

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕОБРОМИНА В ТЕМНОМ ШОКОЛАДЕ

Я.И. Коренман¹, Н.Я. Мокшина², О.А. Кривошеева¹

¹Воронежский государственный университет инженерных технологий,
кафедра физической и аналитической химии
394036 Воронеж, пр. Революции, 19

²Военный авиационный инженерный университет,
кафедра физики и химии
394064 Воронеж, ул. Старых большевиков, 54 а
moksнад@mail.ru

Поступила в редакцию 4 июня 2012 г.

Разработана методика определения теобромина в темном шоколаде для установления его подлинности и качества. Теобромин предварительно извлекают из водных вытяжек шоколада с применением сольватропного реагента, при этом значительно повышается степень извлечения теобромина, затем экстракт анализируют методом спектрофотометрии.

Ключевые слова: шоколад, теобромин, экстракция, спектрофотометрия.

Коренман Яков Израильевич – заслуженный деятель науки и техники РФ, доктор химических наук, профессор кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий.

Область научных интересов – экстракция и сорбция органических соединений, физико-химические методы анализа концентратов.

Опубликовано более 2500 научных работ, в том числе 170 патентов.

Мокшина Надежда Яковлевна – доктор химических наук, профессор кафедры физики и химии Воронежского военного авиационного инженерного университета.

Область научных интересов – экстракция биологически активных веществ и физико-химические методы их определения.

Опубликовано около 300 научных работ и 12 патентов.

Кривошеева Олеся Александровна – аспирант второго года обучения кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий.

Область научных интересов – экстракция пуриновых алкалоидов и разработка способов их количественного определения в пищевых продуктах и фармацевтических препаратах.

Опубликованы две статьи, получены положительные решения по трем заявкам в Роспатент.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время значительно расширился выбор шоколадных изделий и одновременно участились дискуссии о том, вреден ли шоколад или полезен. Диетологи утверждают, что высокое содержание растительных жиров и углеводов в шоколаде приводит к излишнему весу потребителя, аллергическим реакциям. С другой стороны, доказано, что шоколад обладает выраженным тонизирующим действием, вследствие содержания в его составе теобромина – соединения из группы метилксантинов (аналог кофеина). Теобромин относится к психостимуляторам, снижает чувство усталости, повышает психомоторную активность, физическую и умственную работоспособность [1].

Содержание теобромина в какао-бобах колеблется от 1 до 3 %. В шоколаде его содержание

меньше – в среднем около 0.4 % (то есть 4000 мг на 1 кг продукта). Чем большее количество какао-продуктов используется при производстве шоколада, тем выше в нем содержание теобромина. Этот алкалоид содержится только в темном и молочном шоколаде, поскольку белый шоколад производят без добавления какао-массы. Если в темном шоколаде теобромин не обнаруживается, значит, его готовили на заменителях.

К приоритетным аналитическим задачам относится разработка новых легко выполнимых методов определения биологически активных веществ в пищевых продуктах, в частности, кондитерских изделиях. Данные методики характеризуются низкими пределами обнаружения, экспрессностью и применимы для серийных анализов.

Известно определение алкалоидов методом ВЭЖХ [2], однако оно связано с использованием

сложного и дорогостоящего оборудования, привлечением специально обученного персонала. Несмотря на многочисленные сведения о хроматографических методиках определения органических веществ, «жидкостная экстракция продолжает занимать лидирующее положение среди методов разделения и концентрирования» [3]. Такие задачи могут быть решены с применением жидкостной экстракции и последующим анализом экстракта.

Цель данного исследования состоит в изучении возможности количественного определения теобромина в темном шоколаде с применением экстракционного извлечения аналита (более 90 %) и последующего анализа экстракта методом УФ-спектрофотометрии.

До середины 80-х годов XX века в качестве экстрагентов из водных сред применяли только гидрофобные растворители по причине их низкой растворимости в воде: спирты ($C_6 - C_{10}$), ароматические и алифатические углеводороды, их галоген- и нитропроизводные, а также их бинарные смеси [4].

Начиная с 90-х годов XX века все больше работ по экстракции органических соединений из водных сред проводится с применением гидрофильных растворителей [4]. В этих системах образование органической фазы происходит при насыщении анализируемого водного раствора неорганической солью. Высаливание – распространенный прием повышения количественных характеристик экстракции [5]. Соли снижают растворимость гидрофильных экстрагентов в воде, в результате образуется органическая фаза. Кроме того, в присутствии высаливателя возрастают коэффициенты распределения и степень извлечения определяемого вещества. При этом отсутствует стадия реэкстракции, что делает анализ более экспрессным и снижает общую погрешность определения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Навеску темного шоколада (~20 г) помещали в химический стакан, добавляли 200 см³ дистиллированной воды и тщательно перемешивали при нагревании на водяной бане (90 °С). Появляющуюся суспензию отфильтровывали через бумажный

фильтр, при этом образовывалась гомогенная система светло-коричневого цвета.

В пробирку для экстракции отбирали 10 см³ водной пробы, содержащей теобромин, добавляли сульфат аммония практически до насыщения (~38 % мас.) и 1 см³ раствора камфоры в этилацетате (10 % мас.). Экстрагировали на вибросмесителе 7–10 мин до установления межфазного равновесия и оставляли на 3–5 мин для расслаивания системы; органическую фазу отделяли от водной, 1 см³ экстракта разбавляли в 25 раз дистиллированной водой.

Экстракт анализировали на УФ-спектрофотометре SHIMADZU UV MINI-1240 в кварцевой кювете, толщина светопоглощающего слоя 1 см, длина волны 272 нм. По градуировочному графику $y = 0.636x + 0.025$, построенному в координатах «Оптическая плотность – Концентрация раствора теобромина», находили концентрацию теобромина в экстракте.

Содержание теобромина (Q , г/кг продукта) рассчитывали по формуле [6]:

$$Q = \frac{1,03 \cdot 250 \cdot A}{800} \cdot 179,19$$

где 1.03 – коэффициент, учитывающий потери теобромина при экстракции; 250 – кратность разбавления экстракта дистиллированной водой; A – оптическая плотность раствора теобромина; 800 – молярный коэффициент светопоглощения (установлен по градуировочному графику с погрешностью не более 2 %); 179.19 – молярная масса теобромина, г/моль.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучена экстракция теобромина из водных сред растворами камфоры в этилацетате с массовой долей 10 %. Коэффициенты распределения и степень извлечения теобромина вычисляли по известным уравнениям [4]. В табл. 1 приведены метрологические характеристики определения теобромина в водных растворах по предлагаемой методике [7].

Известно применение этилацетата для экстракции алкалоидов из природных объектов (кофейных зерен, какао-бобов, орехов кола и

Таблица 1

Метрологические характеристики определения теобромина в водных растворах; $n = 3$, $P = 0.95$

Введено, мг	Найдено, мг (\bar{x})	S	$\Delta\bar{x} = \frac{t_{p,f} \cdot S}{\sqrt{n}}$	$\bar{x} \pm \frac{t_{p,f} \cdot S}{\sqrt{n}}$
5.00	4.95	0.02	0.05	4.95 ± 0.05
5.00	4.97	0.02	0.05	4.97 ± 0.05
50.00	49.80	0.15	0.37	49.80 ± 0.37
50.00	49.79	0.11	0.27	49.79 ± 0.27

Примечание: \bar{x} – среднее найденное значение содержания теобромина; S – стандартное отклонение; $\Delta\bar{x}$ – доверительный интервал; $t_{p,f}$ – распределение Стьюдента; f – число степеней свободы ($f = n - 1$).

Таблица 2

Степень извлечения теобромина этилацетатом в присутствии камфоры: $n = 3$, $P = 0.95$

Камфора, % мас.	R, %	Камфора, % мас.	R, %	Камфора, % мас.	R, %	Камфора, % мас.	R, %
0	85.3	3	86.6	6	92.3	9	96.3
1	85.6	4	88.5	7	94.6	10	97.0
2	86.1	5	91.3	8	95.8	11	97.1

Таблица 3

Определение теобромина (мг/кг) в темном шоколаде: $n = 3$, $P = 0.95$

Содержание теобромина	Марка шоколада					
	«Бабаевский»	«Российский»	«Alpen gold» темный	«Коркунов»	«Победа»	«Lindt»
Заявлено по содержанию какао-порошка	2832	1760	1600	2200	2880	2800
Установлено экспериментально	2736 ± 25	1700 ± 20	1328 ± 32	2189 ± 19	2860 ± 15	2636 ± 17

др.) [8]. Однако степень извлечения при этом не превышает 85 %. Камфора – известный сольвотропный реагент, применяемый для повышения количественных характеристик экстракции [9]. Сольвотропные вещества практически нерастворимы в воде, введение их в экстракционную систему значительно повышает степень извлечения органических веществ разных классов.

При введении камфоры в этилацетат степень извлечения теобромина достигает 97.1 %. С возрастанием содержания камфоры (>10 %) в этилацетате степень извлечения остается на прежнем уровне (табл. 2).

Проанализированы следующие сорта темного шоколада: «Бабаевский» (ОАО «Кондитерский концерн Бабаевский», Москва), «Российский» (кондитерская фабрика «Россия», Москва), Alpen Gold темный («Kraft Foods», филиал в Москве), «Коркунов» (кондитерская фабрика «А.Коркунов», Москва), «Победа» (ООО «Кондитерская фабрика «Победа», Московская обл., Егорьевский р-н, Клеменеве), «Lindt» (ООО «Ван Мелле», Москва).

В табл. 3 приведено содержание теобромина в темных сортах шоколада при пересчете общего количества какао-продуктов на массу теобромина, а также полученные нами по разработанной методике экспериментальные данные. Например, в темном шоколаде Alpen gold производителем заявлено 40 % какао-продуктов, при пересчете на массу теобромина в кг продукта получаем:

$$0.40 \times 0.004 \times 1000 = 1.600 \text{ г/кг}$$

где 0.40 – доля какао-продуктов в шоколаде, 0.004 – доля теобромина в какао-продуктах.

Результаты анализа шоколада «Бабаевский», «Российский», «Победа» и «Lindt» свидетельствуют о их подлинности и высоком качестве. Различия в заявленном и установленном нами

содержании теобромина в этих сортах шоколада находятся в пределах относительной погрешности (3–5 %). Сравнительно низкое содержание теобромина в шоколаде Alpen gold указывает на применение какао-заменителей в производстве этого продукта.

Методика спектрофотометрического определения теобромина в темном шоколаде с предварительным экстракционным извлечением целевого продукта экспрессна (продолжительность анализа в пределах 50 мин), легко выполняема, надежна.

ЛИТЕРАТУРА

- Беликов В. Г. Фармацевтическая химия: в двух томах. Пятигорск: Пятигорск. фарм. акад., 1996. Т. 2. 608 с.
- Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии / [Под ред. А. М. Хеншена]. М.: Мир, 1988. 688 с.
- Золотов Ю.А. Разделение и концентрирование в химическом анализе // Рос. хим. журн. 2005. Т. 49, № 2. С. 6-10.
- Мокшина Н.Я. Экстракция и определение ароматических α-аминокислот и водорастворимых витаминов – закономерности и новые аналитические решения. Дис. ... докт. хим. наук. Краснодар: Кубан. гос. ун-т, 2007. 328 с.
- Shaopu L., Zhuyuan Z., Honggun L. Spectrophotometric determination of vitamin B₁₂ in a pharmaceutical formulation using triphenylmethane acid dyes // J. Pharm. and Biomed. Anal. 2002. №3. P. 685-694.
- Основы аналитической химии. Практическое руководство / [Под ред. Ю.А. Золотова]. М.: Высш. шк., 2001. 464 с.

7. Ю.А. Золотов. Основы аналитической химии. Методы химического анализа. Т. 2. М.: Высшая школа, 2002. 489 с.

8. Новый справочник химика и технолога. Основные свойства неорганических, органических и элементоорганических соединений / [Под ред.

Н.К. Скворцова]. СПб.: АНО НПО «Мир и Семья», 2002. 1276 с.

9. Суханов П.Т. Экстракция нафтолов – новые решения и применение в анализе. Дис. ... докт.хим. наук. Саратов: Саратов. гос. ун-т, 2007. 385 с.

THEOBROMINE DETERMINATION IN DARK CHOCOLATE

Ya.I. Korenman¹, N.Ya. Mokshina², O.A. Krivosheeva¹

*¹Voronezh State University of Engineering Technology
chair of physical and analytical chemistry
394036 Voronezh, 19, pr. Revolutisii*

*²Air force engineering university
physics and chemistry chair
394064 Voronezh, 54 A, Staryh Bolsheviks str.
moksnad@mail.ru*

The method of theobromine determination in dark chocolate is developed for establishment of its authenticity and quality. Theobromine is extracted previously from the water extracts of chocolate with solvotropic reagent; the degree of theobromine extraction is increased significantly. Then the extract is analyzed by spectrophotometry.

Keywords: chocolate, theobromine, extraction, spectrophotometry.