою ультрафіолетового спектрофотометра SPD 6AV US-VIS рідинного хроматографа LG-6A SHIMADZU. Довжина хвилі виявлення 254 нм.

Цифрову обробку хроматограм проводили за допомогою інтегратора CHROMАТОРАК C-R3A.

Результати досліджень

Температуру в зоні тління тирси в димогенераторі на рівні від 450 °C до 500 °C встановили завдяки комплексу здійснених заходів:

- використанню зволоженої до 35,0±2,5% тирси, отриманої при мілкому подрібненні листяних порід дерев (вільхи, берези без кори, дуба, осики) та ялівцю;

- підтримуванню висоти шару тирси в зоні тління в діапазоні від 0,06 м до 0,08 м за одночасного механізованого розпушування шару з метою підвищення його пористості і, як наслідок, рівномірного розподілу по об'єму свіжого повітря, витрати якого на тління 1 кг тирси становили від 20 м³/кг до 40 м³/кг;

- очищенню генерованого диму від баластних компонентів (сажі та смоли) водоінерційним способом.

За наведених вище умов процесу генерації диму його параметри на виході з димогенератора становили: температура – від 40 °C до 45 °C, відносна вологість – від 82% до 85%.

На першому етапі досліджень методом вискоєфективної рідинної хроматографії було отримано хроматограму розділення стандартної суміші двох поліциклічних ароматичних

вуглеводнів концентрації 1 мкг/10мл: стандартного розчину поліциклічного ароматичного вуглеводню 3, 4-бенз(а)пірену та 1, 2-бенз(а)пірену, зображену на рисунку 1, які використовували у якості еталону для ідентифікації 3, 4-бенз(а)пірену в дослідних зразках генерованого диму. На цій хроматограмі зафіксовано діапазон часу появи 3, 4-бенз(а)пірену в пробі стандартного розчину. Цей час становив від 53 хвилин до 56 хвилин, а час виходу піку 3,4-бенз(а)пірену – 54,845 хвилини.

Хроматограма розділення на компоненти розчину дослідного зразка диму концентрації 1 г/5 мл з нанесенням 20 мкл зображена на рисунку 2.

На хроматограмі, представлений на рис. 3, у момент часу 55,07 хвилини також було зафіксовано вихід піку неідентифікованого хімічного елементу.

Для проведення процесу ідентифікації цього елементу з ПАВ 3, 4-бенз(а)піреном використовували флуоресцентний спектрофотометр HITACHI 850 з проточною кюветою, що послідовно з'єднана з ультрафіолетовим спектрофотометром SPD 6AV US-VIS рідинного хроматографа LG-6A SHIMADZU.

Виявлення 3, 4-бенз(а)пірену здійснювали з використанням характерної довжини хвиль: збуджування – 303 нм, випромінювання – 426 нм.

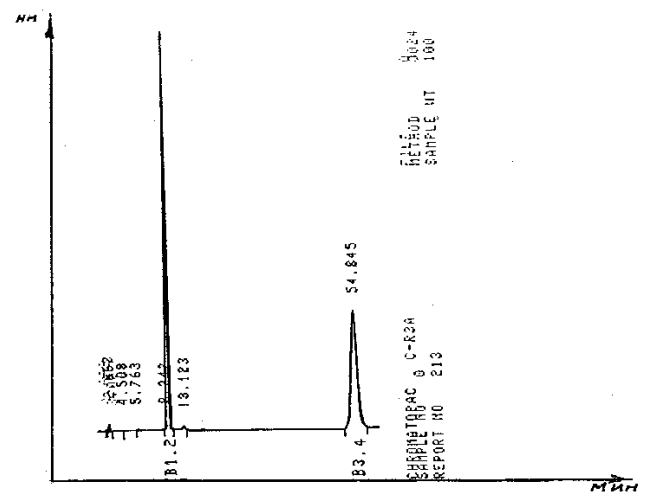


Рис. 1. Хроматограма розділення на компоненти стандартної суміші двох поліциклічних ароматичних вуглеводнів концентрації 1 мкг/10 мл

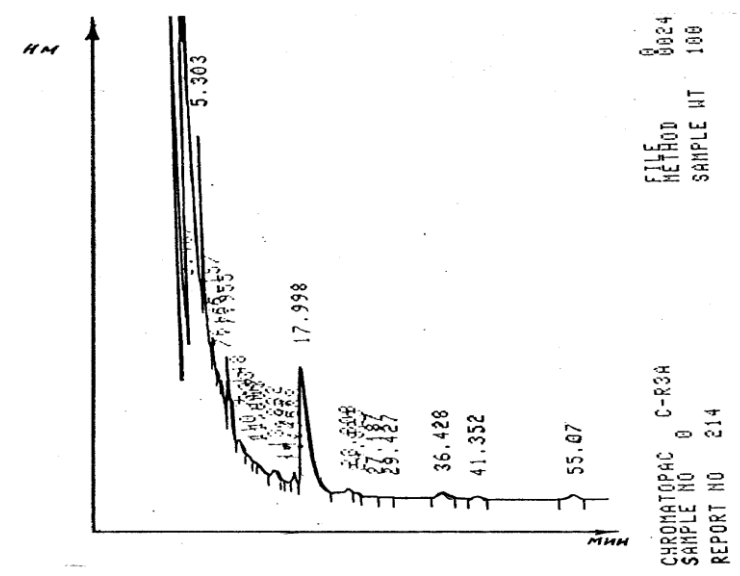


Рис. 2. Хроматограма розділення на компоненти розчину екстракту дослідного зразка диму концентрації 1 г/5 мл з нанесенням 20 мкл

Результати ідентифікації представлені хроматограмами на рисунках 3, 4, 5.

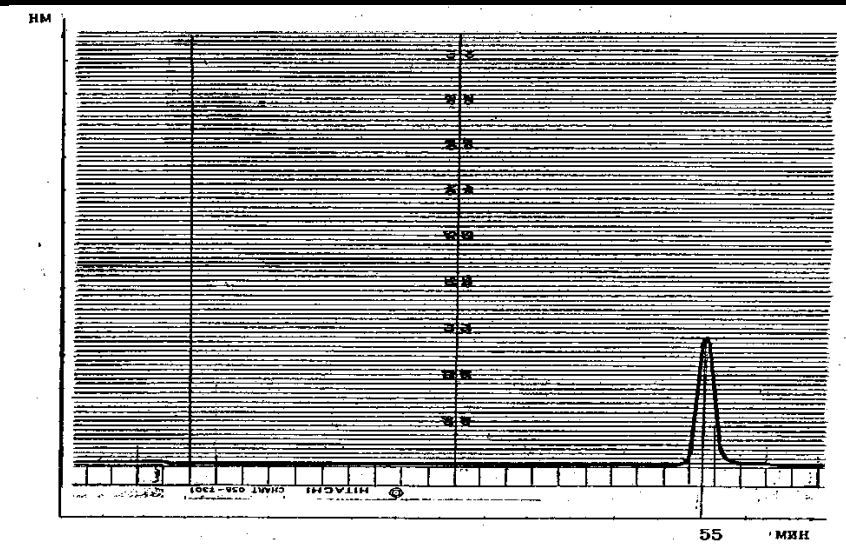


Рис. 3. Хроматограма стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену (еталон).

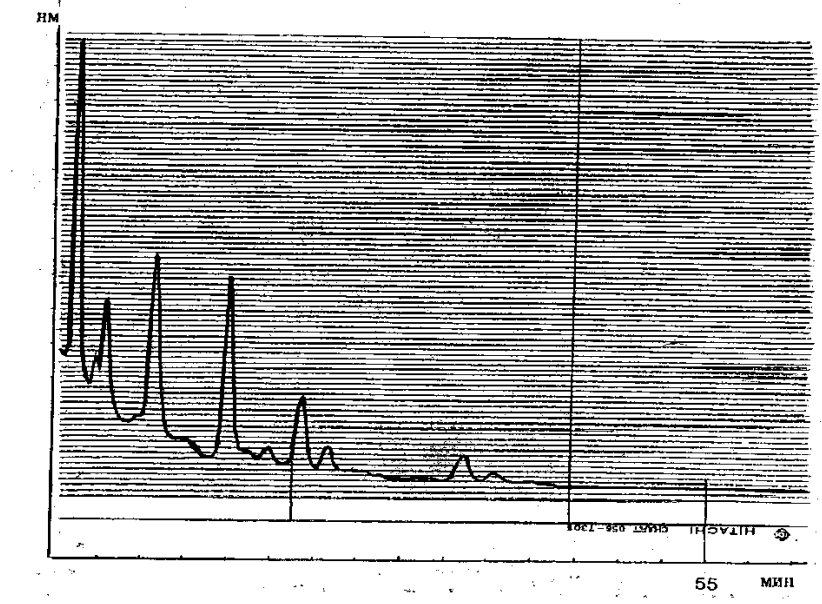


Рис. 4. Хроматограма розчину дослідного зразка диму, відібраного на виході з димогенератора.

При порівнянні спектрів флуоресценції стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену (еталон) та розчину проби досліджуваного диму, взятого на виході з димогенератора, встановлено:

- на хроматограмі стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену (рис. 3) зафіксовано час виходу його піку, який становив 55 хвилин;

- на хроматограмі розчину дослідного зразка диму, відібраного на виході з димогенератора (рис. 4), в характерний для виходу 3, 4-бенз(а)пірену момент часу – 55 хвилин, хроматограма має вигляд прямої лінії (без піку), що свідчить про відсутність цього канцерогену в димі.

Для підтвердження відсутності 3, 4-бенз(а)пірену в розчині дослідного зразка диму до його складу додавали у якості свідка 0,5 мкл стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену.

На рис 5 зображено хроматограму розчину дослідного зразка диму з внесенням у розчин у якості свідка 0,5 мкл стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену, на якій зафіксовано вихід піку в час, характерний для виходу піку стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену – 55 хвилин.

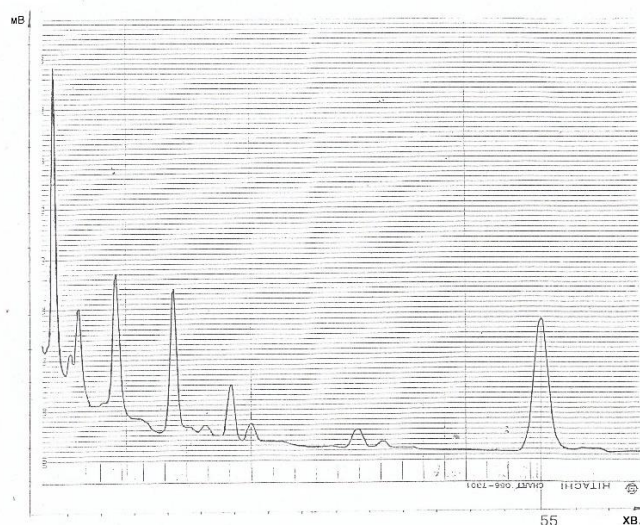


Рис. 5. Хроматограма розчину дослідного зразка диму з внесенням якості свідка 0,5 мкл стандартного розчину 3, 4-бенз(а)пірену

Результат цих досліджень є доказом відсутності 3, 4-бенз(а)пірену в дослідному зразку диму і відсутності прямого зв'язку між цим канцерогеном та неідентифікованим компонентом диму на рис. 2, пік виходу якого зафіксовано у момент часу 55,07 хв.

Додатково проведені дослідження з визначання наявності 3, 4-бенз(а)пірену в ковбасній оболонці, відокремленій від батона варено-копченої ковбаси «Московська», яку протягом 12 годин піддавали копченню димом, генерованим в димогенераторі Я5-ФКЕ в умовах постановки експерименту (рис. 6.).

З'ясовано, що сигнал хроматографічного детектора на 55 хвилині має вигляд прямої лінії. Відсутність піку на хроматограмі в характерний для виходу 3, 4-бенз(а)пірену час (55 хвилин) додатково підтверджує факт відсутності цієї бластоогенної речовини серед компонентів диму, який генерували за умовами постановки експерименту в промисловому зразку димогенератора марка Я5-ФКЕ в діапазоні температур від 450 °С до 500 °С.

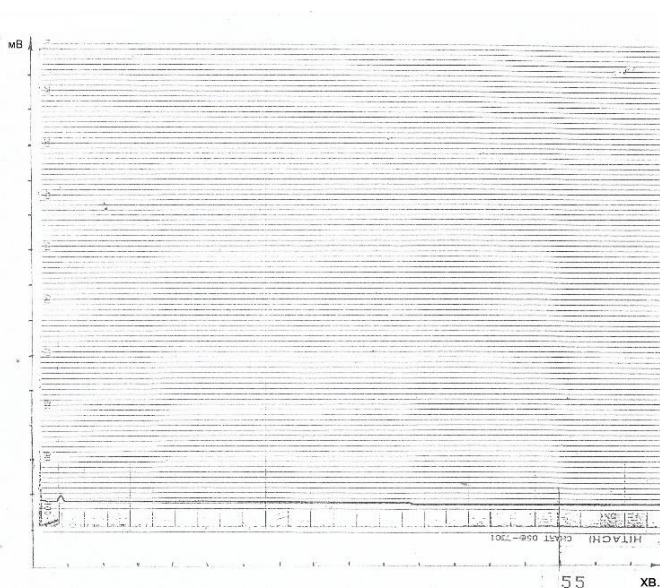


Рис. 6. Хроматограма розчину в метанолі дослідного зразка ковбасної оболонки з нанесенням його у кількості 2 мл

Згідно з вимогами Наказу МОЗ [6], контролю підлягають ПАВ, не менш канцерогенні ніж 3, 4-бенз(а)пирен: бенз(а)антрацен, бензо[б]флуорантен, сумарний максимальний рівень яких разом з бенз(а)піреном у копченому м'ясі і копченій м'ясній продукції має становити не більше ніж 12 мкг/кг. Враховуючи екологічні проблеми, що існують в Україні, доцільно було б, продовжити дослідження у напрямку визначення технологічних прийомів зі зниження регламентованих канцерогенних ПАВ у копченостях.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Доведено відсутність поліциклічного ароматичного вуглеводню 3, 4-бенз(а)пірену в копильному димі, генерованому в промислових умовах з тирси листяних порід дерев та ялівцю за температури в зоні генерації від 450 °C до 500 °C.

2. Умовами процесу генерації копильного диму за температури в зоні генерації в діапазоні від 450 °C до 500 °C є наступне: зволоження до 35,0±2,5 % тирси, виготовленої з подрібнених листяних порід дерев та ялівцю; забезпечення рівномірності розподілу свіжого повітря по об'єму зони генерації диму та витрат повітря на тління 1 кг тирси – 20÷40 м³/кг; очищення генерованого диму від баластних компонентів (сажі та смоли) водоінерційним способом.

3. Відсутність 3, 4-бенз(а)пірену в копильному димі, генерованому з твердих порід дерев та ялівцю за температури в зоні генерації від 450 °C до 500 °C, підтверджено тим, що цей канцероген не був виявлений у ковбасній оболонці варено-копченої ковбаси «Московська», яку за технологією піддавали копченню цим димом протягом 12 годин.

Встановлена доцільність продовження досліджень у напрямку визначення технологічних прийомів зі зниження в копчених продуктах канцерогенних ПАВ, регламентованих державними нормативними актами.

References

1. Kurko, V. I. (1969). *Khimiia kopcheniia* [Chemistry of smoking foods]. Moskva : Pishchevaia promyshlennost [in Russian].
2. European Food Safety Authority (2008). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question N° EFSA-Q-2007- 7. 136). *EFSA J.*, 724, 1–114.
3. European Union (2005). Commission regulation (EC) no. 208/2005 of 4 February 2005 amending Regulation (EC) no. 466/2001 as regards polycyclic aromatic hydrocarbons. Retrieved from

<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:034:0003:0005:EN:PDF>.

4. European Union (2006). Commission regulation (EC) no. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuff. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF>.

5. European Union (2011). Commission Regulation (EU) No. 835/2011 of 19 August 2011 amending regulation (EC) N 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:EN:PDF>.

6. Ministerstvo okhorony zdorovia Ukrainy (2013). Pro zatverdzhennia Derzhavnykh hiihienichnykh pravyl i norm "Rehlement maksymalnykh rivniv okremykh zabrudniuiuchykh rehovyn u kharchovykh produktakh" [About the statement of the State hygienic rules and norms "Regulation of the maximum levels of certain pollutants in food products"]. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0774-13> [in Ukrainian].

7. Kim, G. N., Kim, I. N. & Mezenova, O. Ya. (2005). Kantserogennyye veshchestva koptilnogo dyma i kopchenykh produktov [Carcinogenic substances of smoking medium and smoked products]. Kaliningrad : KGTU [in Russian].

8. Dikun, P. P. (1965). Soderzhaniie politsiklicheskikh uglevodorodov v produktakh piroliza drevesiny pri temperature 300–600°C [Polycyclic carbohydrates content in the products of woods pyrolysis by the temperature of 300–600°C]. *Sbornik rabot instituta onkologii* (pp. 48–54). Leningrad [in Russian].

9. Kulikovskii, A. V., Gorlov, I. F., Slozhenkina, M. I., Ivankin, A. M., Vostrikova, N. I. & Kuznetsova, O. A. (2017). Kompleksnaia otsenka soderzhaniia politsiklicheskikh aromaticheskikh uglevodorodov i osobennosti ikh nakopleniya v miasnoi produktsii [Complex estimation of polycyclic aromatic carbohydrates content and peculiarities of their deposition in meat products]. *Voprosy pitaniia*, 86 (6), 125–133 [in Russian].

10. Usatenko, N. F. & Korniienko, M. I. (2002). Patent Ukrainy 51988. Kyiv: Derzhavne patentne vidomstvo Ukrainy [in Ukrainian].

11. Dmitriyov, V. N., Larionov, A. G. & Nabivach, V. M. (1986). Analiz politsiklicheskikh aromaticheskikh uglevodorodov metodom vysokoeffektivnoi zhidkosnoi khromatografii [Analysis of polycyclic aromatic carbohydrates by the method of high efficiency liquid chromatography]. *Uspekhi khimii*, 2 (4), 679–700 [in Russian].