

ОТЗЫВ

дополнительного члена Диссертационного Совета на диссертацию **Николаевой Алёны Андреевны** на тему: «**Определение хинина и индигокармина в продукции пищевой и фармацевтической промышленности методом флуориметрии**», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Актуальность работы.

Пищевые добавки в пищевой и фармацевтической промышленности используются для придания продуктам более аппетитного вида, вкуса и запаха. Изначально в качестве добавок использовались естественные компоненты, изготовленные из натурального сырья. С развитием химической промышленности пищевые добавки стали производиться искусственным путём. Главным принципом использования пищевых добавок является «безвредность», под этим понимается отсутствие токсических, канцерогенных и мутагенных свойств. Однако некоторые виды пищевых добавок могут оказывать крайне негативное влияние на организм человека, они способны вызывать расстройство желудка и кишечника, воздействовать на артериальное давление, вызывать изменение кожных покровов (сыпь). Поэтому возникает необходимость контролировать их содержание в пищевых продуктах. В работе исследовались люминесцентные свойства двух пищевых добавок – это вкусоароматическая добавка «хинин» и синтетический пищевой краситель «индигокармин (E132)» Добавки этих красителей чаще всего встречаются в производстве продуктов питания и лекарственных препаратах. Флуориметрические методы привлекательны за счет распространенности применения в современных испытательных лабораториях и центрах, поэтому поставленные в диссертационной работе **Николаевой А. А.** задачи научных исследований являются актуальными.

Целью данной работы было исследовать люминесцентные свойства хинина и индигокармина с целью разработки методик их количественного определения в продукции пищевой и фармацевтической промышленности.

Объем и структура диссертации

Во введении обоснована актуальность исследования, обозначена цель работы, сформулированы задачи исследования, отражена научная и практическая значимость исследований.

В первой главе (литературный обзор) описаны известные методы пробоподготовки продукции пищевой и фармацевтической промышленности и методы определения синтетических пищевых красителей, включая отдельные работы по определению красителя индигокармина и вкусоароматической добавки хинина.

Из обзора литературных данных установлены проблемы определения исследуемых пищевых добавок различными методами анализа (спектрофотометрические, электрохимические, хроматографические). Это, прежде всего, влияние матрицы пробы на результат определения хинина и индигокармина в различных объектах. Показано, что для этих целей используют сорбционные или экстракционные методы отделения матрицы пробы от аналита.

Вторая глава посвящена характеристике объектов исследования пищевых добавок хинина и индигокармина. Описано основное оборудование и методика проведения экспериментальных измерений. Исследования проводились на анализаторе жидкости «Флюорат-02-Панорама» (производитель ООО «Люмэкс-маркетинг», г. Санкт-Петербург).

Третья глава посвящена исследованию люминесцентных свойств пищевой вкусоароматической добавки хинина с целью разработки флуориметрической методики его определения. Проведены исследования по выбору рабочих условий определения хинина в модельных средах методом флуориметрии. Исследовано мешающее влияние компонентов матрицы пищевых продуктов и фармацевтических препаратов на сигнал люминесценции хинина

Экспериментально установлено, что все красители, в том числе и индигокармин, в той или иной мере гасят люминесценцию хинина. При интенсивном окрашивании исследуемого раствора, часть энергии возбуждения тратится на поглощение цветным раствором, то есть происходит перепоглощение энергии возбуждения и люминесценции хинина. Диссертантом найдено решение этой проблемы: для того, чтобы избавиться от мешающего влияния красителей при флуориметрическом определении хинина, необходимо разбавить исследуемый раствор до достижения им практически бесцветного оттенка.

Разработана методика количественного определения хинина в пищевых продуктах и лекарственных препаратах в растворах 0,01M H₂SO₄ в диапазоне концентраций от 0,10 до 1,00 мг/дм³ методом флуориметрии без удаления матрицы пробы. Оценка правильности результатов разработанной флуориметрической методики определения хинина проводилась путем сравнения с данными, полученными спектрофлуоресцентным методом анализа. Диссертантом получены удовлетворительные результаты: погрешность определения содержаний хинина в диапазоне низких концентраций (0,1 ÷ 0,4 мг/дм³) составляет 23%. Предел обнаружения хинина в 0,01 М растворе серной кислоты флуориметрической методом в лекарствах и напитках составил 0,0012 мг/дм³. Разработанная методика является адекватной и может быть использована в рутинной практической деятельности для контроля качества лекарственных препаратов и пищевых продуктов.

В четвертой главе приведены исследования люминесцентных свойств синтетического пищевого красителя индигокармина (ИК, E132) в растворах щелочи. Сам краситель E132 в водном растворе не люминесцирует, но обнаружена люминесценция лейкосоединения индигокармина в щелочи, что и явилось идеей определения синтетического красителя индигокармина в пищевых продуктах и фармацевтических препаратах методом флуориметрии.

Выбраны рабочие условия регистрации сигнала люминесценции лейкосоединения индигокармина: длина волны возбуждения 270 нм, длина волны люминесценции 410 нм. Из синхронного режима сканирования установлена оптимальная длина волны возбуждения (270 нм), при которой наблюдается наиболее интенсивная люминесценция лейкосоединения индигокармина на длине волны 410 нм.

Выбрана оптимальная концентрация щелочи NaOH (1,00 М), при которой наблюдается наибольшая интенсивность сигнала люминесценции лейкосоединения индигокармина на длине волны 410 нм.

Для увеличения чувствительности и точности определения красителя индигокармина в исследуемых объектах подбирали параметры люминесценции: время задержки и длительности сигнала. Для установления вида процесса люминесценции индигокармина в 1М NaOH строили зависимость интенсивности сигнала люминесценции от времени сигнала.

Для индигокармина (Е132) в 1,00 М растворе NaOH время жизни составило $10,0 \cdot 10^{-7}$ с. Из расчетов можно сделать вывод о том, что для лейкосоединения синтетического пищевого красителя индигокармина в 1,00 М NaOH характерен процесс флуоресценции.

Были проведены исследование по изучению мешающего влияния сопутствующих компонентов матрицы объектов пищевой и фармацевтической промышленности на сигнал люминесценции индигокармина. Было установлено, что наличие синих красителей в растворе тушит люминесценцию лейкосоединения индигокармина, что оказывает мешающее влияние на его флуориметрическое определение. Как и в случае с хинином, данная проблема решена с помощью разбавления исходного раствора до обесцвечивания.

На основании проведенных исследований была разработана методика количественного определения индигокармина в исследуемых объектах в диапазоне концентраций от 0,10 до 1,00 мг/дм³ без отделения от матрицы пробы.

Оценка правильности результатов разрабатываемой флуориметрической методики устанавливалась с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием на 610 нм. Среднее время удерживания составило 5,101 мин. Для метода сравнения строили градуировочную зависимость площади пика от концентрации водного раствора красителя индигокармина в диапазоне концентраций от 0,10 до 1,00 мг/дм³. Диссертантом показано, что наблюдается хорошая сходимость результатов разрабатываемого флуориметрического метода определения индигокармина по сигналу люминесценции его лейкосоединения в щелочи и арбитражного хроматографического метода определения индигокармина в воде в пищевых и фармацевтических объектах. Предел обнаружения индигокармина флуориметрическим методом составил 0,0033 мг/дм³.

Проведена оценка метрологических характеристик методики определения индигокармина в исследуемых объектах флуориметрическим методом.

Показано, что в диапазоне концентраций 0,1-0,6 мг/дм³ воспроизводимость результатов определений не превышает 32 %.

Полученные выше показатели качества результатов анализа являются установленными характеристиками погрешности для совокупности результатов, полученных при соблюдении требований методики флуориметрического определения индигокармина при ее реализации в отдельной лаборатории.

Степень обоснованности научных положений.

В работе использовано большое число методов исследования для получения научной информации. Это и различные методы вольтамперометрии, а так же различные виды хроматографии – тонкослойная и высокоэффективная жидкостная. Обработка результатов исследований проводилась с использованием программного обеспечения MS Office, хемометрическая обработка данных проводилась с использованием программы MathCAD 15.

Научная новизна диссертационной работы.

1. Изучена природа сигнала люминесценции хинина. По типу возбужденного электронного состояния установлен фосфоресцентный тип люминесценции.
2. Проведена оценка квантового выхода люминесценции хинина в различных концентрациях серной кислоты. Установлено, что максимальный квантовый выход наблюдается в присутствии 0,01 М серной кислоты.
3. Впервые исследованы люминесцентные свойства лейкосоединения индигокармина в щелочи. Показано, что сигнал его люминесценции имеет флуоресцентную природу. Определен квантовый выход лейкосоединения индигокармина в щелочи.
4. Разработан новый подход к определению синтетического пищевого красителя индигокармина в пищевых продуктах и лекарственных препаратах, который заключается в применении щелочи при получении аналитического сигнала люминесценции индигокармина.

Практическая значимость диссертационной работы.

1. Экспериментально установлен алгоритм экспрессной пробоподготовки, исключая сорбцию и десорбцию определяемых пищевых добавок хинина и индигокармина в пищевых продуктах и лекарственных препаратах методом флуориметрии.
2. На основании выбранных условий пробоподготовки разработаны флуориметрические методики определения хинина и индигокармина в продукции пищевой и фармацевтической промышленности с улучшенными метрологическими характеристиками. Подтверждена правильность результатов флуориметрического определения хинина и индигокармина в напитках, лекарствах и витаминах с результатами независимых методик спектрофотометрии и хроматографии.

3. Предложенные методики могут быть использованы для контроля качества и безопасности продуктов питания и фармацевтических препаратов.

Личный вклад автора

Анализ и систематизация литературных данных по методам определения пищевых добавок, проведение экспериментальных исследований, обработка и представление результатов, публикация полученных результатов в виде статей и тезисов.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Эксперимент выполнен на очень высоком уровне с использованием современных физико-химических методов исследования (флуориметрия, спектрофотометрия, хроматография). Объем проведенных исследований соответствует поставленным целям и достаточен для обоснования выносимых на защиту положений. Примененные приборы, реактивы, методы исследования, в целом, адекватны намеченным целям и задачам.

Обоснованность положений, выносимых на защиту, и выводов по работе

Положения, выносимые на защиту, не вызывают возражений, имеют научную новизну, теоретически обоснованы и экспериментально доказаны. Выводы по работе соответствуют содержанию диссертации, базируются на большом экспериментальном материале и не противоречат имеющимся литературным данным, на которые в тексте диссертации имеются соответствующие ссылки. Диссертантом изучены люминесцентные характеристики лекарственных препаратов органической природы (хинина и индигокармина), созданы алгоритмы методик их определения в различных лекарственных формах и пищевых продуктах без отделения матрицы пробы, а только за счет ее разбавления до бесцветного состояния.

Полученные результаты, несомненно, будут интересны для сотрудников высших учебных заведений и научных организаций, занимающихся разработкой методик определения лекарственных препаратов и пищевых продуктов в объектах фармацевтической и пищевой промышленности.

Недостатки (упущения) диссертации.

1. На стр. 45 указывается, что концентрация H_2SO_4 выбрана по квантовому выходу хинина. При этом квантовый выход примесей не рассматривается. Можно ли сказать, что квантовый выход хинина мало зависит от концентрации H_2SO_4 ? Что об этом говорят Ваши опытные данные?
2. Для снижения влияния примесей предложено разбавлять пробу до визуального отсутствия окраски. В работе ничего не говорится, как это повлияет на результат определения хинина и индигокармина?
3. Известны ли константы диссоциации хинина и индигокармина? Какая из частиц после диссоциации этих соединений участвует в люминесцентном возбуждении?
4. Стр. 59, рис. 14. Градуировочная зависимость оптической плотности от концентрации хинина в 0,01 М серной кислоте не проходит через начало координат. Почему? Указывает ли это на наличие систематической погрешности в анализе?
5. Не поняла комментарий диссертанта к результатам анализа, представленным в таблице 8 (стр. 60): «но содержание хинина в таблетке немного превышает заявленное количество 51 мг на таблетку, что может повредить здоровью человека при постоянном употреблении данного лекарства». Определенное Вами содержание хинина $51,4 \pm 0,4$ вполне укладывается в рамки дозволенного. Данные спектрофотометрического метода завышены. Вы не доверяете своим данным?
6. На стр. 76 описаны результаты исследования мешающего влияния сопутствующих компонентов пищевой матрицы на флуориметрическое определение индигокармина, полученные методом «введено-найденно» (табл. 15). Как следует из этой таблицы, наиболее близкие результаты к введенному количеству индигокармина наблюдаются в присутствии лимонной кислоты. Может быть ее специально стоит вводить в анализируемый объект?

7. На стр. 79 приведены спектры люминесценции индигокармина (E132) в 1М NaOH (C=1 мг/дмз) в присутствии синтетического пищевого красителя хинолинового желтого (E104) различной концентрации. Показано, что наличие в пробе хинолинового желтого смещает спектр люминесценции индигокармина и изменяет его интенсивность, что указывает на мешающее влияние хинолинового желтого на результат анализа. При каком соотношении индигокармина и хинолинового желтого возможно правильное определение содержаний индигокармина в анализируемой пробе?

Сделанные замечания не являются принципиальными и не снижают общей положительной оценки диссертации. Поставленная цель достигнута, а задачи исследования выполнены.

Значение результатов диссертации для науки и производства

Диссертационная работа Николаевой А.А. относится к разделу 02.00.02—аналитическая химия и имеет большое научное и прикладное значение в области определения хинина и индигокармина в лекарственных препаратах и пищевых объектах методом флуориметрии

. Актуальность работы не вызывает сомнений. Положения и выводы, сформулированные в диссертации, экспериментально доказаны. Основные научные результаты диссертации опубликованы в 18 работах, из них 2 статьи индексируемые базами Web of Science и Scopus, 1 статья в рецензируемом научном издании, рекомендованном ВАК.

Автореферат достаточно полно раскрывает содержание диссертации. Оформление диссертации и автореферата соответствует установленным требованиям; работа оформлена аккуратно.

На основе изучения диссертации можно заключить, что диссертационная работа Николаевой Алёны Андреевны является большим по объему,

рационально спланированным и завершенным научным исследованием, научная новизна которого не вызывает сомнений. Опубликованные работы отражают содержание диссертации и автореферата.

Диссертационная работа «Определение хинина и индигокармина в продукции пищевой и фармацевтической промышленности методом флуориметрии» соответствует требованиям соответствует критериям п.8, п.9, п. 10 «Порядка присуждения ученых степеней в Национальном исследовательском Томском политехническом университете», утвержденного приказом ректора № 93/од от 06.12.2018 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор **Николаева Алёна Андреевна** заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия.

Доктор химических наук, профессор кафедры химической инженерии ИШПР Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» *Жолпакова* Жолпакова Нина Александровна

«ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь Национального
исследовательского Томского
политехнического университета
2.03.2020

634050, г. Томск, Ленина, 30

nak@tpu.ru

контактный телефон: 8



Ананьева Ананьева О.А.