

УДК 637[07+14]

МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО ВИЗНАЧЕННЯ СОРБІНОВОЇ ТА БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТ У МОЛОЧНИХ ПРОДУКТАХ

Боднарчук О. В., к.т.н., зав.відділу,
Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції,
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ
ORCID ID: 0000-0002-9521-0662

Петров П. І., в.о.заст. зав.відділу,
Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції,
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ
ORCID ID: 0000-0002-0736-3547

Насирова Г. Ф., к.б.н., н.с.
Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції,
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ
ORCID ID: 0000-0003-4357-797X

Стасевська О. М., пров.фах.,
ORCID ID: 0000-0002-9521-0662
Відділ аналітичних досліджень та якості харчової продукції,
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ

<https://doi.org/10.31073/foodresources2019-12-03>

Хімічні консерванти належать до найважливіших харчових добавок. Їх додавання в сировину і готову продукцію попереджує псування харчових продуктів, знижує втрати, збільшує терміни придатності. Проте, незважаючи на те, що сорбінова та бензойна кислоти, з точки зору їх впливу на здоров'я людини, вважаються безпечними добавками, є відомості про їх шкідливість, особливо у разі використання у надмірній кількості. Починаючи з 2010 року, Європейське агентство з безпеки продуктів харчування розпочало масштабний проект з перегляду існуючих норм внесення дозволених харчових добавок, ця робота має бути завершена до 2020 року. Серед хімічних консервантів, у виробництві харчових молочних продуктів широко застосовують сорбінову (E200) та бензойну (E210) кислоти та їх солі (E211-219 та E201-209) – сорбаты та бензоати, відповідно. Враховуючи біохімічну багатокomпонентність сучасних молочних продуктів, вони є складним об'єктом для досліджень вмісту консервантів. В статті висвітлено існуючі підходи до визначення вмісту сорбінової та бензойної кислот в молочних продуктах. Проведений аналіз показав, що існує низка досліджень та нормативних документів щодо визначання вмісту бензойної та сорбінової кислот в таких молочних продуктах, як йогурти, сири, молочні напої тощо. Аналізування цих консервантів проводять різними методами, серед яких є вимірювання люменісценції, розділення речовин за допомогою паперової або тонкошарової хроматографії. Особливо широко використовують газорідинну хроматографію з мас-спектрометричним детектуванням та вискоефективну рідинну хроматографію зі зворотною фазою у поєднанні з діодноматричним детектуванням. Недостатній рутинний моніторинг з якості та безпечності молочних продуктів, а також збільшення частки фальсифікатів на ринку харчових продуктів України є нагальною передумовою розробки та валідації нових методик визначення вмісту консервантів.

Ключові слова: бензойна кислота, молочні продукти, консерванти, контроль якості, сорбінова кислота

METHODICAL APPROACHES TO DETERMINATION OF SORBIC AND BENZOIC ACID CONTENT IN DAIRY PRODUCTS

Bodnarchuk O., PhD, Head of Department,
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID ID: 0000-0002-9521-0662

Petrov P., Deputy Head of Department,
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID ID: 0000-0002-0736-3547

Nasyrova G., PhD, Researcher,
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID ID: 0000-0003-4357-797X

Stasevska O., Senior Specialist,
Department of Analytical Research and Food Quality,
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine
ORCID ID: 0000-0002-9521-0662

<https://doi.org/10.31073/foodresources2019-12-03>

Chemical preservatives are among the most important nutritional supplements. Their addition to raw materials and finished products prevents food spoilage, reduces losses, increases the shelf life. However, despite the fact that sorbic and benzoic acids are characterized as safe additives, there is information about their harmfulness, especially when used in excessive amounts. Excess quantities of any chemical preservatives can lead to increased toxicity of food products, allergic reactions, as well as an imbalance of active chemicals in the body. Beginning in 2010 the European Food Safety Authority has launched a major project to review permitted used food additives, which is scheduled to be completed in 2020. Among the chemical preservatives in the production of dairy products sorbic (E200) and benzoic (E210) acids and their salts (E211-219 and E201-209), sorbates and benzoates respectively, are widely used. Taking into account the complex biochemical matrix, various protein-fat compositions and other factors, dairy products are a complicated object for measurement of the preservatives' content. The article highlights existing approaches to determining the content of sorbic and benzoic acids in dairy products. The analysis showed that there are a number of research and regulatory documents on the study of the content of benzoic and sorbic acids in dairy products such as yoghurts, cheeses, milk drinks, etc. They are based on a variety of approaches, such as the definition of luminescence, separation using paper, thin-layer chromatography. Particular attention should be paid to the widespread use of gas chromatography with a combination of mass spectrometric detectors and high-performance liquid chromatography with a reverse phase in conjunction with diode-matrix detectors. Insufficient routine monitoring of the quality and safety of dairy products, as well as increasing the proportion of counterfeits on the Ukrainian food market, is an essential prerequisite for the development and validation of new methods for determining the content of preservatives.

Key words: *benzoic acid, dairy products, preservatives, quality control, sorbic acid*

Постановка проблеми. Хімічні консерванти належать до найважливіших харчових добавок. Завдяки їх бактерицидному та протигрибковому впливу, додавання консервантів у сировину і готову продукцію попереджує псування харчових продуктів, знижує втрати, збільшує терміни придатності. Також їх застосування дозволяє виготовляти вироби, які зберігають особливості, властиві свіжим продуктам, протягом досить тривалого часу. Введення занадто високої концентрації таких добавок може погіршувати якість продуктів внаслідок зміни рН, консистенції, смаку, запаху, кольору тощо. Водночас, недостатня концентрація консервантів не забезпечує збереження високої якості сировини і продукції [1].

В якості хімічних консервантів застосовують тільки малотоксичні речовини, додавання яких у харчові продукти у строго регламентованих кількостях не завдає організму людини шкоди. Проте ці речовини у надлишковій кількості можуть бути шкідливими для організму людини, призводити до різноманітних алергічних реакцій і тим підвищувати загальну небезпечність харчових продуктів. Серед хімічних консервантів у виробництві харчових молочних продуктів широко застосовуються сорбінова (E200) та бензойна (E210) кислоти та їх солі – л сорбати (E-201-209) та бензоати (E-211-219) [1].

В Україні використання харчових добавок, в тому числі і консервантів, регламентується Наказом Міністерства охорони здоров'я №222 від 23.07.96 «Про затвердження Санітарних правил і норм по застосуванню харчових добавок» [2]. Відповідно до цього наказу консерванти визначаються як речовини, які здатні збільшувати строк зберігання харчових продуктів шляхом захисту їх від мікробіологічного псування. Також, хімічні консерванти не повинні погіршувати органолептичні властивості продуктів, їх не дозволяється додавати в молоко, борошно, хліб, свіже м'ясо, спеціалізовані дієтичні продукти і продукти дитячого харчування, а також у вироби, які позначаються як «натуральні». Для консервування продуктів можна використовувати комбінації не більш ніж з двох хімічних консервантів. При цьому, сумарна концентрація консервантів у продукті не повинна перевищувати концентрацію того консерванту, який має меншу межу [2].

Окрім цього зазначається, що при виробництві сиру кисломолочного можна застосовувати не більше, ніж 500-2000 мг/кг сорбінової кислоти, а сметани 1000-2400 мг/кг цієї речовини. Вважається, що прийнятне добове споживанням (ПДС) для сорбінової кислоти дорівнює 5 мг/кг, для сорбатів (E200-209) – 25 мг/кг маси тіла. Летальна доза для сорбінової кислоти дорівнює 10000 мг/кг, для бензойної – 3000 мг/кг [1].

Актуальність досліджень вмісту бензойної та сорбінової кислот впливає з вищенаведеного, окрім того, є дослідження, що показують різний ступінь токсичності (алергенний, канцерогенний, мутагенний) цих речовин. Починаючи з 2010 року Європейське агентство з безпеки продуктів харчування розпочало масштабний проект з перегляду дозволених існуючих харчових добавок, що планується завершити у 2020 році. Варто зазначити, що сорбат натрію (E201) дозволений у США, але заборонений до використання в ЄС.

Сорбінова кислота діє за рН вище 6,0, а бензойна кислота - лише за рН нижче 5,0-6,0. Для цих сполук та їх солей був виявлений мутагенний ефект щодо клітин людського організму. Так, було встановлено, що сорбінова кислота здатна утворювати мутагенні сполуки з нітратами [3] і спричиняти мутагенний ефект на лімфоцити людини за концентрації 400-800 мкг/мл [4]. Сорбат калію (E202) мутагенно впливав на лімфоцити людини за концентрації 1000 мкг/мл [5], однак інші дослідники стверджують, що більш небезпечний у цьому сенсі сорбат натрію (E201), який легко окислюється і утворює 4,5-окогексеноат, якому властивий мутагенний ефект [6]. Для бензойної кислоти було показано, що її дія спрямована на інгібування реакцій метаболізму і накопичення токсичних аніонів всередині мікробіальної клітини [7]. Однак, для солей бензойної кислоти був показаний мутагенний та цитогенний ефект щодо лімфоцитів людини [8-9], а

також можливість вбудовування у ДНК тимусу за концентрації $4,5 \times 10^5$ моль/л [10]. Є також дані, що бензоат натрію (E211) може спричиняти гіперактивність у дітей, причому автори не виключають синергізм його дії з синтетичними барвниками і підкреслюють необхідність подальшого дослідження цього питання [11].

На надмірний вміст у харчових продуктах консервантів було вказано рядом дослідників у Португалії, Туреччині, Італії [12-14].

Наразі об'єктами досліджень переважно виступають соки, безалкогольні напої, фрукти та овочі, овочеві та фруктові консерви, проте роботи з визначення вмісту консервантів в молочних продуктах також ведуться. Дана група харчових продуктів є складним об'єктом для досліджень, враховуючи їх різноманітність у сенсі рівня рН, масової частки жиру, вуглеводів та білка, тощо. Зважаючи на те, що молочні продукти складають значну частину щоденного раціону людини, питання аналізу в них рівня застосованих бензойної та сорбінової кислот є надзвичайно актуальним.

Метою даної роботи був аналіз методичних підходів до визначення вмісту сорбінової та бензойної кислоти в молочних продуктах.

Результати досліджень. Загалом, для контролю консервантів дослідники застосовують різноманітні методи дослідження: спектрофотометричні, хроматографічні, полярографічні, титрометричні (табл.1).

Таблиця 1

Методи визначення вмісту сорбінової та бензойної кислот у харчових продуктах

Метод аналізу	Об'єкт дослідження	Джерело
Визначення інтенсивності люмінесценції	Соки та безалкогольні напої	Бельтюкова, 2010 [15], Теслюк, 2010 [16]
Газова хроматографія та мас-спектрометричне детектування	Сир, олія, маргарин та ін..	Gonzalez et al., 1999 [17]
	Сир, мармелад, джем, сік	Kakemoto M., 1991 [18]
	Знежирений йогурт, джеми, соуси, напої	Gonzalez et al., 1998 [19]
	Молоко, молочні продукти, напої та ін.	El-Ziney, 2009 [20]
Високоєфективна рідинна хроматографія зі зворотною фазою, діодноматричне детектування	Сири	Guarino et al, 2011 [21]
	Йогурти	Esfandiari et al, 2013 [22]
	Напої, маргарин, сік, йогурт, сир	Tfouni&Toledo, 2002 [23]
	Йогурти	Mihyar et al., 1999 [24]
Високоєфективна рідинна хроматографія зі зворотною фазою, детектування в ультрафіолетовому спектрі	Йогурти	Serrano et al., 1991 [25]
	Йогурти	Mroueh et al., 2008 [26]
	Сири, йогурти та ін.	Amirpourab et al., 2015 [27]
Капілярний електрофорез та його комбінування з іншими методами	Молочні напої, соєві соуси, фруктові джеми	Han et al., 2008 [28]
	Соєвий сир, соєвий соус	Kuo& Hsieh, 1997 [29]
	Соки, джеми, напої, сири	Pant& Trenerry, 1995 [30]

Використання титрометричних методів, що дозволяють виявляти бензойну кислоту після її екстракції діетиловим ефіром на рівні 0,06-0,15 мг/г, на сьогодні не знаходять широкого застосування. Більш поширеними довгий час були спектрофотометричні методики з рівнем виявлення 0,005 г/100 г. Втім, ці методики передбачають складне та тривале готування проби, а селективність їх невисока, оскільки спектри консервантів перекриваються зі спектрами інших органічних сполук [1].

Різні види люмінесцентного способу виявлення бензойної кислоти та її солей (сенсibilізована люмінесценція, хемолюмінісценція, сорбційна люмінесценція). мають майже ті самі недоліки: складність підготування проби, тривалий термін виконання, застосування небезпечних для здоров'я хімічних реактивів, хоча чутливість таких методів вища за спектрофотометричну [15-16].

Найбільш поширеними на сьогодні є хроматографічні методи, які дозволяють відділити консерванти (бензойну, сорбінову кислоту або їх солі) від інших компонентів харчових продуктів, точно їх ідентифікувати і кількісно визначити. Популярною є тонкошарова хроматографія на пластинах з різноманітними сорбентами (силикагель, поліамід та ін.) з наступною ідентифікацією сполук в УФ-області спектру. Втім, ці методи можна вважати напівкількісними. Навпівкількісне визначення консервантів можна також проводити методом паперової хроматографії, яка дозволяє визначення ці речовини від 10^{-4} моль/л [31]. Однак, застосування тонкошарової хроматографії високої роздільної здатності з автоматичним детектуванням дозволяє підвищити точність детектування бензойної та сорбінової кислот. Таку методику розроблено для визначення консервантів у мармеладі, соках, джемах.

Точними та надійними є методи визначення сорбінової та бензойної кислот за допомогою газовой-рідинної хроматографії (ГОСТ 30669-2000 [32] та ГОСТ 30670 [33]), але вони розроблені лише для плодоовочевої продукції і не поширюються на продукти, що мають високий вміст жирової фази. Наразі для визначення консервантів у високожирних продуктах розробляються методики з використанням газовой хроматографії з мас-спектрометричною детекцією, яка є більш чутливою у порівнянні з полум'яно-іонізаційною детекцією [17]. Автори дослідження не використовували дериватизації перед аналізом, проте даний підхід вимагав вилучення тригліцеридів з проби сумішшю розчинників. Цей метод був використаний для аналізу консервантів у твердих сичужних сирах з можливістю одночасного аналізу бензойної та сорбінової кислоти у сирі, чутливість методу досягає 200-500 нг [17, 18].

Також, поєднання газовой хроматографії та мас-спектрометрії дозволило встановити перевищення меж регламентованого вмісту консервантів в ряді харчових продуктів, у тому числі молочних [20], а використання в процесі готування проби твердофазної екстракції на стирол-дивинілбензолі з використанням потоку при рівні рН=1 суттєво підвищувало селективність аналізу [19].

Широкого використання наразі набуває аналіз сорбінової та бензойної кислот методом високоефективної рідинної хроматографії з оберненою фазою. У цьому методі передбачено попередню екстракцію консервантів або їх перегонку водяною парою. Для осадження білків при готуванні проби застосовують реактив Карреза з подальшим центрифугуванням і додатковим фільтруванням рядом елюентів.

В Україні є чинним ДСТУ 5050 [34] для визначення консервантів у йогуртах та морозиві, проте цей документ не охоплює весь спектр молочної продукції, на відміну від міжнародного стандарту IDF 139-2008 [35].

Було проведено ряд досліджень з визначення методом високоефективної рідинної хроматографії вмісту сорбінової та бензойної кислоти у низці твердих та м'яких сирів [21] та йогуртах [22, 24] з детектуванням консервантів за допомогою діодної матриці, а також з використанням спектрофотометричного детектору з вимірюванням в ультрафіолетовому спектрі [25-27].

Тривають дослідження в напрямку комбінування методів для визначення вмісту консервантів. Так, розроблено метод потокової попередньої обробки і визначення бензойної і сорбінової кислот в продуктах харчування з використанням 3-компонентної системи: електрокінетичної системи аналізу потоку, що складається з одного електроосмотичного насоса та п'яти електромагнітних клапанів, саморобного блоку для твердофазної екстракції та капілярного електрофорезу. За допомогою саморобного блоку

одночасно виконується екстракція консервантів зі зразків та їх розділення, а модифікація інтерфейсу потоку може зменшити витрату буфера для розділення (до 130 μ л для одного аналізу), що особливо важливо при використанні дорогих реактивів. Використання бромиду тетрабутиламонію (ТВАВ) в якості реагент- іонної пари дозволило поліпшити розділення консервантів на С8-зв'язаній колонці. Система була опрацьована на прикладі молочних напоїв, соєвого соусу та фруктових джему і показала свою ефективність. Даний підхід може бути зручним і недорогим засобом аналізу, здатним поліпшити швидкість аналізу зразків, підвищити аналітичну чутливість і селективність, проте потребує автоматизації процесу [28].

Загалом, використання капілярного електрофорезу повільно набирає обертів як рутинний метод аналізу, оскільки не має тих обмежень поглинання порівняно з високоефективною рідинною хроматографією. Було показано, що розділення речовин за допомогою капілярного електрофорезу та подальше детектування термооптичного поглинання при $\lambda=248$ нм дає кращий поділ та більш низькі межі виявлення бензойної і дегідроцетової кислот. Проте виявилось, що сорбінова кислота легко піддається фотоізомеризації при опроміненні на довжині хвилі 248 нм, що викликає зменшення чутливості даного методу. Автори зазначають, що реакція сорбінової кислоти з УФ-світлом може бути важливим фактором токсичності цієї речовини [36].

Використання капілярного електрофоретичного методу з багатохвильовим детектуванням, а також використання α -циклодекстрину і β -циклодекстрину дозволило одночасно аналізувати дев'ять консервантів у трьох різних харчових продуктах [29].

Результати іншого дослідження, у якому кількісне визначення вмісту бензойної та сорбінової кислот проводили методом міцелярного капілярного електрофорезу, показали його придатність для різних видів харчових продуктів. Кількість консервантів, визначених даним методом, узгоджується з результатами, отриманими за допомогою високоефективної рідинної хроматографії, що була використана для порівняння. Однак, новий підхід був більш швидким, ефективним і менш витратним. Метод міцелярного капілярного електрофорезу при використанні фталату як внутрішнього стандарту рекомендовано для скринінгу вмісту сорбінової, бензойної та дегідроцетової кислот у різноманітних напоях та молочних продуктах [30].

Висновки На сьогоднішній день існує низка нормативних документів, а також результати досліджень деяких вчених та експертів різних країн щодо використання різних методів з визначення вмісту бензойної та сорбінової кислот в таких молочних продуктах, як йогурти, сири, молочні напої тощо. В основі цих методів лежать різноманітні підходи, такі як аналіз спектрів поглинання або люмінесценції, розділення за допомогою різноманітних видів хроматографії (паперової, тонкошарової, газорідинної, рідинної) або форезу. Особливо слід виділити широке використання газової хроматографії у поєднанні з мас-спектрометричним детектуванням та високоефективної рідинної хроматографії зі зворотною фазою у поєднанні з діодно-матричним детектуванням. Водночас, існуюча тенденція до збільшення випадків фальсифікування на ринку харчових продуктів України, широке та часто безконтрольне використання різноманітних консервантів і їх сумішей без належного контролювання якості та безпечності, особливо для нових категорій молочних та комбінованих продуктів з більш різноманітним біохімічним складом, визначають необхідність проведення постійних рутинних моніторингових продуктів харчування, а також розроблення та валідації методик визначення вмісту різноманітних консервантів на основі сучасної апаратної бази з урахуванням особливостей підготовки проби, налаштування умов аналізу, обробки результатів та, з точки зору перспективи, можливостей автоматизації, пришвидшення часу аналізу та зменшення використання ресурсів.

Бібліографія

1. Бельтюкова С. В., Ливенцова Е. О. Консерванты в пищевой промышленности и методы их определения. *Харчова наука і технологія*. 2013. №. 3. С. 58–64.
2. Наказ Міністерства охорони здоров'я № 222 від 23.07.96 «Про затвердження Санітарних правил і норм по застосуванню харчових добавок».
3. Binstok G., Campos, C., Varela, O., & Gerschenson, L. N. Sorbate-nitrite reactions in meat products. *Food research international*. 1998. Vol. 31. №. 8. P.581–585.
4. Mamur S., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Aksoy, H. Genotoxicity of food preservative sodium sorbate in human lymphocytes in vitro. *Cytotechnology*. 2012. Vol. 64. №. 5. P. 553–562.
5. Mamur S. Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S. Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes?. *Toxicology in vitro*. 2010. Vol. 24. №. 3. P. 790–794.
6. Jung R. Cojocel, C., Müller, W., Böttger, D., Lück, E. Evaluation of the genotoxic potential of sorbic acid and potassium sorbate. *Food and chemical toxicology*. 1992. Vol. 30. №. 1. P. 1-7.
7. Brul S., Coote P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International journal of food microbiology*. 1999. Vol. 50. №. 1–2. P. 1–17.
8. Yılmaz S., Ünal F., Yüzbaşıoğlu D. The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. *Cytotechnology*. 2009. Vol. 60. №. 1–3. P. 55.
9. Zengin N., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology*. 2011. Vol. 49. №. 4. P. 763–769.
10. Zhang G., Ma Y. Spectroscopic studies on the interaction of sodium benzoate, a food preservative, with calf thymus DNA. *Food chemistry*. 2013. Vol. 141. №. 1. P. 41–47.
11. Beezhold B., Johnston C., Nocht K. Sodium benzoate-rich beverage consumption is associated with increased reporting of ADHD symptoms in college students: A pilot investigation. *Journal of attention disorders*. 2014. Vol. 18. №. 3. P. 236–241.
12. Lino C., Pena A. Occurrence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment. *Food chemistry*. 2010. Vol. 121. №. 2. P. 503–508.
13. Cakir R., Cagri-Mehmetoglu A. Sorbic and benzoic acid in non-preservative-added food products in Turkey. *Food Additives and Contaminants: Part B*. 2013. Vol. 6. №. 1. P. 47–54.
14. Ulca P., Atamer B., Keskin M., Senyuva H. Sorbate and benzoate in Turkish retail foodstuffs. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 2013. Vol. 6. №. 3. P. 209–213.
15. Бельтюкова С. В., Ливенцова Е. О., Теслюк О. И. Люминесцентное определение консерванта Е-210 в соках и безалкогольных напитках. *Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій*. 2010. №. 38 (2). С. 89–93.
16. Теслюк О. И., Бельтюкова С. В., Ливенцова Е. О. Люминесцентное определение сорбиновой кислоты в соках и безалкогольных напитках. *Методы и объекты химического анализа*. 2010. Т. 5. №. 1. С. 43–48.
17. González M., Gallego M., Valcárcel M. Gas chromatographic flow method for the preconcentration and simultaneous determination of antioxidant and preservative additives in fatty foods. *Journal of Chromatography A*. 1999. Vol. 848. №. 1–2. P. 529–536.
18. Kakemoto M. Simultaneous determination of sorbic acid, dehydroacetic acid and benzoic acid by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1992. Vol. 594. №. 1–2. P. 253–257.
19. Gonzalez M., Gallego M., Valcarcel M. Simultaneous gas chromatographic determination of food preservatives following solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 1998. Vol. 823. №. 1-2. P. 321–329.

20. El-Ziney M. GC-MS analysis of benzoate and sorbate in Saudi dairy and food products with estimation of daily exposure. *J Food Technol.* 2009. Vol. 7. №. 4. P. 127–34.
21. Guarino C., Fuselli, F., La Mantia, A., Longo, L. Development of an RP-HPLC method for the simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, natamycin and lysozyme in hard and pasta filata cheeses. *Food chemistry.* 2011. Vol. 127. №. 3. P. 1294–1299.
22. Esfandiari Z., Badiy M., Mahmoodian P., Sarhangpour R., Yazdani E., Mirlohi M. Simultaneous determination of sodium benzoate, potassium sorbate and natamycin content in Iranian yoghurt drink (Doogh) and the associated risk of their intake through Doogh consumption. *Iranian journal of public health.* 2013. Vol. 42. №. 8. P. 915.
23. Tfouni S., Toledo M. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. *Food control.* 2002. T. 13. №. 2. P. 117–123.
24. Mihyar G., Yousif A., Yamani M. I. Determination of benzoic and sorbic acids in labaneh by high-performance liquid chromatography. *Journal of food composition and analysis.* 1999. Vol. 12. №. 1. P. 53–61.
25. Serrano F., López I., Revilla G. High performance liquid chromatography determination of chemical preservatives in yogurt. *Journal of liquid chromatography.* 1991. Vol. 14. №. 4. P. 709–717.
26. Mroueh M., Issa D., Khawand J., Haraty B., Malek A., Kassaify Z., Toufeili I. Levels of benzoic and sorbic acid preservatives in commercially produced yoghurt in Lebanon. *Journal of Food Agriculture and Environment.* 2008. Vol. 6. №. 1. P. 62.
27. Amirpour M., Arman A., Yolmeh A., Akbari Azam M., Moradi-Khatoonabadi Z. Sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in food stuffs in Iran. *Food Additives & Contaminants: Part B.* 2015. Vol. 8. №. 2. P. 142–148.
28. Han F., He Y., Li L., Fu G., Xie H., Gan W. Determination of benzoic acid and sorbic acid in food products using electrokinetic flow analysis–ion pair solid phase extraction–capillary zone electrophoresis. *Analytica chimica acta.* 2008. Vol. 618. №. 1. P. 79–85.
29. Kuo K., Hsieh Y. Determination of preservatives in food products by cyclodextrin-modified capillary electrophoresis with multiwavelength detection. *Journal of Chromatography A.* 1997. Vol. 768. №. 2. P. 334–341.
30. Trenerry V. The determination of the sulphite content of some foods and beverages by capillary electrophoresis. *Food chemistry.* 1996. Vol. 55. №. 3. P. 299–303.
31. Беляева Л. Ю., Прохорова А. Ф., Беклемишев М. К. Определение бензоат-иона методом бумажной хроматографии с детектированием по ингибирующему действию в реакции фотосенсибилизированного автоокисления пирогаллола А. *Журнал аналитической химии.* 2010. Т. 65. №. 1. С. 66–72.
32. ГОСТ 30669-2000. Продукты переработки плодов и овощей. Газохроматографический метод определения содержания бензойной кислоты [действует от 01.01.2002]. Москва: ИПК Издательство стандартов, 2001. 8 с.
33. ГОСТ 30670-2000. Продукты переработки плодов и овощей. Газохроматографический метод определения содержания сорбиновой кислоты [действует с 01.01.2002]. Москва: ИПК Издательство стандартов, 2001. 8 с.
34. ДСТУ 5050:2008 Продукти харчові. Визначання підсолоджувачів, консервантів та кофеїну методом вискоєфективної рідинної хроматографії [чинний від 01.01.2010]. К.: ДП «УкрНДНЦ», 2008, 25 с.
35. ISO 9231:2008 (IDF 139:2008). Milk and milk products – Determination of the benzoic and sorbic acid contents. International Standard Organisation, 2008. 9 p.
36. Waldron K., Li J. Investigation of a pulsed-laser thermo-optical absorbance detector for the determination of food preservatives separated by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* 1996. Vol. 683. №. 1. P. 47–54.

References

1. Beltiukova S., Lyventsova E. (2013). Konservanty v pyshchevoi promyshlennosti y metody ikh opredeleniya [Preservatives in food industry and methods of their determination]. *Kharchova nauka i tekhnolohiia*, 3, 58-64 [In Russian].
2. Nakaz Ministerstva okhorony zdorovia № 222 vid 23.07.96 «Pro zatverdzhennia Sanitarnykh pravyl i norm po zastosuvanniu kharchovykh dobavok» [Order of the Ministry of Health No. 222 of 23.07.96 «On Approval of Sanitary Rules and Norms for the Use of Food Additives»] [In Ukrainian].
3. Binstok G., Campos C., Varela O., Gerschenson L. (1998). Sorbate-nitrite reactions in meat products. *Food research international*. 31(8). P. 581–585.
4. Mamur S., Yüzbaşıoğlu D., Ünal F., Aksoy H. (2012). Genotoxicity of food preservative sodium sorbate in human lymphocytes in vitro. *Cytotechnology*. 64(5). P.553–562.
5. Mamur S., Yüzbaşıoğlu D., Ünal F., Yılmaz S. (2010). Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes?. *Toxicology in vitro*. 24(3). P. 790–794.
6. Jung R., Cojocel C., Müller W., Böttger D., Lück E. (1992). Evaluation of the genotoxic potential of sorbic acid and potassium sorbate. *Food and chemical toxicology*. 30(1). P. 1–7.
7. Brul S., Coote P. (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International journal of food microbiology*. 50(1-2). P. 1–17.
8. Yılmaz S., Ünal F., Yüzbaşıoğlu D. (2009). The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. *Cytotechnology*. 60(1-3). P. 55.
9. Zengin N., Yüzbaşıoğlu D., Ünal F., Yılmaz S., Aksoy H. (2011). The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology*. 49(4). P. 763–769.
10. Zhang, G., Ma, Y. (2013). Spectroscopic studies on the interaction of sodium benzoate, a food preservative, with calf thymus DNA. *Food chemistry*. 141(1). P. 41–47.
11. Beezhold B., Johnston C., Nocht K. (2014). Sodium benzoate-rich beverage consumption is associated with increased reporting of ADHD symptoms in college students: A pilot investigation. *Journal of attention disorders*. 18(3). P. 236–241.
12. Lino C., Pena A. (2010). Occurrence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment. *Food chemistry*. 121(2). P.503-508.
13. Cakir R., Cagri-Mehmetoglu A. (2013). Sorbic and benzoic acid in non-preservative-added food products in Turkey. *Food Additives and Contaminants: Part B*. 6(1). P. 47–54.
14. Ulca P., Atamer B., Keskin M., Senyuva H. (2013). Sorbate and benzoate in Turkish retail foodstuffs. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 6(3), P. 209–213.
15. Beltiukova S., Lyventsova E., Tesliuk O. (2010). Liymynestsentnoe opredelenye konservanta E-210 v sokakh y bezalkoholnykh napytkakh [Luminescent determination of E-210 preservative in juices and soft drinks]. *Naukovi pratsi [Odeskoi natsionalnoi akademii kharchovykh tekhnolohii]*. 38 (2). P. 89–93. [In Russian].
16. Tesliuk O., Beltiukova V., Lyventsova E. (2010). Liymynestsentnoe opredelenye sorbyynovoi kysloty v sokakh y bezalkoholnykh napytkakh [Luminescent determination of sorbic acid in juices and soft drinks]. *Metody y obekty khymycheskoho analyza*. 5(1), P. 43–48.
17. González M., Gallego M., Valcárcel M. (1999). Gas chromatographic flow method for the preconcentration and simultaneous determination of antioxidant and preservative additives in fatty foods. *Journal of Chromatography A*. 848(1-2). P. 529–536.
18. Kakemoto M. (1992). Simultaneous determination of sorbic acid, dehydroacetic acid and benzoic acid by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 594(1–2), P. 253–257.
19. Gonzalez M., Gallego M., Valcarcel M. (1998). Simultaneous gas chromatographic determination of food preservatives following solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 823(1–2), P. 321–329.
20. El-Ziney M. (2009). GC-MS analysis of benzoate and sorbate in saudi dairy and food products with estimation of daily exposure. *J Food Technol*. 7(4), P. 127–134.

21. Guarino C., Fuselli F., La Mantia A., Longo L. (2011). Development of an RP-HPLC method for the simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, natamycin and lysozyme in hard and pasta filata cheeses. *Food chemistry*. 127(3). P. 1294–1299.
22. Esfandiari Z., Badiey M., Mahmoodian P., Sarhangpour R., Yazdani E., Mirlohi M. (2013). Simultaneous determination of sodium benzoate, potassium sorbate and natamycin content in Iranian yoghurt drink (Doogh) and the associated risk of their intake through Doogh consumption. *Iranian journal of public health*. 42(8). P. 915.
23. Tfouni S., Toledo M. (2002). Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. *Food control*, 13(2), P. 117–123.
24. Mihyar G., Yousif A., Yamani M. I. (1999). Determination of benzoic and sorbic acids in labaneh by high-performance liquid chromatography. *Journal of food composition and analysis*. 12(1), P. 53–61.
25. Serrano F., López I., Revilla G. (1991). High performance liquid chromatography determination of chemical preservatives in yogurt. *Journal of liquid chromatography*. 14(4). P. 709–717.
26. Mroueh M., Issa D., Khawand J., Haraty B., Malek A., Kassaify Z., Toufeili, I. (2008). Levels of benzoic and sorbic acid preservatives in commercially produced yoghurt in Lebanon. *Journal Of Food Agriculture And Environment*. 6(1), 62.
27. Amirpour M., Arman A., Yolmeh A., Akbari Azam M., Moradi-Khatoonabadi Z. (2015). Sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in food stuffs in Iran. *Food Additives & Contaminants: Part B*.8(2). P. 142–148.
28. Han F., He Y., Li L., Fu G., Xie H., Gan W. E. (2008). Determination of benzoic acid and sorbic acid in food products using electrokinetic flow analysis-ion pair solid phase extraction-capillary zone electrophoresis. *Analytica chimica acta*.618(1), P. 79–85.
29. Kuo K., Hsieh Y. (1997). Determination of preservatives in food products by cyclodextrin-modified capillary electrophoresis with multiwavelength detection. *Journal of Chromatography A*. 768(2). P. 334–341.
30. Trenerry V. (1996). The determination of the sulphite content of some foods and beverages by capillary electrophoresis. *Food chemistry*, 55(3), 299–303.
31. Beliaeva L., Prokhorova A., Beklemishev M. (2010). Opređenje benzoat-iona metodom bumazhnoi khromatografii s detektirovaniem po ingibiruiushchemu deistviu v reakcii fotosensibilizirovannogo avtookisleniia pirogallola [Determination of benzoate-ion by paper chromatography with detection of the inhibitory effect in the reaction of photosensitized auto-oxidation of pyrogallol] *Zhurnal analiticheskoi khimii [Journal of Analytical Chemistry]* T. 65. №. 1. P. 66–72.
32. GOST 30669-2000. Produkty pererabotki plodov i ovoshhej. Gazohromatograficheskij metod opredelenija sodержaniija benzojnoj kisloty [Products of processing fruits and vegetables. Gas chromatographic method for the determination of benzoic acid]. Izdatelstvo standartov [Standards Publishing]. Moscow. 2001.
33. GOST 30670-2000. Produkty pererabotki plodov i ovoshchei. Gazokhromato-graficheskii metod opredeleniia sodержaniia sorbinovoi kisloty [Products of processing fruits and vegetables. Gas chromatographic method for determining the content of sorbic acid]. Izdatelstvo standartov [Standards Publishing]. Moscow. 2001.
34. DSTU 5050:2008 Produkty kharchovi. Vyznachannia pidsolodzhuvachiv, konservantiv ta kofeinu metodom vysokoefektyvnoi ridynnoi khromatografii [Food products. Determination of sweeteners, preservatives and caffeine by high performance liquid chromatography]. K.: DP «UkrNDNTs», 2008.
35. ISO 9231:2008 (IDF 139:2008). Milk and milk products – Determination of the benzoic and sorbic acid contents. International Standar Organisation, 2008.
36. Waldron K., Li J. (1996). Investigation of a pulsed-laser thermo-optical absorbance detector for the determination of food preservatives separated by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 683(1) P. 47–54.