

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Дудкина Анна Александровна

ХИМИКО–АНАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ТРИФЕНИЛМЕТАНОВЫХ И
АЗОКРАСИТЕЛЕЙ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ПОЛИМЕТАКРИЛАТНУЮ
МАТРИЦУ

1.4.2 – аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

Доктор химических наук,

профессор

Гавриленко Михаил Алексеевич

Томск–2022

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. Методы определения красителей в пищевых продуктах	8
.....	12
1.1 Методы извлечения синтетических красителей из пищевой матрицы	12
1.2 Методы определения синтетических красителей.....	13
1.2.1 Хроматографические методы	14
1.2.2 Капиллярный электрофорез.....	16
1.2.3 Электрохимические методы	17
1.2.4 Спектрофотометрические методы	18
1.3 Полимерные материалы в качестве оптической среды.....	20
Глава 2. Аппаратура и методика эксперимента	23
2.1 Реагенты	23
2.2 Методика определения красителя в матрице.....	24
2.3 Аппаратура.....	28
2.4 Определения содержания основного красящего вещества в пищевых красителях.....	29
2.5 Методика исследование влияния рН растворов пищевых красителей на их экстракцию ПММ.....	32
2.6 Оценка эффективности экстракционного извлечения исследуемых красителей ПММ.....	33
2.7 Исследование влияния условий определения красителя в ПММ	35
Глава 3. Исследование физико–химических закономерностей твердофазной экстракции.....	38
3.1 Влияние рН растворов красителей на их экстракцию и спектры поглощения в ПММ.....	38
3.2 Влияние времени контакта на экстракцию красителей E131 и E133.....	50

3.3 Влияние скорости перемешивания на экстракцию исследуемых красителей ПММ.....	53
Глава 4. Твердофазная экстракция азо красителей ПММ.....	54
4.1 Влияние pH растворов красителей на их экстракцию и спектры поглощения в ПММ.....	54
4.2 Влияние времени контакта анализируемого раствора красителя с ПММ на величину аналитического сигнала	71
Глава 5. Разработка алгоритмов количественного определения СК в пищевых продуктах	75
5.1 Алгоритм определения синтетических красителей E133, E110, E124 и E102 в соках	75
5.2 Алгоритм твердофазно-спектрофотометрического определения исследуемых красителей в напитках и контроль качества результатов анализа.....	77
5.3 Алгоритм определения синтетических красителей E102, E110, E124, E131 в йогурте.....	81
5.4 Алгоритм твердофазно–спектрофотометрического определения исследуемых красителей в кондитерских изделиях и контроль качества результатов анализа	85
5.5 Алгоритм определения исследуемых красителей в присутствии следов тяжелых металлов	89
ВЫВОДЫ	95
Список сокращений и условных обозначений	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	97

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Синтетические органические красители используются в пищевой промышленности для окрашивания пищевых продуктов, напитков или сладостей. Замена натуральных красителей искусственными альтернативами становится все более актуальной задачей. Натуральные красители нестабильны и легко разлагаются при солнечном свете, неподходящей температуре или условиях хранения, поэтому использование синтетических органических красителей считается надежным и экономичным методом окрашивания пищевых продуктов.

Красители поглощают свет в видимой области спектра, и для их определения часто используют спектрофотометрию. Прямое измерение поглощения подходит для разделения красителей с шагом разделения одной аналитической единицы. Образцы пищевой продукции обладают разнообразным матричным эффектом, что снижает эффективность при спектрофотометрических измерениях. Проблема количественного определения синтетических пищевых красителей заключается в их извлечении из сложной матрицы. В спектрофотометрии вследствие перекрытия спектрального сигнала аналитов в большинстве случаев требуется стадия разделения. Количество пищевых красителей определяли после поглощения пенополиуретаном и оксидом алюминия. Широко используемые методы, такие как адсорбция в картридж С–18, сорбция красителей пенополиуретанами или оксидом алюминия не всегда являются прямыми и количественными, могут привести к деградации красителя.

Полиметакрилатная матрица (ПММ) использована в различных процедурах экстракции как органических, так и неорганических веществ. Представляется перспективным использование ПММ для экстракции синтетических пищевых красителей из пищевой матрицы и их визуального и спектрофотометрического определения. Разработка такого полиметакрилатного чувствительного элемента колориметрических датчиков является ключевой тенденцией в разработке новых систем химических сенсоров.

Цель исследования: выявление основных факторов, определяющих закономерности твердофазной экстракции синтетических пищевых красителей в

объем полиметакрилатной матрицы для их визуального или спектрофотометрического определения, в том числе при их совместном присутствии.

Для достижения поставленной цели, необходимо выполнить следующие **задачи:**

1. Изучение твердофазной экстракции пищевых азо- и трифенилметановых синтетических красителей в прозрачную полиметакрилатную матрицу в качестве твердого экстрагента.

2. Определение аналитических свойств иммобилизованных красителей в полиметакрилатной матрице зависимости от pH раствора, времени экстракции, природы красителя.

3. Разработка алгоритмов твердофазно-спектрофотометрического определения синтетических красителей в пищевых продуктах и напитках, в том числе при их совместном присутствии.

Научная новизна. Впервые исследовано влияние иммобилизации в полиметакрилатной матрице (ПММ) на химико-аналитические свойства азо- и трифенилметановых синтетических красителей. Разработан новый аналитический подход на основе применения ПММ в качестве аналитической среды для твердофазной спектрофотометрии, которая позволяет сочетать в пробоподготовку и определение красителей в диапазоне $0.1 - 25.0 \text{ мг/дм}^3$ с пределом обнаружения до 0.01 мг/дм^3 . Использование ПММ в качестве колориметрического сенсора для определения синтетических красителей позволяет проводить колориметрическое полуколичественное определение красителей путем сравнения их окраски с цветометрической шкалой. Определению азо- и трифенилметановых синтетических красителей не мешают компоненты пищевой матрицы и наличие взвешенных частиц в объекте анализа.

Теоретическая значимость заключается в том, что результаты дополняют научные знания о влиянии условий проведения твердофазной экстракции в объем полиметакрилатной матрицы и способствуют развитию подходов к контролю форм красителей в растворах. Полученные результаты согласуются с

современными представлениями о механизме твердофазной экстракции для ионных форм красителя на поверхность, содержащую карбонильные и карбоксильные группы. Кроме того, отмечено совершенствование пробоподготовки за счет устранения эффекта пищевой матрицы.

Практическое значение работы. Предложена новая полиметакрилатная матрица для быстрого колориметрического и спектрофотометрического определения пищевых красителей без предварительной обработки, пригодная для размещения в портативном приборе для анализа на месте. Предложен алгоритм определения синтетических пищевых красителей в пищевых продуктах и напитках.

Методология и методы диссертационного исследования. В ходе выполнения работ задействовано лабораторное оборудование для рН-метрии, спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, изучения кислотно-основных равновесий. Результаты экспериментов обработаны с применением стандартного математического аппарата.

Положения и результаты, выносимые на защиту.

1. Результаты исследований твердофазной экстракции пищевых синтетических красителей тартразин E102, желтый «солнечный закат» E110, понсо 4R E124, кармуазин E122, патентованный синий E131 и синий блестящий E133 в прозрачную полиметакрилатную матрицу в качестве твердого экстрагента, обоснование механизма твердофазной экстракции

2. Закономерности влияния рН, времени контакта и природы красителя на твердофазную экстракцию ПММ.

3. Алгоритмы определения индивидуальных красителей и их смесей в продуктах и напитках для твердофазно-спектрофотометрического и колориметрического варианта. Минимизация влияния матрицы пищевых продуктов на результаты определения красителей.

Степень достоверности результатов обеспечивается воспроизводимостью синтезов с сохранением выявленных закономерностей для одинаковых объектов исследования, интерпретацией полученных результатов с помощью теоретических

подходов и сравнение их с литературными данными, использованием современных методов исследования и оборудования с учетом ошибок методов, качественной оценкой экспертов и специалистов.

Апробация работы. Основные результаты получены и обсуждены на следующих конференциях: Высокие технологии в современной науке и технике ВТСНТ, г. Томск, 2018; VII Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов, г. Томск, 2018; I Международная научная конференция Энерго-ресурсоэффективность в интересах устойчивого развития, г. Томск, 2018; Всероссийская научно-методическая конференция Современные технологии, экономика и образование. г. Томск, 2019; XXIII Международный симпозиум им. академика М. А. Усова студентов и молодых ученых, Томск, 2019; 5th International Conference on Food Chemistry and Technology, Los-Angeles, USA, 2019.

Личный вклад автора состоит в анализе и поиске литературных данных по теме, постановке целей и задач исследования, проведении и планировании экспериментов и анализе и статистической обработке полученных данных, подготовке публикаций по теме работы. Исследование поддержано Российским научным фондом 18–19–00203 и программой СЕ Томского политехнического университета.

Публикации. Результаты работы представлены в 8 научных публикациях, в том числе 3 статьи, входящих в базы данных Scopus и WoS.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора (Глава 1), экспериментальной части, описывающей методики исследования (Глава 2), результатов и их обсуждения (главы 3 – 5), выводов, списка литературы (128 наименований). Результаты выполнения диссертационной работы изложены на 113 страницах, включая 56 рисунков, 35 таблиц.

Глава 1. Методы определения красителей в пищевых продуктах

Принадлежность пищевых красителей к распространенной группе азокрасителей определяется наличием входящей в их состав хромофорной азогруппы $-N = N-$. Сочетание азогрупп с ароматическими фрагментами молекул настолько распространены, что на их долю приходится 70 % всех органических красителей, производимых в мире [1, 2], в том числе наиболее распространенные желтые Тартразин (E 102), Желтый закат (E 110) и красные красители: Азорубин (E122), Понсо 4R (E124) и Амарант (E123) [3].

Большинство производителей используют именно недорогие синтетические пищевые красители для окраски напитков, кондитерских изделий, десертов или мороженого. Однако прогностические исследования накопления и метаболизма в организме человека некоторых синтетических красителей выявили вредные последствия их употребления [4, 5], например, продукты метаболизма азокрасителей ароматические амины обладают канцерогенным и тератогенным эффектами [6]. Более того, недавние публикации подтверждают взаимодействие между азокрасителями и альбумином сыворотки человека [7] и гемоглобином [8]. Также синтетические пищевые красители при избыточном употреблении могут приводить к гиперактивности у детей [9] и вызывать аллергические и астматические заболевания [10].

Европейский орган по контролю безопасности пищевых продуктов (EFSA) установил максимально допустимый уровень азокрасителей в напитках и пищевых продуктах от 50 мг/л в безалкогольных ароматизированных напитках до 500 мг/кг в украшениях, покрытиях и соусах. Кроме того, приемлемый ежедневный прием пищевых красителей установлен на уровне 0.15, 0.7, 4.0, 4.0, 7.0, 7.5 мг/кг массы тела в день для Амаранта, Понсо 4R, Желтого Заката, Азорубина, Алура Красного и Тартразина, соответственно [11–16].

В системе европейской классификации все пищевые красители имеют диапазон от E100 до E199 [17]. Следует учесть, что порядок маркировки определяет

цвет красителя (табл. 1.1). В России эти красители разрешены для окрашивания напитков (в том числе алкогольных), десертов, кондитерских изделий и др. [18].

Таблица 1.1 – Международная классификация пищевых красителей [19]

Номер	Красители
E100–E109	Желтые
E110–E119	Оранжевые
E120–E129	Красные
E130–E139	Синие и фиолетовые
E140–E149	Зеленые
E150–E159	Коричневые и черные
E160–E199	Другие

Тартразин используется в качестве пищевого красителя, представляет собой желтый искусственный краситель в виде тринатриевой соли. Впервые получен в 1884 г. Циглером из фенилгидразинсульфокислоты и диоксивинной кислоты. Он имеет химическую формулу $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$, с молекулярной массой 534.37 г/моль. Химическое название Окси-1-(п-сульфофенил)-4-[(-сульфофенил)-азо]-пиразол-3-карбоновой кислоты тринатриевая соль, представленный на (рис. 1.1).

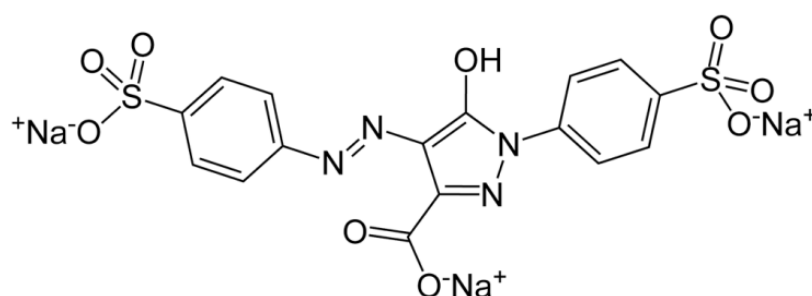


Рисунок 1.1 – Структурная формула тартразина

Краситель E102 представляет собой желтый водорастворимый азокраситель, используемый в основном в виде натриевой соли, а также в виде солей калия и кальция и в качестве алюминиевого лака. Тартразин сохраняет свой цвет в кислой среде и при высокой температуре [20].

Краситель Желтый «солнечный закат» (пищевая добавка E110) относится к классу азокрасителей и представляет собой оранжево-красный порошок или гранулят. Он имеет химическую формулу $C_{16}H_{10}N_2O_7S_2Na_2$ (рис.1.2). Химическое название динатрий-6-гидрокси-5-[(4-сульфенил)-азо]-2-нафталинсульфонат [21]. Структурная формула:

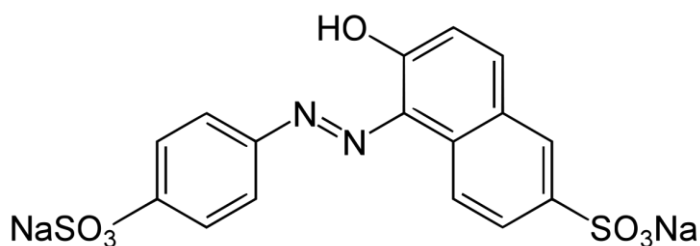


Рисунок 1.2 – Структурная формула Солнечного заката

Краситель E110 хорошо растворяется в воде с образованием растворов ярко оранжевого цвета. Он среднерастворим в этаноле, нерастворим в растительных маслах. Краситель обладает хорошей светостойкостью, термостойкостью (до 150 °C), а также кислотостойкостью, однако по отношению к фруктовым кислотам. Аскорбиновая кислота оказывает на краситель восстанавливающее действие, что снижает интенсивность окраски. Щелочестойкость умеренная, в щелочных растворах появляется красный оттенок [22].

Понсо 4R (пунцовый 4R) – азокраситель синтетического происхождения с красновато-пурпурным оттенком. Полное химическое название 2-гидрокси-1-(4-сульфо-1-нафтилазо) нафталин-6,8-дисульфонат динатриевая соль на рис. 1.3

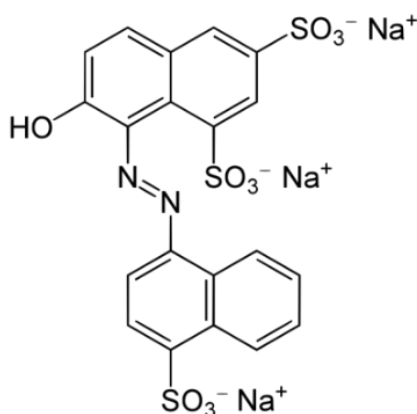


Рисунок 1.3– Структурная формула Понсо 4R

Понсо 4R относится к кислотным азокрасителям, которые являются одной из наиболее многочисленных групп азокрасителей. В состав этих соединений входят чаще всего сульфогруппы, реже карбоксильные и нитрогруппы. Натриевые соли кислотных красителей хорошо растворимы в воде [23].

Трифенилметановые красители относятся ко второй группе по распространенности, благодаря насыщенным цветам, высокой красящей способностью и экономичности, поэтому широко применяются для окраски огромного количества продукции. Химическая структура представляет три арильные системы, содержащую одну или несколько гидроксильных групп или аминогрупп. В составе красителей могут быть такие группы, как алкильная, сульфогруппа, карбоксильная, количество и положение которых определяет глубину окрашивания трифенилметанового красителя. Красители трифенилметанового ряда, менее стойкие к действию кислот и щелочей, в сравнении с азокрасителями [24].

E131 (Синий патентованный V, дисульфиновый голубой) – органическое соединение, трифенилметановый краситель с химической формулой $C_{54}H_{62}N_4O_{14}S_4Ca$ (рис.1.4). Вместо кальциевой соли может также использоваться натриевая [25].

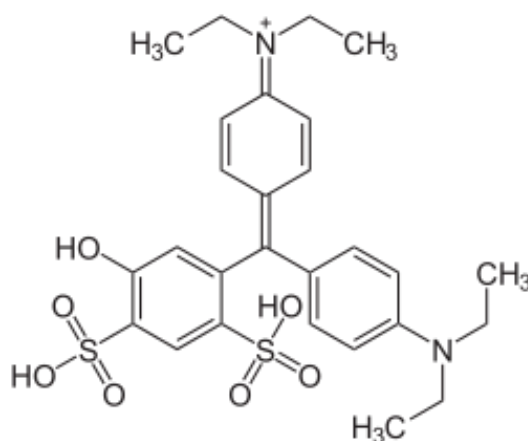


Рисунок 1.4 – Структурная формула Синего Патентованного V

В результате восстановления триарилметановых красителей образуются неокрашенные лейкосоединения, а при действии щелочей эти красители превращают в бесцветные карбинольные соединения.

E133 (синий блестящий краситель) – синтетический трифенилметановый краситель с химической формулой $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$, с молекулярной массой 792.86 г/моль. Химическое название динатрий-3(N-этил-N-(4-((4-(N-этил-N-(3-сульфонатобензил)-амино)-фенил)(2-сульфонато-фенил)метил)-2,5-цикло-гексадиен-1-илиден)-аммониометил)-бензосульфат (рис.1.5).

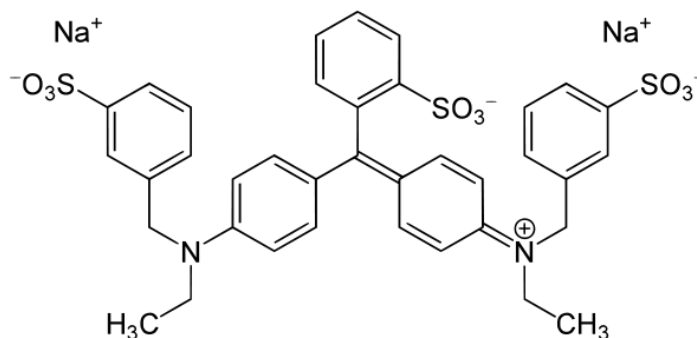


Рисунок 1.5– структурная формула Блестящего синего

В процессе органического синтеза получают из каменноугольной смолы. Краситель неплохо растворяется в воде и образует раствор ярко синего цвета, а так же имеет плохую растворимость в этаноле [27]. При смешивании его с желтым красителем, образуется зеленый оттенок, с красным - фиолетовый, а при сочетании с красным и оранжевым красителями образуются коричневый и черный цвета. Этот краситель в РФ разрешено применять для производства газированных напитков, мороженого, десертов и т.д.

1.1 Методы извлечения синтетических красителей из пищевой матрицы

Предварительное извлечение красителей требуется из пищевой матрицы, для определения СК, например в таких методах как спектрофотометрии и хроматографии. В литературе описанно множество различных способов, с помощью твердофазной и жидкофазной экстракции связанных с выделением красителей из объектов с дальнейшим их удалением от сторонних компонентов.

Экстракция с применением твердых сорбентов является одним из самых распространенных способов извлечения красителей. В соответствии с ГОСТ Р

5247–2005 [28], ГОСТ Р 52671–2006 [29], а также ГОСТ Р 52705-2007 [30] РФ по определению СК в пищевой продукции, осуществляется пробоподготовка с использованием патронов для твердофазного экстракции, которые заполняются оксидом алюминия. После сорбции красителей выполняют промывку патронов уксусной кислотой при температуре ниже нуля и десорбируют аммиак до полного обесцвечивания сорбента. Выпаривают на водяной бане элюат до сухости, а затем растворяют сухой остаток в дистилляционной воде. Определение красителей проводят хроматографированием на тонком слое сорбента и затем уточняют их количественное содержание с помощью методов оптической денситометрии и спектрофотометрии. Работы [31 – 33] посвящены извлечению синтетических красителей из безалкогольных напитков, желе и мармелада на полиамидных сорбентах. В качестве растворителей для экстрагирования синтетических красителей используют индивидуально или в комбинациях воду, этанол, метанол, изопропиловый спирт, циклогексан и др. В безалкогольных напитках, желе или сухих смесей используют смесь аммиак:метанол (10:90) [34], этанол:вода (1:1) [35] для извлечения E102, E122, E124, E133. Водную двух фазную систему, состоящую из гидрофильной ионной жидкости (ИЖ) 2-бутил-3-метилмидазолий бромид [36] применяли для извлечения E133 из безалкогольных напитков и карамели. При одноэтапном экстрагировании эффективность извлечения красителя достигает полностью.

1.2 Методы определения синтетических красителей

На сегодняшний день наиболее распространенными методами определения азокрасителей являются спектрофотометрия [37 – 39], хроматография [40 – 43] и капиллярный электрофорез [44 – 46]. Электрохимические методы выглядят весьма перспективными благодаря их высокой чувствительности, простоте, низкой стоимости, короткого времени анализа, возможности одновременного определения нескольких компонентов [47 – 48].

1.2.1 Хроматографические методы

Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) является доступным и экспрессным методом определения красителей благодаря универсальности, большой чувствительности, скорости и простоте выполнения анализов и оборудованию. Широко применяются для анализа определяемых веществ (от 0.005 до 0.1 мкг) пищевых продуктов, и надежной идентификации [49]. Подходящий сорбент наносят тонким слоем на стеклянную пластинку для получения стартового слоя, где смесь веществ наносят на стартовую линию, а край пластинки ниже стартовой линии погружают в растворитель. Разделение смеси веществ происходит в процессе движения жидкости на пластинке, за счет действия сил адсорбции, ионообмена, распределения или всех перечисленных факторов, сочетающихся вместе.

В работе [50] для разделения восьми пищевых красителей используется ТСХ с последующим количественным денситометрическим детектированием. В качестве системы растворителей, авторы предлагают использовать ацетонитрил–воду–этилацетат–10% водный раствор аммиака (9:1:1:1). Методика апробирована на конфетах, желе, напитках и фармацевтических препаратах. Извлечение синтетических красителей из пищевых матриц варьировалось от 96.6 до 106.7%.

Для определения искусственных красителей Тартразина, Понсо 4R, Азорубина, Синего Блестящего, Желтого «Солнечный Закат» в напитках и жидкостях для полоскания рта авторы работ [51] применяют ТСХ, где неподвижной фазой выступают силикагелевые пластины, а в качестве элюентов для определения исследуемых красителей используют смесь хлороформ–изопропанол – 25 % водный аммиак (1:3:1). Общее извлечение для всех красителей составило более 90 %.

Существует большое количество работ по определению красителей путем высокоэффективной жидкостной хроматографией, что связано с большим количеством возможностей данного метода при его применении для решения задач, связанных с разделением смесей красителей.

Используются для определения СК следующие хроматографические методы, такие, как ион-парная ВЭЖХ, ультра высокоэффективная жидкостная хроматография (У ВЭЖХ) и обращено-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ОФ ВЭЖХ) [52–53]. Путем ТСХ реализованы процедуры выделения и разделения синтетических красителей.

Обычно методом ВЭЖХ определяют вплоть до 40 красителей одновременно [54]. Сорбент ХМК–С16 или ХМК–С8 используется в качестве неподвижной фазы. Выбор в основном сводится к выбору состава подвижной фазы который является решением конкретной задачи. Смеси ацетонитрил, метанол, и раствор ацетата аммония используют для подвижных фаз, необходимые для поддержания рН.

В работе [55] проанализировано 54 образца оранжевого желе, на наличие в нем красителя Желтого «Солнечный Закат» методом ВЭЖХ. Предел обнаружения составляет $1.14 \text{ мг}/100 \text{ см}^3$, предел количественного определения $3.46 \text{ мг}/100 \text{ см}^3$. Методом ВЭЖХ в сочетании с фотодиодным детектированием (ФДД) авторам работы [56] удастся определить восемь синтетических пищевых красителей. В качестве подвижной фазы используется ацетонитрил, ПО составляет $0.25 \text{ мкг}/\text{см}^3$.

В работе [57] продемонстрирована возможность определения одиннадцати запрещенных красителей в косметических средствах методом ВЭЖХ с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (МС/МС). Пределы количественного определения составляют $0.005 \text{ мг}/\text{кг}$. Количественную оценку синтетических пищевых красителей Тартразина и Синего Блестящего в кондитерских изделиях авторы работы [58] определяют с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, снабженной видимым и УФ - излучением, ПО составляют $4.74 \text{ мг}/\text{кг}$.

Магнитно-дисперсионная твердофазная экстракция в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией и tandemной квадрупольной масс-спектрометрией позволяют авторам работы [59] проводить одновременное определение семи СК в винах и безалкогольных напитках. Пределы количественного определения составляют от $1.51 \text{ мкг}/\text{дм}^3$.

Несмотря на возможность ВЭЖХ проводить одновременное определение большого числа красителей при их совместном присутствии в пищевой матрице

является более сложным, потому что зачастую пищевой объект содержит не более двух-трех красителей, к тому же процесс определения красителей методом ВЭЖХ является трудоемким, требующим дорогостоящего аппаратного оформления и использования большого количества различных органических растворителей.

1.2.2 Капиллярный электрофорез

Капиллярный электрофорез является методом определения СК, основанный на разделении красителей под действием электрического поля в капилляре, которое способствует подавлению влияния посторонних веществ. В одной из работ [60] предложено использование наночастиц кремния, рассматриваемых как псевдостационарные фазы в методе капиллярного электрофореза при определении четырех синтетических красителей в напитках. В качестве буферного раствора используют фосфатный буфер (pH 6.0). Предел определения для четырех красителей составляет от 0.030 до 0.036 мг/дм³, а степень извлечения 82.7 – 114.6%.

Авторы работы [61] для определения пяти СК в консервированных фруктах используют капиллярный электрофорез с последующим бесконтактным кондуктометрическим детектированием. В качестве рабочего буфера используют 25 мМ уксусную кислоту и 2 мМ гидроксипропил-бета-циклодекстрин (pH 3.5). Предел определения для исследуемых красителей находится в диапазоне 0.035–0.055 мг/кг.

Метод неводного капиллярного электрофореза с последующим детектированием красителей лазерно-индуцированной флуоресценцией позволяет авторам работы [62] определить несколько синтетических органических красителей. При определении используется неводная буферная система, состоящая из 15 мМ бората натрия и 835 мМ уксусной кислоты в 100% этаноле (pH 5.4). В работе [63] предложен магнитно–твердофазный метод экстракции в сочетании с капиллярным электрофорезом для одновременного определения трех азокрасителей в пробах сточных вод. Предел обнаружения составляет 1.0 мг/дм³, степень извлечения исследуемых красителей варьируется от 95 до 106%. Одновременное определение девяти запрещенных азокрасителей в продуктах

питания и напитках проводят авторы работы [64] с помощью высокоэффективного капиллярного электрофореза. Рабочий буфер состоит из (15%) ацетонитрила и 10 мМ боратного буфера (рН 9.0). Степень извлечения составляет 81.2–110%, ПО 25.1 мкг/л.

Восемь синтетических текстильных красителей, включая пять катионных и три анионных красителей определяют неводным капиллярным электрофорезом с электрохимическим детектированием [65]. Одновременное разделение кислотных и основных красителей проводят с использованием буфера на основе ацетонитрила, ПО для основных красителей варьируется в диапазоне 0.1 мкг/см³. Несмотря на достоинства данного метода, точно также как и в методе ВЭЖХ, в большинстве случаев не возникает необходимости одновременного определения более двух-трех красителей в одном пищевом объекте.

1.2.3 Электрохимические методы

Электрохимические методы все больше становятся популярными для определения синтетических красителей в разных объектах, так как они простые, высокочувствительные и имеют возможность миниатюризации. Также в молекулах красителей находятся электроактивные группы, то возможно их электровосстановление/электроокисление на поверхности электрода. В этом отношении наиболее изученными являются азокрасители [66].

Азокрасители содержат азогруппу [67–71] в качестве хромофора в их молекулярной структуре, что делает их пригодными для катодного вольтамперометрического определения на основе их электрохимического восстановления. Но они также содержат электрохимически окисляемую группу на ароматическом кольце, что делает возможным их определение с использованием анодной вольтамперометрии.

На ртутно-капающем электроде с помощью метода дифференциально-импульсовой полярографии наблюдают электровосстановление азокрасителя [72]. Также используется ртутно-капающий электрод для анализа пищевых продуктов

методом инверсионной вольтамперометрии [73]. Достоинствами ртутного электрода являются высокое перенапряжение, выделение водорода, высокая воспроизводимость поверхности и низкие пределы определения от 0.001 до 0.042 мг/дм³. Использование ртутного электрода в аноде ограничено небольшим диапазоном потенциалов. В настоящее время большое значение имеет большая токсичность таких электродных материалов, поэтому их применение в последнее время снизилось.

Благодаря своей химической устойчивости, большой сферы рабочих потенциалов и возможности модификации, широко применяются различные углеродсодержащие электроды в электроаналитической практике [74]. В безалкогольной продукции, желе, мармеладе, конфетах, определяют кармуазин и тартразин в буфере Бриттона-Робинсона при pH 2.0 путем постоянноточковым вольтамперметрическим методом с пределами обнаружения 0.02 м и 0.01 мг/дм³ [75,76].

1.2.4 Спектрофотометрические методы

Спектрофотометрические методы определения синтетических красителей являются перспективными, благодаря экономности и простоте пробоподготовки. Такие методы позволяют исключить стадию десорбции, провести количественное определение непосредственно в твердой фазе, тем самым сократить время анализа. Так как красители неплохо поглощают свет в видимой области спектра, то для их определения широко применяют метод спектрофотометрии. Спектрофотометрический метод является простым в применении, если в образце находится один или два красителя, спектры которых не перекрываются.

Известно два алгоритма спектрофотометрического определения красителя Тартразина в пищевых продуктах, описанных в работе [77]. Особенность первого метода заключается в протекании двух связанных реакций: реакции восстановления Cu(II) до Cu(I) аналитом в ацетатной буферной среде (pH 5.9) и реакции комплексообразования между Cu(I) и окисленной формой Тартразина с образованием комплекса. Другой метод основывается на окислении Тартразина

щелочным раствором KMnO_4 . Все протекающие реакции контролируют спектрофотометрическим анализом, ПО первого метода составляет 0.101 мг/см^3 и второго метода 0.355 мг/см^3 .

Авторы работы [78] разработали метод производной спектрофотометрии для определения красителей Тартразина и Синего Блестящего. Тартразин определяют с помощью производной первого порядка при 454 нм , Синий Блестящий – по спектру нулевого порядка при 630 нм . Предел обнаружения для Тартразина составляет 0.12 г/см^3 , для Синего Блестящего 0.17 г/см^3 .

В литературных источниках можно встретить работы, посвященные спектрофотометрическому определению красителей с использованием наночастиц серебра. Так разработан метод спектрофотометрического определения красителя Синего Блестящего в пробах поверхностных вод [79], основанный на каталитическом окислении красителя гексацианоферратом(III) калия, где наночастицы серебра выступают в роли катализатора. Предел обнаружения метода составляет 0.1 нг/см^3 .

При одновременном спектрофотометрическом распознавании красителей Хиолинового Желтого и «Солнечный Закат» в своей работе [80] авторы используют обобщенный метод стандартных добавок. С помощью данного метода достигнуты хорошие показатели селективности и чувствительности, ПО для E104 0.16 мг/дм^3 , для E110 составляет 0.13 мг/дм^3 .

Для определения красителей Понсо 4R и Кармуазина в бинарной смеси авторы работы [81] используют «N-point» стандартный метод добавок (HPSAM), позволяющий определить два красителя с перекрывающимися спектрами. Методика протестирована на напитках и кондитерских изделиях.

Спектрофотометрический метод является достаточно простым и доступным. Тем не менее, если в смеси находится несколько красителей с близкими максимумами поглощения, то прямое спектрофотометрическое измерение маловероятно. Без использования хемометрических алгоритмов данное определение является весьма сложным [82].

1.3 Полимерные материалы в качестве оптической среды

Для создания оптических материалов чаще используют органические аморфные (литьевые и сшитые) полимерные среды, находящиеся в стекловидном состоянии. Техническое название прозрачных полимерных продуктов является органическое стекло, которые производятся на основе органических полимеров. Среди них полиметакрилат (ПММА) и полистирол, поликарбонаты и др [83,84]. Под «органическим стеклом» в промышленности зачастую понимают материал, который получается полимеризацией метилметакрилата (ММА) в массе (блоке).

Если сравнивать с изделиями из неорганического стекла, то полимерные изделия обладают рядом преимуществ, такими как отличная ударопрочность, небольшая плотность и низкая стоимость [85]. Органическое стекло обладает важной способностью к диэлектрическим свойствам и большими звуко и теплоизолирующими способностями в отличие от силикатного стекла.

Органические полимерные материалы имеют отличия в термопластичности – это способность в процессе нагревания переходить в вязкотекучее состояние и сохранять свою форму при охлаждении [86]. Оптические характеристики полимеров, которые формируются в зависимости от условий получения и переработки, можно определить изучив их химическое строение и молекулярную структуру [87].

Полимерные материалы часто используют в химии как матрицы для индикации оптическими датчиками. Индикаторный краситель необходимо растворить в растворителе, чтобы взаимодействовал с исследуемым веществом. При контакте с чистым кристаллическим индикаторным красителем, он реагирует на поверхности, но весь объем индикаторного пространства не будет реагировать вследствие затрудненной диффузии. Благодаря этому индикатор растворенный в полимере будет свободно диффундировать к анализируемому от молекулы индикатора.

Эта же задача возложена на полимер, который является иммобилизатором и предотвращает вымывание, например, так происходит с водно-спиртовым

раствором образца. Здесь возможно достичь не только через введение ковалентной иммобилизацией красителя к матрице, но также растворением гидрофобных и нерастворимых в воде красителей в гидрофобном полимере. Полимер может быть использован в качестве адаптера селективности и чувствительности оптических датчиков, за счет обогащения анализируемого вещества используется полимер [88].

Полимерный материал должен соответствовать определенным требованиям для реализации оптического обнаружения. В первую очередь, индикатор и все добавки должны хорошо совмещаться в полимере. Это вещество должно быть растворимым в полимере и иметь возможность быстро проникать в полимер. Для получения хорошего срока эксплуатации, полимерный материал должен быть химическим и физически стабилен.

Кроме того, не должно происходить никакой кристаллизации/миграции химического индикатора в полимере. Однако это может случиться после нескольких недель или месяцев, в случае если растворимость индикатора достаточно высока. В случае повышения температуры полимер должен быть устойчив при повышении температуры. Это необходимо для того, чтобы он не имел стабильность против рассеянного света и химическим веществ (кислот, оснований, окислителей), и нетоксичным [89].

Полимеры, имеющие высокую температуру стеклования, являются хрупкими. Они требуют добавления в состав пластификаторов для того, чтобы стать более гибкими. Высокая плотность/жесткость полимерных цепочек (без пластификатора) препятствует проникновению ионов и газов в ПММ. Поливинилхлорид растворяется в тетрагидрофуране и циклопентаноне, полимеры из группы ПММА, ПС и поливинилового спирта (ПВХ) растворяются в этилацетате, эталметилкетоне, дихлорметане и др. [90].

В гидрофильных полимерах содержится матрица, аналогичная водной среде. Ионы могут свободно распространяться, но возможно их водопоглощение (10-1000%) может вызвать значительное набухание полимера. Изменение аналитического сигнала происходит за счет набухания матрицы, затрагивающие

оптические свойства сенсоров, обычно используется ковалентная связь с полимером для иммобилизации химического индикатора [91].

Золь-гель процесс позволяет подготовить стеклянную пленку, где уже есть химический индикатор. При производстве керамических материалов используется полимеризация соответствующих исходных веществ при низкой температуре. При этом рост популярности гелей, которые используются для нанесения на поверхность, связан с многофункциональной обработкой. Микроструктура золь-геля зависит не только от концентрации катализатора, но и от соотношения воды и золь-геля (R), исходного вещества, времени и температуры сушки, природы растворителя, такой процесс может быть использован для формирования тонких слоев датчика. В процессе золь-геля (коллоидно-дисперсионного раствора) тонкие стеклянные пленки могут формироваться нанесением покрытия методом погружения или же покрытием с помощью вращения, где эти пористые пленки используются для датчиков [92].

Сами же молекулы могут быть получены двумя способами: самоорганизация, а также предварительная организация молекул. Первый комплекс включает в себя комплексы хозяина-гостя и слабые межмолекулярные взаимодействия. Такие как ионное или гидрофобическое взаимодействие, водородная связь между анализируемым веществом и его функциональными мономерами. Самоорганизованные комплексы спонтанно формируются в жидкой фазе и закрепляются после полимеризации. После извлечения исследуемого вещества устанавливается свободный участок распознавания для отпечатка. Мономеры, которые используются для автосборки, является метакриловая кислота, винилпиридин и диметиламинометакрилат [93].

Глава 2. Аппаратура и методика эксперимента

2.1 Реагенты

В качестве твердого носителя для твердофазной экстракции используют ПММ. ПММ – это особый прозрачный полимерный материал с функциональными группами, обеспечивающими возможность извлекать реагент вещество из анализируемого объекта. Из исходного листа ПММ вырезают пластины размером 6.0×8.0 мм массой около 0.03–0.05 г. Для твердофазной экстракции рекомендуется данный размер пластины, поскольку при увеличении объема ПММ снижается удельная доля экстрагированного вещества, что ухудшает результат определения.

Исходные растворы красителей готовят растворением навески 0.05 г контрольных красителей в 50 см^3 дистиллированной воды, навеску красителей 0.05 г растворяют в 50 и 100 см^3 , содержание основного красящего вещества в приготовленных растворах исследуемых красителей, устанавливают по методике ГОСТ 32745–2014 и ГОСТ Р 55579–2013 [94,95]. Для приготовления рабочих растворов с меньшей концентрацией 1.0 моль/дм^3 исходных растворов получают разбавлением в 10 раз, где раствор соляной кислоты готовят разбавлением 8.5 см^3 концентрированной HCl в 100 мл воды. Раствор 0.1 моль/дм^3 соляной кислоты готовят разбавлением 1.0 моль/дм^3 HCl в 10 раз.

Сорбцию реагентов ПММ изучают в статическом режиме. В пробирки добавляют раствор необходимой концентрации, при заданном pH. После чего, пластины ПММ тщательно взвешивают до 0.050 г и помещают в водный раствор (с различными начальными концентрациями раствора красителя) объемом 10 мл. Спустя 15–60 минут, после того как смесь перемешивают на электромеханическом мешалке с помощью электрического тока, ее необходимо просушить между листами фильтровальной бумаги до получения однородного цвета. Затем исследовать спектры поглощения матрицы, которая модифицирована синтетическим красителем.

2.2 Методика определения красителя в матрице

Иммобилизация красителей в ПММ осуществляют посредством сорбции из водного раствора красителя с различной степенью концентрации и значения рН, а также их сорбирования из статического режима. При погружении ПММ в раствор на 1–25 минут (в зависимости от типа раствора), после чего его извлекают из раствора, высушивают при помощи фильтровальной бумаги и снимают спектроскопические спектры поглощения, измеряя их оптическую плотность в максимуме полосы пропускания красителя в ПММ на спектрофотометре.

С использованием стандартных растворов, а также по методу добавок в анализируемых объектах содержание красителя определяют по градуировочным зависимостям.

Объемы проб напитков (1.4–4.0 см³) переносят в градуированные пробирки вместимостью 25 см³, создают оптимальный рН, при котором наблюдается максимальная сорбция исследуемых красителей, 1М НСl, общий объем анализируемого раствора составляет 5 см³.

Построение градуировочной зависимости с использованием стандартных растворов. Для построения градуировочной зависимости, готовят в качестве эталонных растворов с содержанием красителей от 0 до 5 мг/дм³.

Графический метод добавок. 1.4– 4.0 см³ анализируемого раствора вносят в градуированные пробирки вместимостью 25 см³, добавляют 1М хлороводородную кислоту для создания оптимального рН. Также готовят растворы в других пробирках, куда дополнительно вводят различные аликвоты рабочего растворов красителя. Расчет определения содержания красителей (мг/дм³) в объектах анализа по градуировочным графикам, построенным с помощью стандартных растворов, проводят по формуле:

$$C_{\text{красителя}} = \frac{A_{\text{max}} \cdot V_{\text{общ}}}{b \cdot V_{\text{ал}}} , \quad (1)$$

где A_{max} – оптическая плотность анализируемого раствора;

$V_{\text{общ}}$ – общий объем анализируемого раствора, см³;

b – коэффициент чувствительности в уравнении градуировочной зависимости, представленной в виде $A_{\max} = b \cdot C_{\text{красителя}}$;

V_{al} – объем аликвоты напитка, см^3 .

Содержание красителей, по градуировочным графикам, построенным по методу добавок, определяют графическим способом, экстраполируя прямолинейную зависимость изменения оптической плотности от концентрации красителя в добавке до значения $A = 0$.

Расчет определения содержания красителей (мг/дм^3) в безалкогольных напитках по градуировочным графикам, построенным по методу добавок, проводят по формуле:

$$C_{\text{красителя}} = \frac{a \cdot V_{\text{общ}}}{b \cdot V_{\text{al}}}, \quad (2)$$

где $V_{\text{общ}}$ – общий объем анализируемого раствора, см^3 ;

a , b – коэффициенты в уравнении градуировочной зависимости, представленной в виде $A_{\max} = a + b \cdot C_{\text{добавки}}$;

V_{al} – объем аликвоты напитка, см^3 .

Проверку правильности определения исследуемых красителей в безалкогольных напитках проверяют методом добавок, согласно РМГ 61–2010 [96].

Метод добавок. Этот метод предполагает разделение исходной пробы на две равные части. Исследование первой части проводится согласно предложенной методике, во вторую часть добавляют раствор красителя с известной концентрацией, составляющей 30–80% от содержания в пробе.

Методика анализа определения красителей при оценке показателей качества, принятая в выборке объектов, предполагает следующие допущения: распределение случайной погрешности результата, исследования и неисключенной систематической погрешности анализа принимаются нормальными; использование методик, основанных на использовании добавок, позволяет оценить мультипликативную (пропорционально изменяющейся) части показателя правильности методики анализа; влияние факторов пробы на точность результатов анализов не оказывает существенного влияния на точность результатов анализа; специально приготовленные пробы с известной добавленной добавкой компонента

однородны, соответствуют составу проб вещества (материала), точность их приготовления не должна вносить дополнительной статистически значимой погрешности (неопределенности) в значения показателя правильности методики; образцы для оценки представляют собой рабочие пробы вещества (материала) или рабочие пробы вещества (материала) с известной величиной добавки; при определении содержания анализируемого компонента в пробе с добавлением не должно превышать верхней границы поддиапозона, в котором принято постоянство значения воспроизводимости; распределение погрешности измерения (распределение возможных значений величины добавки), принятого в данном случае, равномерное.

Результат для каждого из них рассчитывают:

- среднеарифметическое значение результатов анализа пробы без добавки

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^L X_i}{L}, \quad (3)$$

- среднеарифметическое значение результатов анализа пробы с добавкой

$$\bar{X}' = \frac{\sum_{i=1}^L X'_i}{L}, \quad (4)$$

- среднеарифметическое значение экспериментально найденной добавки

$$\bar{X}_d = \frac{\sum_{i=1}^L (X'_i - X_i)}{L}, \quad (5)$$

- разброс результатов анализа характеризующее случайной величиной, называемой среднеквадратическим отклонением (СКО), пробы без добавки

$$S_1 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^L (X_i - \bar{X})^2}{L-1}}, \quad (6)$$

- разброс результатов анализа характеризующее случайной величиной, называемой среднеквадратическим отклонением (СКО), пробы с добавкой

$$S_2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^L (X'_i - \bar{X}')^2}{L-1}}, \quad (7)$$

- значение смещения, где C_d – величина добавки

$$\theta = \bar{X}_d - C_d, \quad (8)$$

– рассчитанное значение t–критерия

$$t = \frac{|\theta|}{\sqrt{\frac{S_1^2}{L} + \frac{S_2^2}{L} + \frac{\Delta_{доб}^2}{3}}}, \quad (9)$$

где $\Delta_{доб}$ – погрешность величины добавки.

Расчетное значение t сравнивали с $t_{табл}$ значением при числе степеней свободы $f = L - 1$ и доверительной вероятности $P = 0.95$. Экспериментальные данные показывают, что во всех случаях $t_{расч}$ меньше $t_{табл}$, тогда, оценка систематической погрешности результатов анализа незначима на фоне случайного разброса, и в этом случае ее принимают равной нулю ($\theta = 0$).

При незначимости θ и с учетом того, что результаты получены в условиях повторяемости, показатель правильности методики анализа для принятой вероятности $P = 0.95$ рассчитывают по формуле:

$$\Delta_{с,в} = \Delta_c = 1,96 \sqrt{\frac{S_1^2}{L} + \frac{S_2^2}{L} + \frac{\Delta_{доб}^2}{3}} = 1,96\sigma_c, \quad (10)$$

где, S_1, S_2 выборочные СКО результатов анализа пробы без добавки и пробы с добавкой красителя, рассчитанные в соответствии с формулами (16) и (17) на основе результатов, полученных в условиях повторяемости.

Значение неисключенной систематической погрешности в процентах рассчитывают по формуле:

$$\sigma(\Delta_{с,в}), (\%) = \frac{\sigma_c}{C_{введенной\ добавки}} \cdot 100, \quad (11)$$

Оценку прецизионности результатов анализа проводили с использованием рабочих проб. Для каждого из результатов рассчитывают:

– среднее арифметическое результатов единичного анализа содержания компонента в образце оценивания

$$\bar{X}_l = \frac{\sum_{i=1}^N X_{li}}{N}, \quad (12)$$

– выборочную дисперсию результатов единичного анализа содержания компонента в образце оценивания

$$S_l^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (X_{li} - \bar{X}_l)^2}{N-1}, \quad (13)$$

– значение критерия Кохрена

$$G_{(\max)} = \frac{(S_l^2)_{\max}}{\sum_{i=1}^N S_l^2}, \quad (14)$$

Неисключенные из расчетов S_l^2 считаются однородными и по ним оценивается СКО, характеризующее повторяемость результатов единичного анализа, показатель повторяемости

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N S_l^2}{L}}, \quad (15)$$

Определение красителей в выбранных объектах проводят путем построения градуировочного графика с помощью стандартных растворов, а также для учета влияния матрицы объекта для определения красителей в кондитерских изделиях, расчет содержания красителей проводили по градуировочным зависимостям, построенным по методу добавок.

2.3 Аппаратура

Для проведения спектрофотометрического исследования используют спектрофотометр «Shimadzu UV–1800», (Япония), который позволяет проводить измерения в диапазоне от 200 до 800 нм, со скоростью сканирования 24,00 нм/мин. Фотометрический диапазон равен 3.3 А. Интеграция времени составляет 5.00 с., интервал длины волны 2 нм.

Для приготовления растворов с заданным значением pH применяют лабораторный pH-метр И-160 (Спецтехника, Белорусия). Перед проведением испытаний прибор проверяют по стандартным буферным растворам с pH 8.135 и 4.01 при температуре 20°C по прилагаемой к приборам инструкцией. По окончании проверки, электрод тщательно промывают дистиллированной водой, высушивают с помощью фильтровальной бумаги, затем погружают в предварительно подготовленные растворы красителя, и фиксируют значение pH.

2.4 Определения содержания основного красящего вещества в пищевых красителях

Определение основного красящего вещества исследуемых азокрасителей Е122 и Е124 проводят в соответствии с методикой [94], для красителя Е133, относящегося к красителям триарилметанового ряда – в соответствии с методикой [95]. Путем последовательного разбавления приготавливают ряд растворов исследуемых красителей и рассчитывают концентрацию основного красящего вещества в каждом из анализируемых красителей по следующей формуле:

$$X = \frac{A \cdot V \cdot V_1 \cdot V_3}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot d \cdot m \cdot V_2 \cdot V_4} \quad (16)$$

где A – оптическая плотность раствора В анализируемого красителя;

V – объем раствора А, см³;

V_1 – объем раствора Б, см³;

V_2 – объем раствора А, взятого на приготовление раствора Б, см³;

V_3 – объем раствора В, см³;

V_4 – объем раствора Б, взятого на приготовление раствора В, см³;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный коэффициент светопоглощения;

d – толщина поглощающего слоя, см ($d = 1$ см);

m – масса пробы анализируемого красителя, взятая для анализа, г.

Схемы приготовления растворов исследуемых азокрасителей Е122 и Е124 и красителя триарилметанового ряда Е133 представлены в таблице 2.1 и 2.2

Таблица 2.1 – Приготовление растворов красителей Е122 и Е124

Раствор А	Раствор Б	Раствор В
m (навески красителя) = 0.05 г	V_2 (аликвоты раствора А) = 1 см ³	V_4 (аликвоты раствора Б) = 1 см ³
V (колбы) = 50 см ³	V_1 (колбы) = 10 см ³	V_3 (колбы) = 10 см ³

Таблица 2.2 – Приготовление растворов красителя Е133

Раствор А	Раствор Б	Раствор В
m (навески красителя) = 0.05 г	V_2 (аликвоты раствора А) = 1 см ³	V_4 (аликвоты раствора Б) = 1 см ³
V (колбы) = 100 см ³	V_1 (колбы) = 25 см ³	V_3 (колбы) = 10 см ³

Контроль сходимости полученных измерений проводят на основании ГОСТ Р ИСО 5725–6–2002 [97], путем сравнения результатов двух параллельных определений массовой доли основного красящего вещества в каждом из исследуемых красителей с пределом повторяемости r :

$$|X_1 - X_2| \leq r \quad (17)$$

где $r = 2.8 \cdot \sigma_r$, σ_r – стандартное отклонение повторяемости.

Результат определения задает средний показатель двух параллельных определений $X_{\text{ср}}$, %, округленный до первого десятичного знака, если выполняется условие приемлемости (2): абсолютное количество разниц между результатами двух последовательных определений, полученных в условиях повторяемости при $P=95\%$, не превышает предела повторяемости $r = 0.60\%$ [95].

Массовая доля основного красящего вещества:

$$X_{\text{ср}} = \frac{X_1 + X_2}{2} \quad (18)$$

Анализ содержания основного красящего вещества в исследуемых пищевых добавках с учетом контроля, сходимость результатов анализа составили (Табл. 2.3):

Таблица 2.3 – Содержание основного красящего вещества в анализируемых пищевых добавках

Краситель	Номер пищевого красителя *	$E^{1\%}_{1\text{см}}$	λ , нм	Оптическая плотность		Содержание красителя в пищевой добавке, (%)			$r_{\text{абс.}}, \%$, при $P=95\%$, $n=2$ [28]
				A_1	A_2	X_1	X_2	$X_{\text{ср}}$	
Синий Блестящий	E133	1630	630	0.315	0.316	96.6	96.93	96.8	0.6
Кармуазин	E122	510	516	0.452	0.454	88.63	89.02	88.8	0.6
Понсо 4R	E124	430	505	0.362	0.364	84.19	84.65	84.4	0.6
* Номер красителя в соответствии с европейской кодификацией пищевых добавок									

В таблице 2.4 представлены исходные концентрации красителя, приготовленные при растворении навески в разных объемах дистиллированной воды.

Таблица 2.4 – Содержание красителей в приготовленных исходных растворах

Краситель	Содержание красителя в пищевой добавке, %	Навеска красителя, г	Объем дистиллированной воды, см ³	$C_{\text{(исходная красителя), мг/дм}^3}$
Синий Блестящий	96.8	0.05	100	967.8 ± 0.6
Кармуазин	88.8		50	493.1 ± 0.6
Понсо 4R	84.4			888.2 ± 0.6
				844.2 ± 0.6

Определение красителя в сиропе проводят путем построения градуировочного графика с использованием стандартных растворов. В 3 мерные пробирки вместимостью 5 см³ вносят 4.5 см³ разбавленного раствора сиропа и 0.5 см³ 10 М НСl, помещают ПММ, перемешивают в течение 1–45 мин. Для построения градуировочного графика исходный раствор красителя предварительно разбавляют в 10 раз. Для этого в колбу вместимостью 10 мл внесли 1 см³ красителя и довели объем раствора водой до метки. Затем в мерные пробирки вместимостью 5 см³ вносили 0; 0.01; 0.03; 0.05; 0.07; 0.1 мл разбавленного раствора красителя, по 0.5 см³ 10 М НСl, доводят объем раствора водой до метки, помещают ПММ, перемешивают в течение 1–45 мин.

Определение красителя в газированном напитке проводят путем построения градуировочного графика с использованием стандартных растворов. В 3 мерные пробирки вместимостью 5 см³ вносят 1 мл газированного напитка, 0.5 см³ 10 М НСl, доводят объем раствора водой до 5 см³, помещают ПММ, перемешивают в течении 15 мин.

Применение пищевых синтетических красителей в молочной промышленности связано с их взаимодействием между серой – и азо содержащими группами белками молочной основы. Метод Cloud point extraction (CPE) относится к жидкостной экстракции, заключающимся в добавлении к образцу раствора ПАВ в гидрофильном растворителе для разрушения связей ассоциатов. [98]. Можно отделить красителей от белковой матрицы и количественно перевести красителей в надосадочную жидкость, благодаря пробоподготовке методом CPE. Однако в этом случае, коагуляции белковых матриц приводит к потерям при выделении исследуемых компонентов.

Во время проведения пробоподготовки 50 см³ образцов молочного продукта вносят в колбу на 250 см³, затем последовательно прибавляют 1 мл 2М HCl, 10 мл 1 % неионогенного расствора ПАВ TritonX–100 (Sigma-Aldrich, CAS 9002–93–1). Колбу встряхивают на мульти-ротатор MultiBio RS-24 (Латвия) в течение 20 минут, затем стабилизируют в течение 10 минут. После чего происходит расслаивание компонентов, при этом состав красителя находится в жидкой фазе с ПАВ. При погружении пластинок в надосадочную жидкость на протяжении 20-ти минут снимают и сушат с помощью фильтрованной бумаги и регистрируют спектры поглощения, измеряя оптическую плотность (A) на спектрофотометре.

2.5 Методика исследование влияния pH растворов пищевых красителей на их экстракцию ПММ

Для исследования влияния pH среды на экстракцию красителей ПММ используют водные растворы красителей, подкисленные растворы красителей с различным содержанием HCl, а также растворы с добавлением 0.1 М раствора гидроксида натрия. Для этого в градуированные пробирки 5 см³ вносят аликвоты растворов красителей в разных объемах HCl с различной концентрации и 0.1 М раствор гидроксида натрия, доводят объем дистиллированной водой до метки, после чего, в приготовленные растворы опускают пластины ПММ. После этого раствор с пластинами смешивают на электромеханическом вибросмесителе в течение определенного времени (1 час) и сушат готовые пластины между листами фильтровальных бумаг. После, измеряют спектры растворов красителей до и после контакта с пластинами ПММ и спектры поглощения матриц, модифицированных исследуемыми красителями при длинах волн, соответствующих максимумам их светопоглощения.

2.6 Оценка эффективности экстракционного извлечения исследуемых красителей ПММ

Для оценки эффективности экстракции используют коэффициенты распределения (D), коэффициенты концентрирования (K) и степеням извлечения (R) красителей, а также проводят исследование в зависимости этих веществ от pH растворов красителей.

Для расчета основных количественных характеристик экстракции используют уравнения:

$$D = \left[\frac{C_0 - C}{C} \right] \cdot \left(\frac{V_B}{V_{\text{пластины}}} \right) \quad (17)$$

$$R = \left(\frac{C_0 - C}{C} \right) \cdot 100 \quad (18)$$

$$K = \left(\frac{C_{\text{пластины}}}{C_0} \right) \quad (19)$$

$$C_{\text{пластины}} = \left(\frac{(C_0 - C) \cdot V_B \cdot \rho_{\text{пластины}}}{m_{\text{пластины}}} \right) \quad (20)$$

где C_0 и C – концентрации раствора красителя до и после экстракции, мг/дм³;

$C_{\text{красителя в ПММ}}$ – концентрация красителя в ПММ после экстрагирования, мг/дм³;

V_B – объем водной фазы красителя, см³,

$V_{\text{пластины}}$ – объем пластины, см³.

Для определения объема пластины ПММ проводят замеры ее длины, ширины и высоты.

Объем пластины рассчитывают по формуле:

$$V = h \cdot b \cdot l \quad (21)$$

где h – высота пластинки, см;

b – ширина пластинки, см;

l – длина пластинки, см.

Зная взаимосвязь величины плотности от массы и объема:

$$\rho = \frac{m_{\text{пластины}}}{V_{\text{пластины}}} \quad (22)$$

где $m_{\text{пластины}}$ – масса пластины, г

$V_{\text{пластины}}$ – объем пластины, см^3

предварительно экспериментально рассчитывают среднюю плотность пластин.

Для этого, 5 пластин ПММ помещают в пластиковую пробирку на 25 см^3 , доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают на электромеханическом вибросмесителе в течение определенного времени (1 час). После чего, высушенные готовые пластины взвешивают, измеряют их геометрические характеристики, рассчитывают объем и соответствующие им плотности (Табл. 2.5).

Таблица 2.5 – Расчет усредненной плотности пластин ПММ

масса, г	b, см	ℓ, см	h, см	$V_{\text{ср}}, \text{см}^3$	$\rho, \text{г/см}^3$	$\rho_{\text{ср}}, \text{г/см}^3$
0.0311	0.558	0.709	0.0534	0.0211	1.4739	$1.46 \pm 0,02$
0.0319	0.547	0.730	0.0543	0.0217	1.4701	
0.0302	0.545	0.723	0.0539	0.0212	1.4245	
0.0319	0.556	0.729	0.0541	0.0219	1.4566	
0.0315	0.557	0.719	0.0540	0.0216	1.4583	

Определение зависимости эффективности экстракционного извлечения от pH растворов красителей проводят из их растворов объемом 5 см^3 . экспериментальные данные приведены в таблицах 2.6 и 2.7.

Таблица 2.6 – Расчет объема пластинок ПММ после контакта с раствором азокрасителя при разном значении pH

pH	m, г	$V_{\text{ср}}, \text{см}^3$
6	0.0342	0.0235
3	0.0345	0.0237
2	0.0326	0.0224
0.9	0.0339	0.0233
0.7	0.0348	0.0239
0.3	0.0351	0.0241
0.2	0.0359	0.0246
$C_{(\text{HCl})} 2.4\text{M}$	0.0391	0.0268
$C_{(\text{HCl})} 4.7\text{M}$	0.0413	0.0284

Таблица 2.7 – Расчет объема пластинок ПММ после контакта с раствором трифенилметанового при разном значении рН

рН	m, г	$V_{\text{ср}}, \text{см}^3$
5	0.0295	0.0203
3	0.0306	0.02101
2	0.0409	0.0281
1	0.0334	0.0229
0.7	0.0301	0.0207
0.4	0.0308	0.0211
0.2	0.0324	0.0222
0.1	0.0351	0.0241
$C_{(\text{HCl})} 2\text{M}$	0.0392	0.0268
$C_{(\text{HCl})} 4\text{M}$	0.0394	0.02704

2.7 Исследование влияния условий определения красителя в ПММ

Важным фактором сорбционного процесса является время контакта ПММ с раствором красителя. Получают зависимости оптической плотности пластины ПММ после контакта с растворами исследуемых красителей при разном времени контакта.

При выбранных значениях рН растворов, при которых достигаются максимумы светопоглощения красителей, исследуют влияние времени контакта ПММ с растворами пищевых красителей в виде зависимостей оптических плотностей пластин ПММ после контакта с раствором красителей от концентрации красителей при разном времени контакта.

Предварительно готовят рабочий раствор красителя E133. Для этого, в колбу на 100 см³ отбирают аликвоту 20 см³ раствора исследуемого красителя исходной концентрации ($C(\text{E133}) = 493.1 \text{ мг/дм}^3$). Концентрация рабочего раствора составляет: 98.6 мг/дм³.

В градуированные пробирки объемом 25 см³ вносят аликвоты рабочих раствора 0.3 - 3.8 см³ красителя E133, а также аликвоты исходных концентраций красителей E122 ($C(\text{E122}) = 888,2 \text{ мг/дм}^3$) 0,05 - 0,47 см³ и E124 ($C(\text{E124}) = 844,2$

мг/дм³) 0.05–0.45 см³. Затем добавляют определенные объемы 1 М НСl, подобранные таким образом, чтобы достигалась максимальная интенсивность сигнала, и доводят дистиллированной водой до 5 см³. Опускают в приготовленные растворы пластинки ПММ и устанавливают разное время контакта ПММ с раствором красителя – 5, 15, 30 и 45 мин. Для сравнения коэффициентов чувствительности определения красителей в виде тангенса угла наклона, при тех же концентрациях, проводят спектрофотометрирование растворов красителей в 1 мм кювете.

Исследуют влияние скорости перемешивания пластин ПММ с раствором красителя на чувствительность его определения, рассмотренное на примере красителя Синего Блестящего. Для этого, во время контакта пластин ПММ с раствором красителя равным 5 мин, строят градуировочные зависимости определения красителя при разной скорости вращения пластин ПММ с раствором красителя.

В градуированные пробирки объемом 25 см³ помещают аликвоты раствора красителя с заданными концентрациями, оптимальный рН создают добавлением 1М раствора НСl, общий объем анализируемого раствора составляет 5 см³. В приготовленные растворы опускают пластины ПММ, устанавливают время контакта пластин ПММ с раствором красителя равным 5 мин при разной скорости перемешивания (25, 50, 75 и 100 об/мин). После чего пластины вытаскивают, высушивают между листами фильтровальной бумаги и проводят спектрофотометрирование пластин при A_{630} .

Проведено исследование влияния объема пробы на чувствительность определения исследуемого красителя Понсо 4R в газированном напитке „Ирбис”. Предварительно готовят рабочий раствор, для чего в колбу 10 см³ отбирают аликвоту 1 см³ раствора исследуемого красителя Е124 исходной концентрации 844.2 мг/дм³. Аликвоты полученного раствора 4.5; 14.0; 23.0 см³ переносят в градуированные пробирки, вместимостью 25 и 50 см³, создают оптимальный рН, при котором достигается максимальная сорбция данного красителя, 10М НСl. Общий объем анализируемых растворов составляет 5, 15 и 25 см³. В

приготовленные растворы опускают пластины ПММ, время контакта пластин с анализируемыми растворами составляет 30 мин. После чего, пластины высушивают и проводят спектрофотометрическое определение красителя в фазе экстрагента. Определение красителя в анализируемом объекте проводят путем градуировочным графиком, построенным по методу стандартных растворов.

Глава 3. Исследование физико–химических закономерностей твердофазной экстракции

3.1 Влияние pH растворов красителей на их экстракцию и спектры поглощения в ПММ

Одним из самых важных факторов, влияющих на сорбцию красителя в ПММ, является кислотность среды. В зависимости от pH среды, различные красители могут существовать в растворе в нескольких заряженных формах иона. В водном растворе краситель находится в большинстве в форме биполярного иона $[H_2R]^{\pm}$ и в небольшом количестве в виде двухзарядного аниона $[H_3R]^+$, т.к. на спектре присутствует два максимума: при длине волны в 638 нм и 419 нм.

Для красителя E131 характерно изменение спектра поглощения и цвета пластинки при изменении pH среды раствора (рис. 3.1, 3.2).

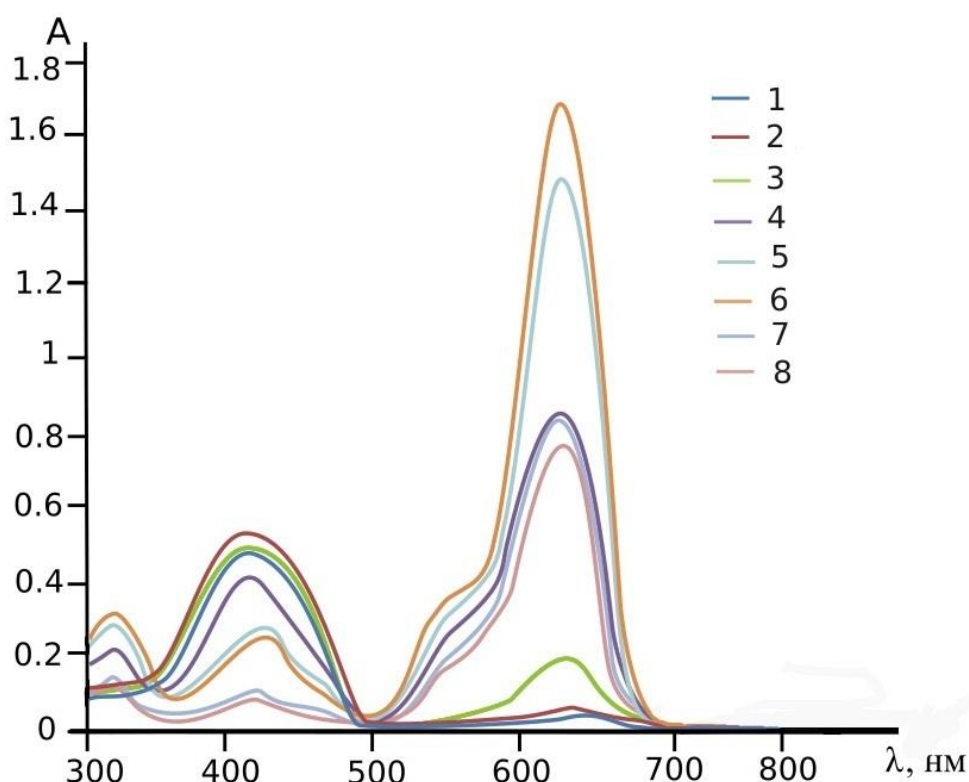


Рисунок 3.1 – Спектры поглощения E131 в ПММ при различных pH: 1 – 0.1; 2 – 0.2; 3 – 0.7; 4 – 1.1; 5 – 1.4; 6 – 2; 7 – 5; 8 – 12

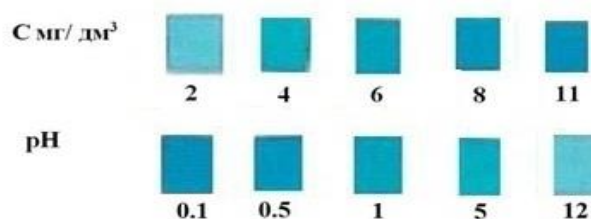


Рисунок 3.2 – Цветовая шкала ТФЭ E131 в ПММ от концентрации красителя при $pH < 1$ (0.8) и различных значениях pH , $C = 1 \text{ мг/дм}^3$

В слабо-щелочных, кислых средах краситель присутствует, по большей части, в форме биполярного аниона $[H_2R^{\pm}]$. С увеличением кислотности среды происходит протонирование иона красителя и уже в сильно-кислой среде краситель приобретает форму однозарядного катиона $[H_3R^+]$. Коэффициентом светопоглощения данного синтетического красителя для одной формы – $[H_2R^{\pm}]$, равен при длине волны 638 нм. Необходимо определить второй коэффициент светопоглощения красителя E131 при длине волны 419 нм. Для этого построена зависимость концентрации красителя, который находится в форме $[H_3R^+]$ от оптической плотности растворов (рис.3.1). На графике определили уравнение данной зависимости и полученный коэффициент при x равен коэффициенту светопоглощения $E = 581\%/\text{см}$ (рис.3.3).

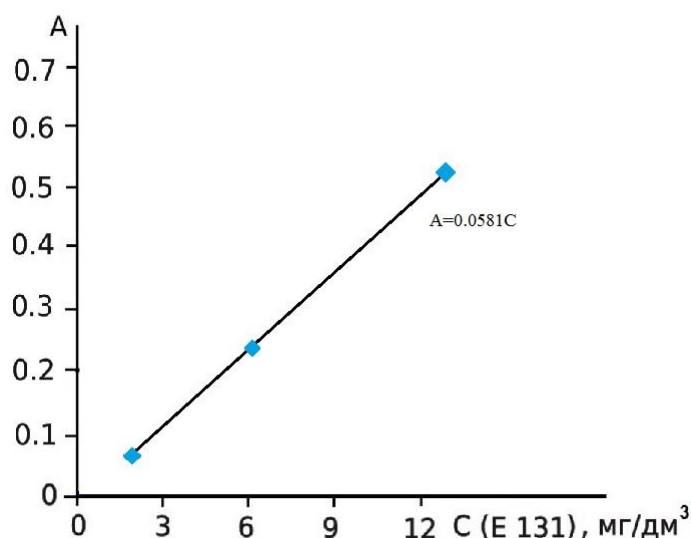


Рисунок 3.3 – Зависимость от концентрации красителя в форме $[H_3R^+]$

Кислотность растворов влияет не только на состояние аналита, но и на сорбцию красителя в ПММ. Извлечение красителя происходит во всей области pH ,

но с разной чувствительностью, при проведении сорбции красителя E131. Так, хуже всего проходит в сильно - кислых средах. Это связано с тем, что, как можно заметить из спектров поглощения (рис. 3.1), сорбируется краситель по большей части в форме бикатиона, так как в сильно-кислых средах данная форма практически отсутствует, то данная область рН для сорбции не годится. Также плохо извлекается краситель в области нейтральных и щелочных сред.

Эти данные также подтверждает зависимость оптической плотности красителя от рН раствора. На ней мы видим отчетливо максимумы в кислой области (рис. 3.4).

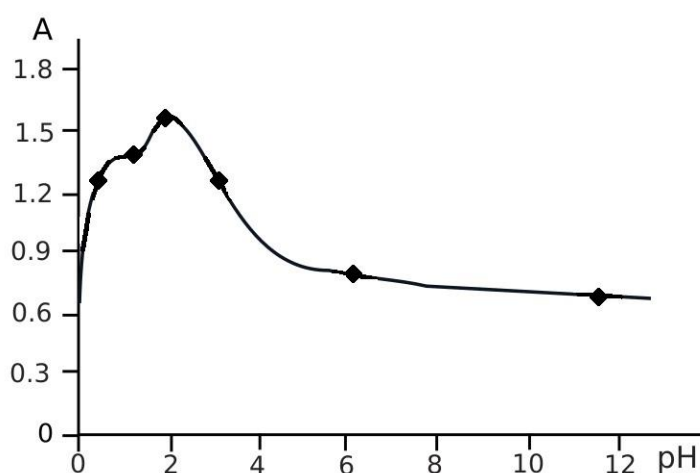


Рисунок 3.4 – Зависимость поглощения ПММ от рН ТФЭ красителя E131

Таблица 3.1 – Значения сорбированного вещества (а, мг/л), степени сорбции красителя (R,%) и коэффициент распределения (D, см³/г).

рН	а, мг/л	R, %	D, см ³ /г
0.194	0.057013	20.39676	29.31697
0.711	0.946935	12.1335	18.60122
1.132	2.440651	18.41496	26.06407
1.401	1.809688	23.09237	43.76984
2.009	0.26612	30.03777	50.63003
5.051	0.044481	10.81613	17.67915
12.001	0.242117	2.990431	4.493606

Из таблицы видно, что максимальная степень извлечения красителя не превышает 30%. По данным, представленным в данном пункте, выбрана область рН раствора для последующего эксперимента от 1 до 3. Спектры поглощения

водных растворов красителя E133 с концентрацией 10 мг/дм^3 и шкалы при различных значениях pH среды представлены на рис. 3.5 и рис. 3.6.

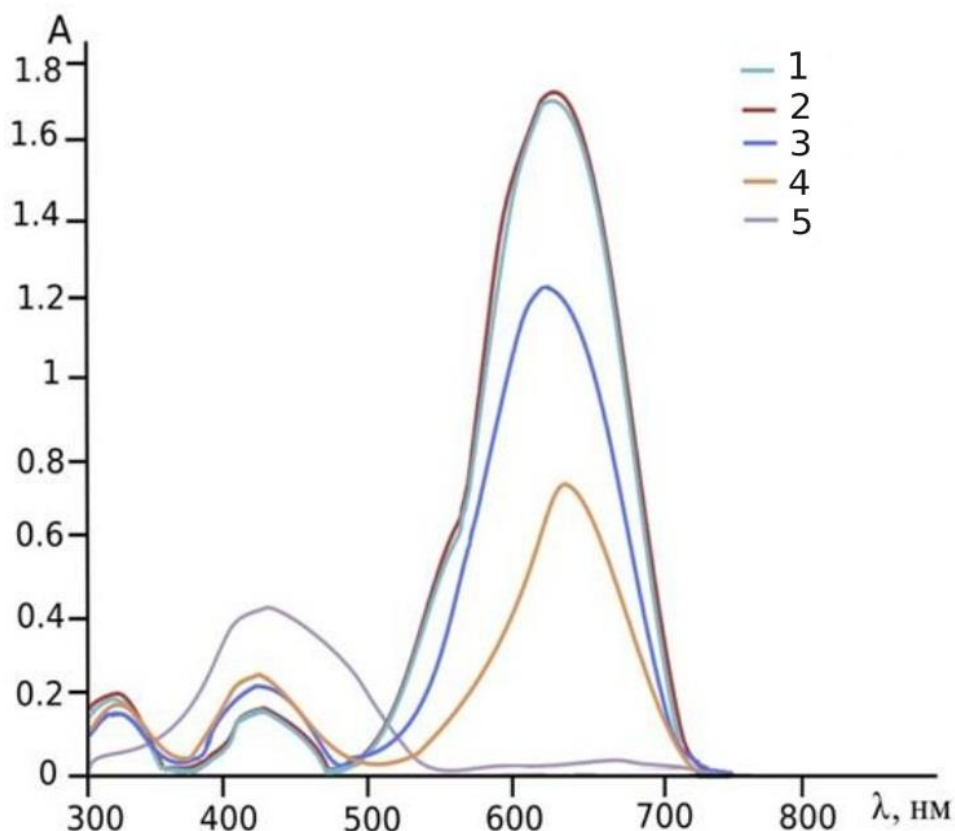


Рисунок 3.5 – Спектры поглощения E133 в ПММ при различных pH: 1–12; 2–5; 3–1; 4 – 0.5; 5 – 0.1.

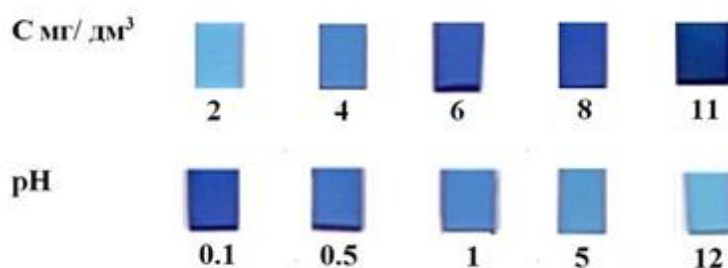


Рисунок 3.6 – Цветовая шкала ТФЭ E133 в ПММ от концентрации красителя при $\text{pH} < 1$ (0.5) и различных значений pH, $C = 1 \text{ мг/дм}^3$

Проведенное исследование, влияния кислотности среды в широком ее диапазоне на светопоглощение водных растворов пищевого красителя Синего Блестящего показало, что в указанном диапазоне pH среды во всем исследуемом интервале длин волн регистрируются полосы поглощения различной

интенсивности. Присутствует одна широкая полоса с максимумом поглощения при 430 нм, в сильно-кислой среде (С HCl 4 М) на приведенном спектре красителя E133 (Рис.3.5). На спектре при pH 0,5 появляется новая полоса с максимумом поглощения при 630 и 410 нм, заметно уменьшается интенсивность полосы поглощения при 430 нм. В щелочной среде (pH 12) достигается максимальная интенсивность длинноволновой полосы с максимумом при 630 нм, полоса поглощения при 430 нм на спектре не наблюдается.

Согласно литературным данным [99] в водном растворе в зависимости от pH среды краситель E133 может находиться в пяти ионных формах, которые существуют в кислотно-основном равновесии друг с другом.

Предложена схема [100] кислотно-основного равновесия ионных форм исследуемого красителя E133, представленная на рисунке 3.7.

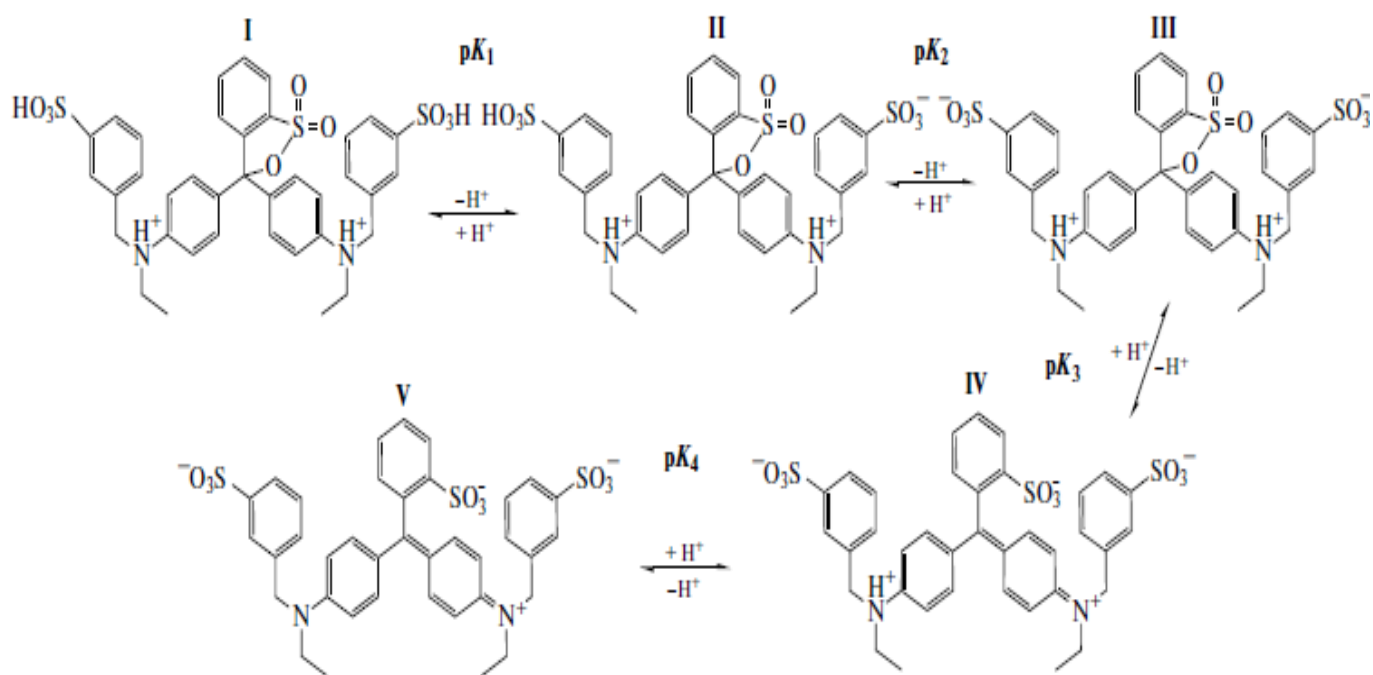


Рисунок 3.7 – Механизм равновесия ионных форм красителя Синего Блестящего E133 [100]

Константы ионизации, ионные формы и pH переходы исследуемого красителя E133 приведены в таблице 3.2.

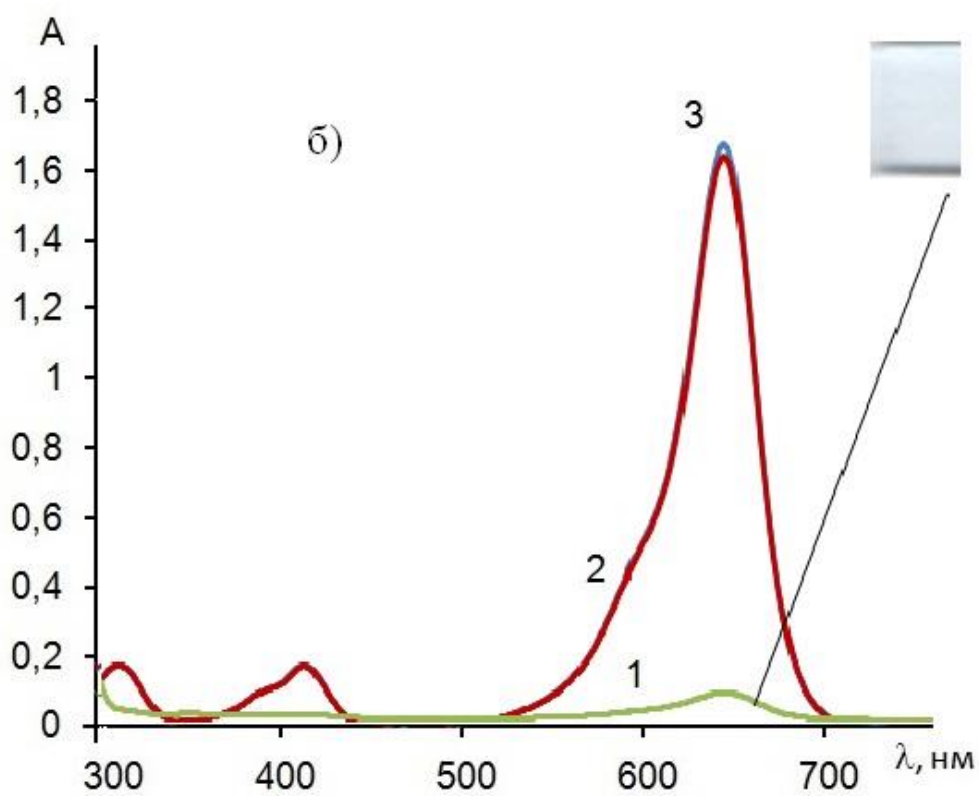
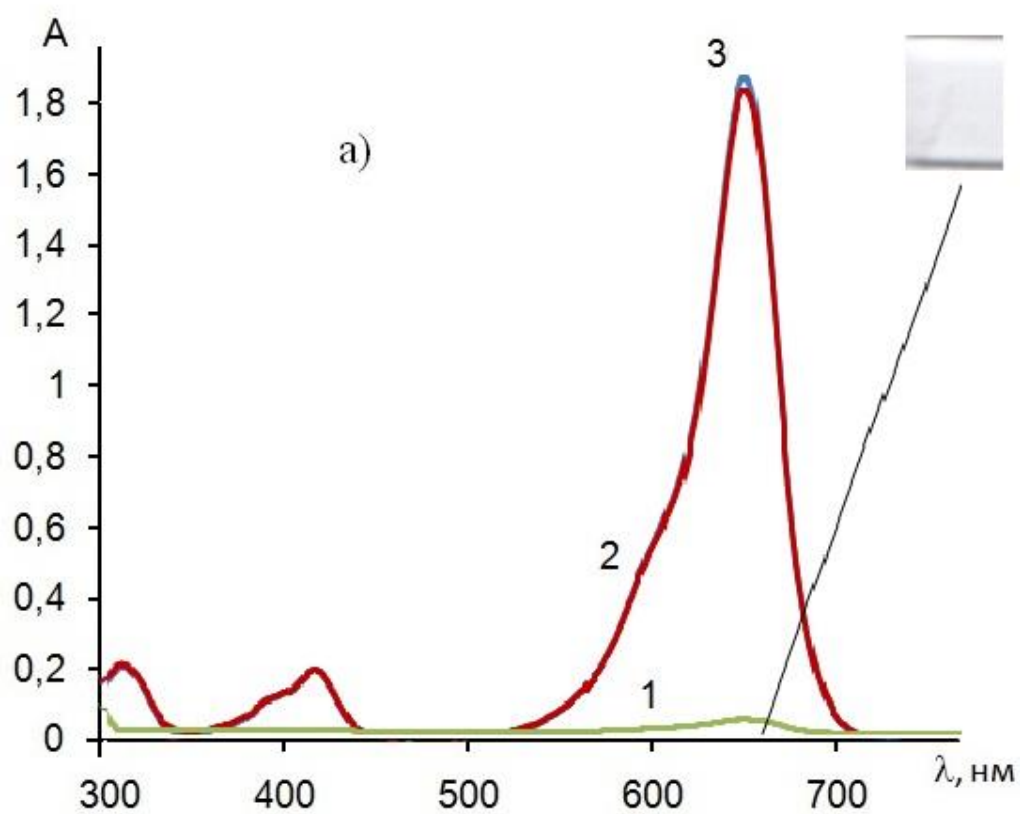
Таблица 3.2 – Константы ионизации, ионные формы и pH переходы красителя E133 в водных растворах [100]

pKa	pKa ₁	pKa ₂	pKa ₃	pKa ₄
	–	1.93	7.58	9.87
Форма красителя	$\text{H}_4\text{R}^{2+} \xrightleftharpoons{K_{a1}} \text{H}_3\text{R}^+ + \text{H}^+$	$\text{H}_3\text{R}^+ \xrightleftharpoons{K_{a2}} \text{H}_2\text{R}^\pm + \text{H}^+$	$\text{H}_2\text{R}^\pm \xrightleftharpoons{K_{a3}} \text{HR}^- + \text{H}^+$	$\text{HR}^- \xrightleftharpoons{K_{a4}} \text{R}^{2-} + \text{H}^+$
pH переход	0 – 1	1 – 4	4 – 6	6 – 8

Согласно приведенной схеме (Рис.3.6), в сильнокислой среде краситель E133 находится в дипротонированной лактонной форме H_4R^{2+} (I). При увеличении pH среды происходит диссоциация сульфогрупп, что приводит к образованию монопротонированной формы H_3R^+ (II) и образованию нейтральной формы – биполярного иона $\text{H}_2\text{R}^\pm$ (III). В нейтральной и слабощелочной среде наблюдается дальнейшая диссоциация сульфогрупп, а также депротонизация одного из аммонийных атомов азота, при которой лактонный цикл разрывается и образуется однозарядный анион HR^- (IV). Дальнейшее увеличение pH способствует отрыву второго протона у аммонийного атома азота, что способствует образованию двухзарядного аниона R^{2-} (V). Нейтральная форма красителя E133, соответствующая биполярному иону $\text{H}_2\text{R}^\pm$ (III), является доминирующей в широком диапазоне pH (0 – 8). Также получены спектры поглощения красителя E133 концентрацией 10 мг/дм³ в ПММ и в растворе до и после контакта с ней при разных значениях pH (Рис. 3.7)

Из спектров растворов красителя E133 (Рис. 3.5) видно, что при разных значениях pH среды максимумы и интенсивность светопоглощения растворов исследуемого красителя до и после контакта с ПММ практически не изменяются, однако, сорбционная способность ПММ по отношению к данному красителю значительно возрастает в кислой среде. В таблице 3.3 представлены экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик в зависимости от pH при контакте пластин ПММ с раствором красителя E133 концентрацией 10 мг/дм³ объемом 5 см³.

1 — Пластины ПММ 2 — Раствор до контакта 3 — Раствор после контакта



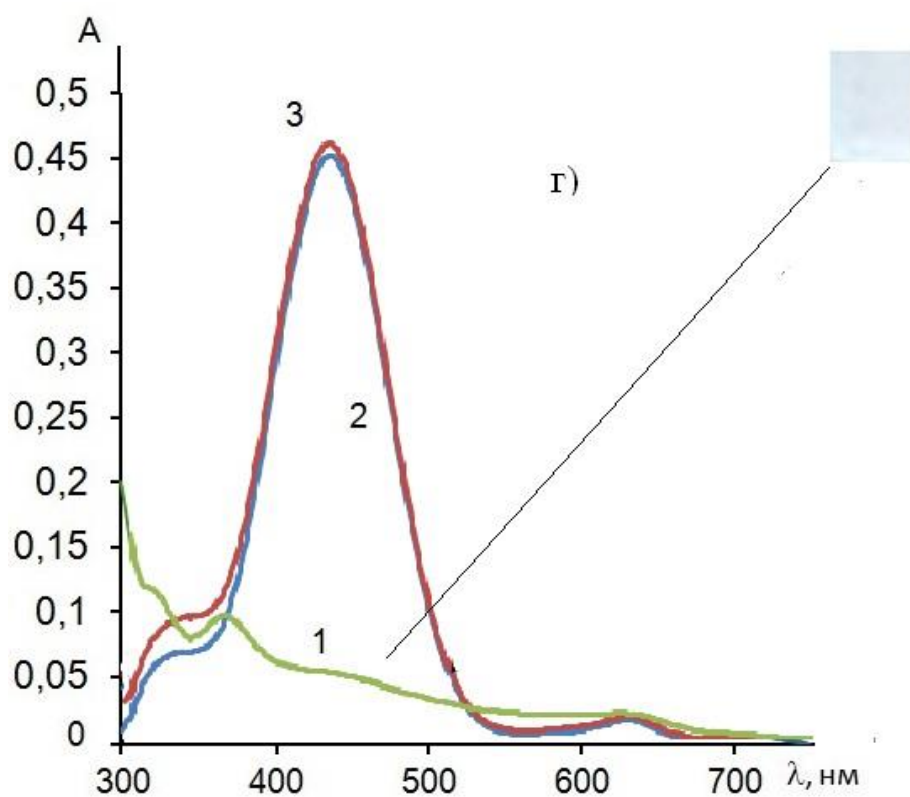
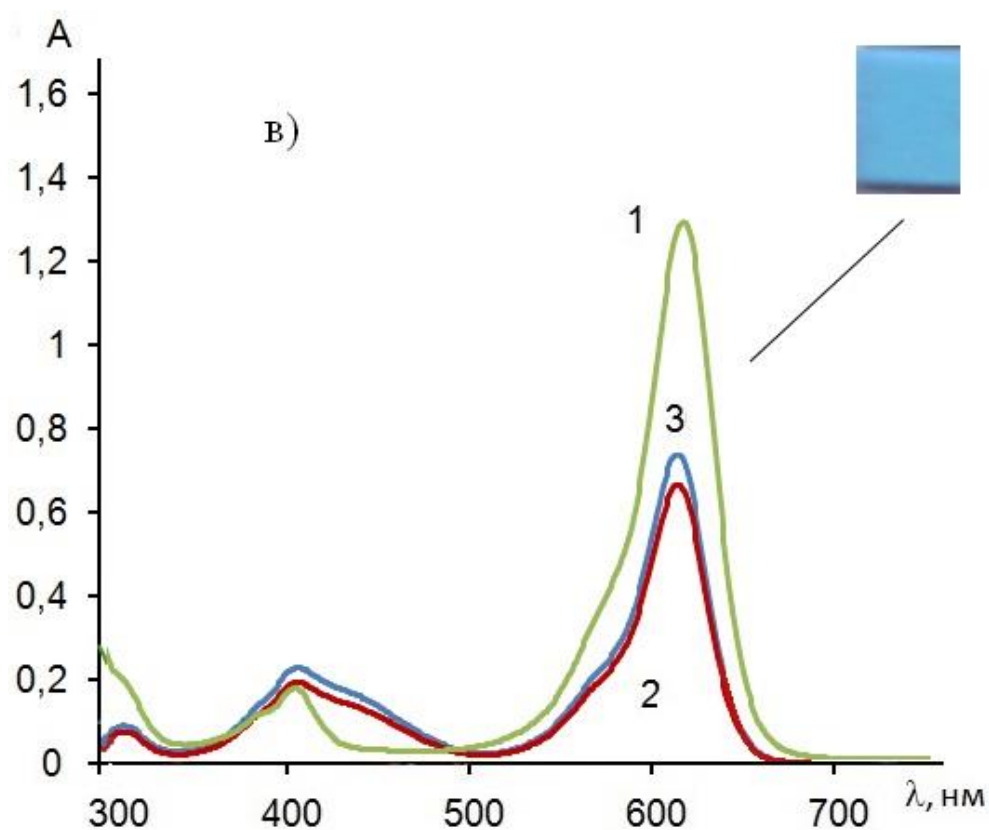


Рисунок 3.8 – Спектры поглощения красителя E133 концентрацией 10 мг/дм^3 в ПММ и в растворе до и после контакта с ней при разных значениях pH: а) pH 12; б) pH 5; в) pH 0,5; г) pH 0,1

Таблица 3.3 – Экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик красителя E133 при различных значениях pH среды

pH	m _{пластин} , Г	C _{E133} исходная в растворе, мг/дм ³	C _{E133} равновесная, мг/дм ³	C _{E133} , сорбированного в ПММ, мг/дм ³
11.87	0.0275	10.4	10.3	20.7
5.45	0.0287	10.6	10.4	44.21
3.22	0.0269	10.3	10.1	37.9
2.47	0.0289	10.2	9.3	233.12
1.22	0.0272	10.1	8.8	338.4
0.53	0.0292	9.7	8.5	313.8
0.29	0.0293	9.7	8.7	265.17
0.21	0.0281	9.6	8.5	272.7
0.04	0.0312	9.4	8.6	176.01

В сильноокислой области pH при C_{HCl} 10 М сорбция красителя E133 ПММ не наблюдается

Ионные формы красителя E133 в растворе и в ПММ, их окраска, а также экстракционные характеристики исследуемого красителя при разном значении pH среды представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Ионные формы и окраска красителя E133 в растворе и в ПММ, экстракционные характеристики при разном значении pH

pH	Раствор красителя		ПММ		а, мг/г	R, %	D	K
	Окраска	Форма	Окраска	Форма				
12	зеленая	$H_2R^{\pm}$ HR^{-}	плохо сорбируется		0.01	1	2	2
5	синяя	$H_2R^{\pm}$	синяя	$H_2R^{\pm}$	0.03	2	4	4
3					0.03	1	4	4
2					0.16	9	25	23
1					0.23	13	39	34
0.5	синяя	$H_2R^{\pm}$ H_3R^{+}	синяя	$H_2R^{\pm}$	0.22	13	37	32
0.3					0.18	11	31	27
0.2					0.19	11	32	29
0.7M HCl					0.12	8	20	19
4M HCl	желтая	H_3R^{+}	плохо сорбируется		0.03	2	4	5

Следует отметить, что pH среды влияет не только на кислотно-основное равновесие в таблице 3.5, представлены экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик в зависимости от pH при контакте пластин ПММ с раствором красителя E133 концентрацией 10 мг/дм³ объемом 5 см³.

Таблица 3.5 – Экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик красителя E133 при различных значениях pH среды

pH	m _{пластин} , г	C _{E133} исходная в растворе, мг/дм ³	C _{E133} равновесная, мг/дм ³	C _{E133} , сорбированного в ПММ, мг/дм ³
11.87	0.0275	10.4	10.3	20.7
5.45	0.0287	10.6	10.4	44.21
3.22	0.0269	10.3	10.1	37.9
2.47	0.0289	10.2	9.3	233.12
1.22	0.0272	10.1	8.8	338.4
0.53	0.0292	9.7	8.5	313.8
0.29	0.0293	9.7	8.7	265.17
0.21	0.0281	9.6	8.5	272.7
0.04	0.0312	9.4	8.6	176.01

В сильноокислой области pH при C_{HCl} 10 М сорбция красителя E133 ПММ не наблюдается

Ионные формы красителя E133 в растворе и в ПММ, их окраска, а также экстракционные характеристики исследуемого красителя при разном значении pH среды представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Ионные формы и окраска красителя E133 в растворе и в ПММ, экстракционные характеристики при разном значении pH

рН	Раствор красителя		ПММ		а, мг/г	R, %	D	К		
	Окраска	Форма	Окраска	Форма						
12	зеленая	$H_2R^{\pm}$ HR^{-}	плохо сорбируется		0.01	1	2	2		
5	синяя	$H_2R^{\pm}$	синяя	$H_2R^{\pm}$	0.03	2	4	4		
3					0.03	1	4	4		
2					0.16	9	25	23		
1					0.23	13	39	34		
0.5	синяя	$H_2R^{\pm}$ H_3R^{+}			синяя	$H_2R^{\pm}$	0.22	13	37	32
0.3							0.18	11	31	27
0.2							0.19	11	32	29
0.7M HCl							0.12	8	20	19
4M HCl	желтая	H_3R^{+}	плохо сорбируется				0.03	2	4	5

Следует отметить, что pH среды влияет не только на кислотно-основное равновесие ионных форм красителя, но и на заряд на поверхности самой ПММ.

На основании полученных экспериментальных данных, предположены два возможных механизма сорбции исследуемого красителя ПММ в зависимости от pH среды.

По одному из предполагаемых механизмов, наблюдаемую нами, хорошую сорбционную способность ПММ в кислой среде раствора можно объяснить тем, что в данном диапазоне pH в динамическом равновесии сосуществуют две ионные

формы исследуемого красителя E133: биполярный ион $H_2R^\pm$ и однозарядный катион H_3R^+ . Сама ПММ в своей структуре содержит карбонильные функциональные группы, имеющие частично отрицательный заряд. Таким образом, происходит сорбция положительно заряженных форм красителя, находящихся в растворе, отрицательно заряженной поверхностью ПММ. На спектре красителя в ПММ (Рис.3.7 в) наблюдается полоса поглощения средней интенсивности при 410 нм, а также длинноволновая полоса с максимумом при 630 нм, соответствующие форме $H_2R^\pm$. Однако, отсутствует полоса поглощения при 430 нм, соответствующая форме H_3R^+ , что свидетельствует о том, что сорбируется краситель преимущественно в форме биполярного иона.

Второй возможный механизм сорбции основан на том, что в кислых средах раствора красителя E133, где превалирует достаточное количество протонов, карбонильные группы способны подвергаться протонизации, за счет этого поверхность ПММ становится положительно заряженной. Таким образом, происходит сорбция $H_2R^\pm$ формы красителя E133 положительно заряженной поверхностью ПММ, что проиллюстрировано на спектре красителя в ПММ (Рис.3.8 в).

В сильноокислых средах, где концентрация протонов становится максимальной, сорбция практически не наблюдается, так как краситель находится в форме H_3R^+ и сама пластина заряжена положительно. На рис. 3.8 (г) это подтверждается отсутствием длинноволновой полосы поглощения при 630 нм 410 нм, максимум поглощения при 430 нм смещается на 65 нм в коротковолновую область – наблюдается гипсохромный эффект.

В водном растворе, исследуемый краситель находится в виде биполярного иона $H_2R^\pm$, однако, вследствие недостаточного протонирования поверхность пластины ПММ оказывается слабо заряженной, поэтому сорбционная способность ПММ незначительна (Рис.3.8 б).

При повышении pH, увеличивается число гидроксильных групп, поверхность пластины ПММ не заряжена. Вследствие диссоциации сульфогрупп и разрыва лактонного цикла в данной среде краситель сосуществуют в динамическом

равновесии в виде одно- (HR^-) и двухзарядного аниона (R^{2-}), сорбция практически не наблюдается (Рис.3.8 а).

На основании экспериментальных данных построены зависимости оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E133 от pH среды, а также от концентрации HCl (Рис. 3.9,3.10).

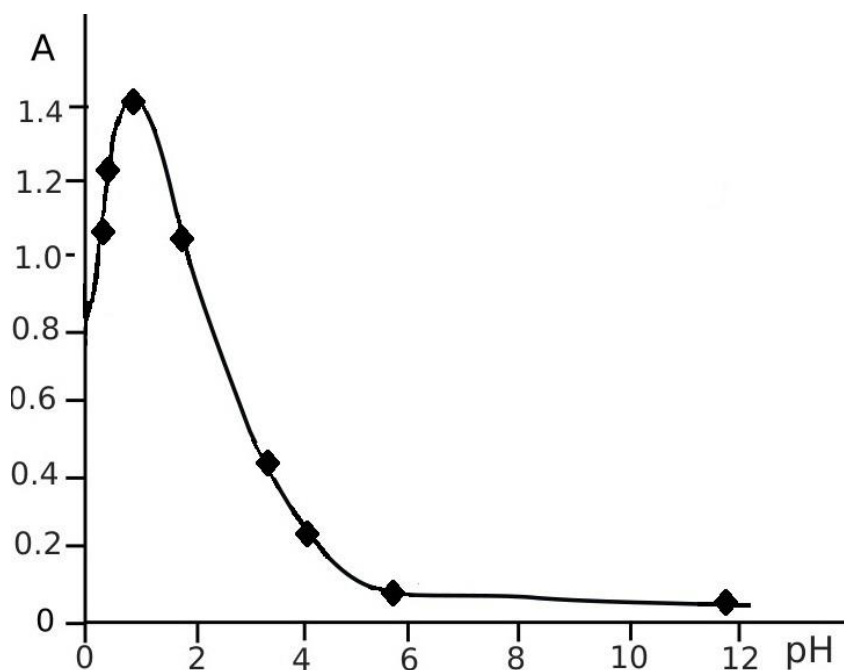


Рисунок 3.9 – Зависимость оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E133 от pH среды

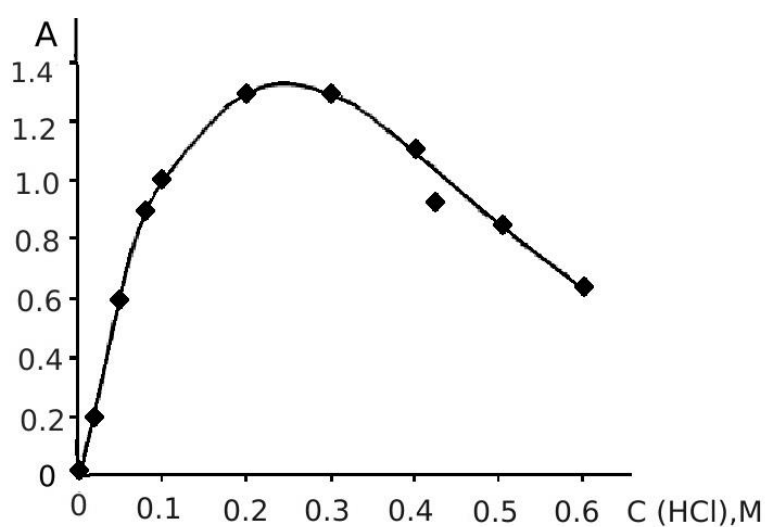


Рисунок 3.10 – Зависимость оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E133 от концентрации HCl

Установлено, что для красителя E133 максимальная экстракция наблюдается при pH 0.5, что соответствует концентрации кислоты 0.2 М. С увеличением pH среды сорбция уменьшается, поэтому для дальнейшего исследования экстракции красителя E133 ПММ выбран pH 0.5.

3.2 Влияние времени контакта на экстракцию красителей E131 и E133 ПММ

Время контакта ПММ с анализируемым раствором, позволяет оптимизировать цвет пластинки для визуального определения красителя или оптическую плотность для спектрофотометрического определения. Как правило, с увеличением времени контакта количество экстрагируемого вещества в объеме ПММ возрастает вплоть до достижения предела сорбционной емкости, после чего выходит на плато (рис. 3.11, 3.12). Для визуального определения этот предел характеризуется отсутствием изменением насыщенного цвета красителя в матрице (рис.3.13,3.14).

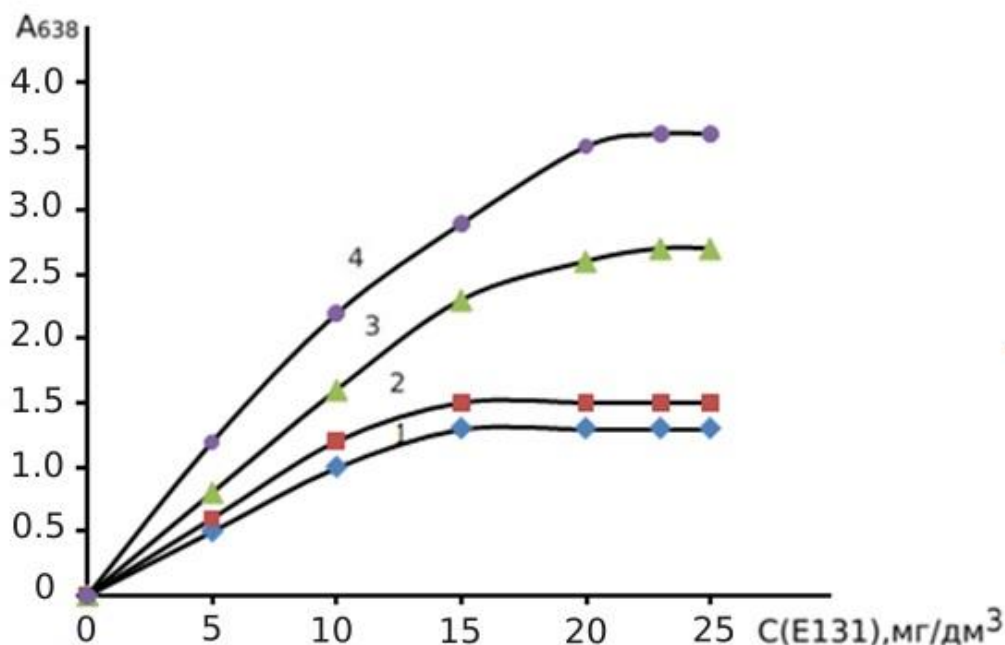


Рисунок 3.11 – Зависимость аналитического сигнала от концентрации красителя E131 в растворе при контакте 1– 5; 2–15; 3–30; 4–45 мин

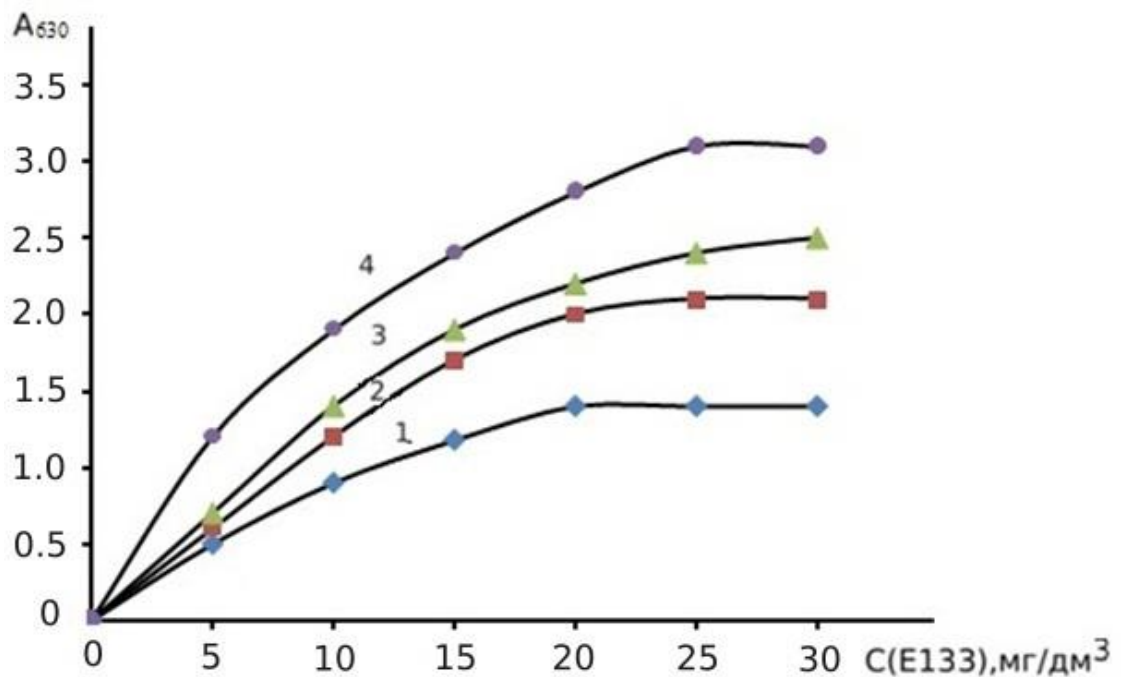


Рисунок 3.12 – Зависимость аналитического сигнала от концентрации красителя E133 в растворе при контакте 1– 5; 2–15; 3–30; 4–45 мин

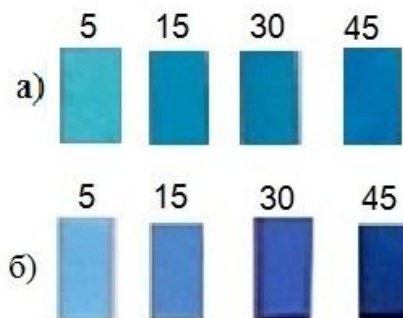


Рисунок 3.13 – ПММ после сорбции красителя E131(а), E133(б) в зависимости от времени контакта, мин

Из данных, представленных выше, можно сделать вывод о том, что с увеличением времени контакта растворов красителя с ПММ увеличивается чувствительность. Также можно заметить, что с уменьшением длительности контакта увеличивается диапазон линейности (рис.3.15). При времени контакта в 5 и 15 мин наблюдаются линейные зависимости, в то время как при 30 и 45 минутах зависимости обретают полиномиальный характер.

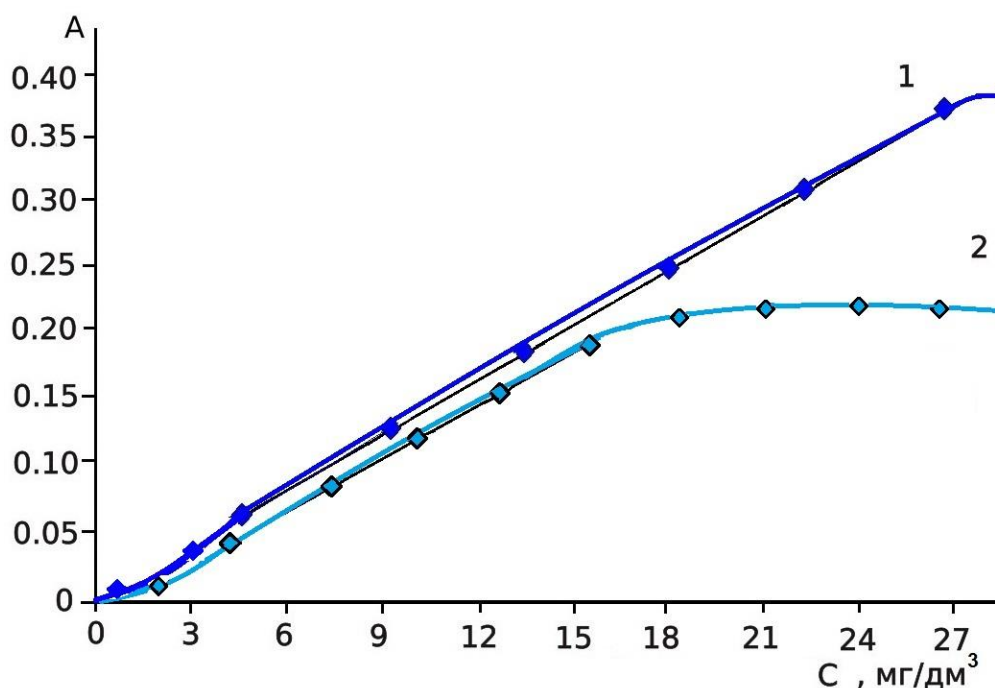


Рисунок 3.14 – Градуировочные зависимости трифенилметановых красителей E133–1; E131–2 в ПММ

При увеличении времени контакта ПММ с раствором наблюдается пересыщение красителя в матрице, откуда возникает разброс значений на градуировочных зависимостях. Дальнейший эксперимент проводили при времени контакта ПММ с раствором красителя равным 15 мин.

Влияние времени контакта ПММ с раствором красителя на его экстракцию при оптимальном pH исследуют путем построения зависимостей поглощения красителей в ПММ от их концентрации в растворе. Для времени контакта 15 мин диапазон линейности находится в широкой области концентрации. При увеличении времени контакта диапазон сокращается. В определенной области концентраций кривые красители E131 и E133 имеют линейный начальный участок, что отражено на рисунке 3.14 и указывают на постоянство распределения растворенного вещества между сорбентом и раствором красителя.

Таблица 3.7– Метрологические характеристики определения E131 и E133

Краситель	Уравнение градуировочной зависимости	r	ДОС, мг/дм ³	ПО, мг/дм ³
E131	$A = 0.0468 \cdot C_{E131} + 0.075$	0.9930	0.2 – 15.0	0.08
E133	$A = 0.0550 \cdot C_{E133} + 0.038$	0.9953	0.1 – 25.0	0.04

3.3 Влияние скорости перемешивания на экстракцию исследуемых красителей ПММ

Влияние скорости перемешивания пластин ПММ с раствором красителя проведено на примере красителя Синего Блестящего (E133). Построены градуировочные зависимости определения Синего Блестящего при разной скорости вращения пластин ПММ с раствором красителя (25, 50, 75 и 100 об/мин) при времени контакта равным 5 мин. В таблице 3.8 представлены результаты градуировочных характеристик определения красителя E133 при разной скорости перемешивания.

Таблица 3.8 – Градуировочные характеристики определения красителя E133 при разной скорости перемешивания

Скорость перемешивания v , об/мин	Коэффициент чувствительности (b)	Стандартная ошибка определения коэффициента чувствительности (b)	Коэффициент корреляции (R)
25	0.031	0.002	0.9829
50	0.034	0.002	0.9873
75	0.035	0.002	0.9908
100	0.032	0.001	0.9855

Из приведенной таблицы 3.8 видно, что с увеличением скорости перемешивания пластин ПММ с раствором красителя коэффициент чувствительности практически не изменяется, таким образом, скорость перемешивания не влияет на экстракцию исследуемых пищевых красителей ПММ.

Глава 4. Твердофазная экстракция азо красителей ПММ

4.1 Влияние pH растворов красителей на их экстракцию и спектры поглощения в ПММ

Согласно литературным данным [102,103] краситель E110 может существовать в трех ионных формах согласно схеме (рис. 4.1):

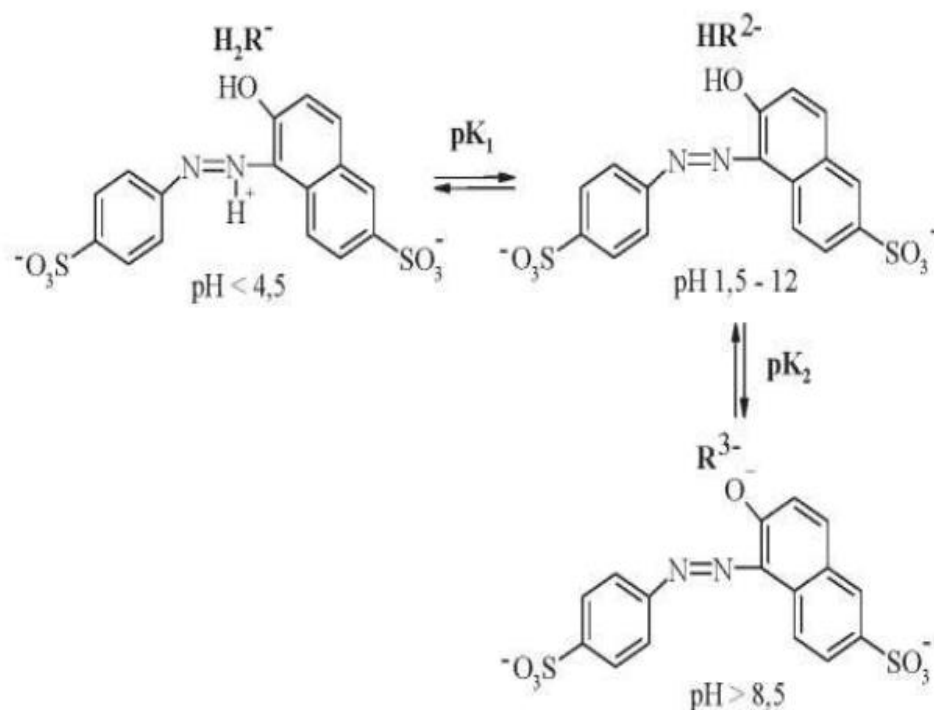


Рисунок 4.1 – Механизм равновесия ионных форм красителя Солнечного заката E110

На рис.4.2 представлены спектры поглощения, водного раствора красителя E110 в кислой, нейтральной и щелочной средах.

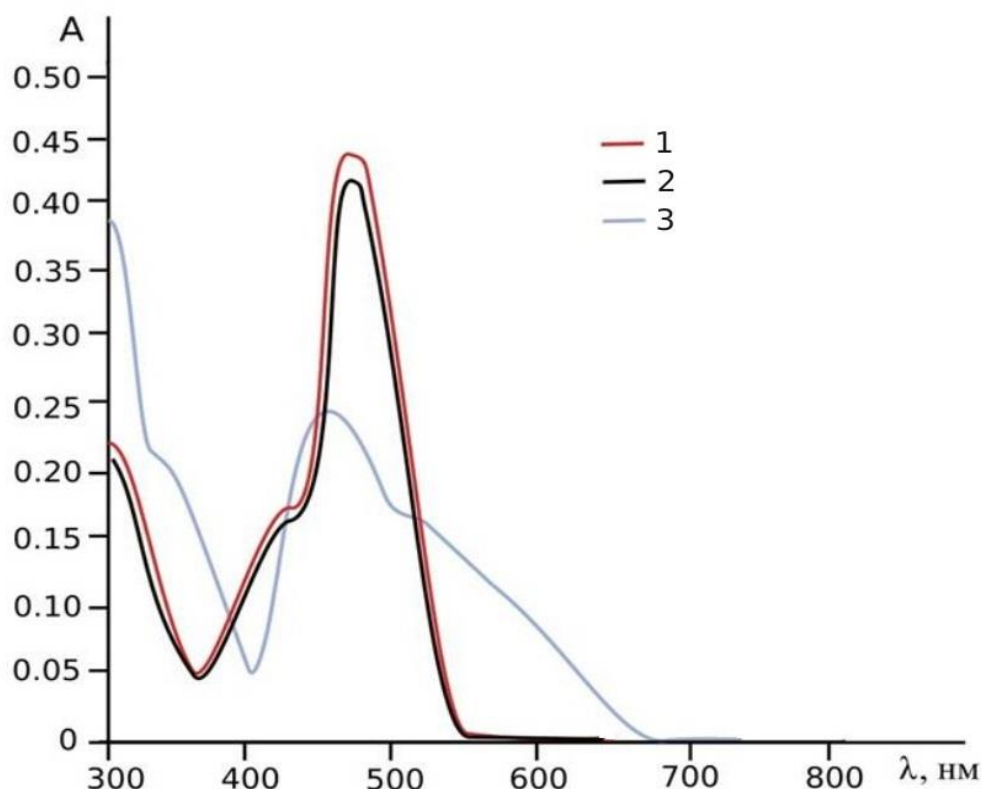


Рисунок 4.2 – Спектры поглощения E110 в ПММ при различных рН: 1 – 1; 2 – 7; 3 – 14



Рисунок 4.3 – Цветовая шкала ТФЭ E110 в ПММ от концентрации красителя при рН=4 и различных значениях рН, $C=1\text{ мг/дм}^3$

Как видно из рис.4.2 в спектре поглощения водного раствора красителя Желтый «Солнечный закат» в кислых и нейтральных средах наблюдался достаточно узкий четко выраженный максимум с $\lambda_{\text{max}}=482\text{ нм}$ с плечом 410–415 нм. В щелочной среде E110 переходил в другую форму, о чем свидетельствует гипсохромный сдвиг максимума полосы поглощения и заметное снижение его интенсивности. В достаточно кислой среде происходит протонирование атома азота азогруппы, которое практически не влияет на хромофорные свойства

светопоглощающих частиц, что подтверждается постоянством значений длин волн, соответствующих максимумам светопоглощения.

Гипсохромное смещение полосы поглощения E110 в интервале pH 8.5–12 объясняют перераспределением электронной плотности при отщеплении протона от гидроксильной группы, которая находится в орто-положении к азогруппе.

Значения констант диссоциации функциональных групп красителя приведены в таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Величины pKa функциональных групп красителя E110 [102]

pKa	Форма иона
2.90	Протонирование атома азота азогруппы (H_2R^+)
10.6	Переход из двух- в трехзарядный анион

При нахождении оптимальных условий для извлечения красителя в ПММ выявлено, что содержание кислоты оказывает влияние на экстракцию красителя в ПММ.

На (рис. 4.6) представлены спектры поглощения красителя E110 в ПММ после экстракции из растворов с различным содержанием кислоты. Представлено влияние концентрации кислоты на величину аналитического сигнала.

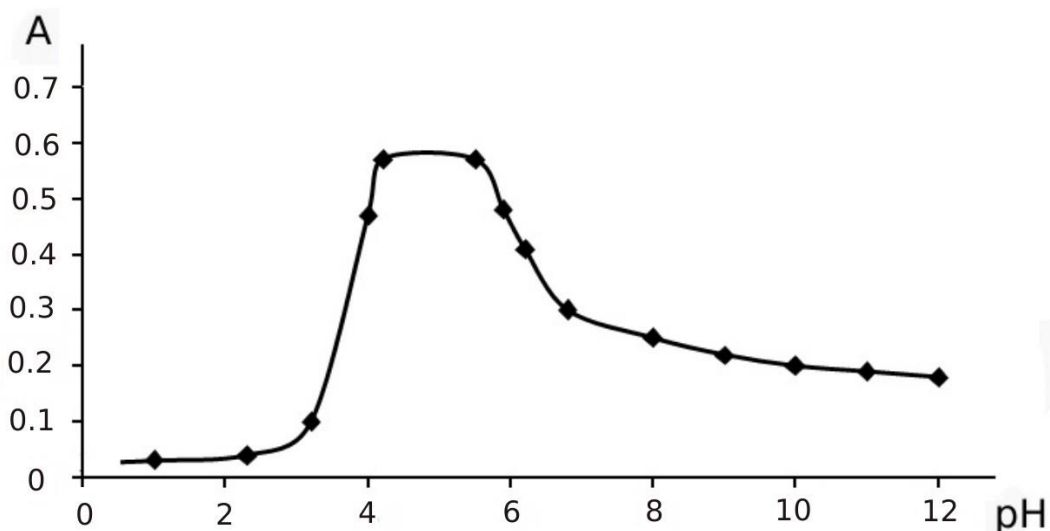


Рисунок 4.5 – Зависимость оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E110 от pH среды

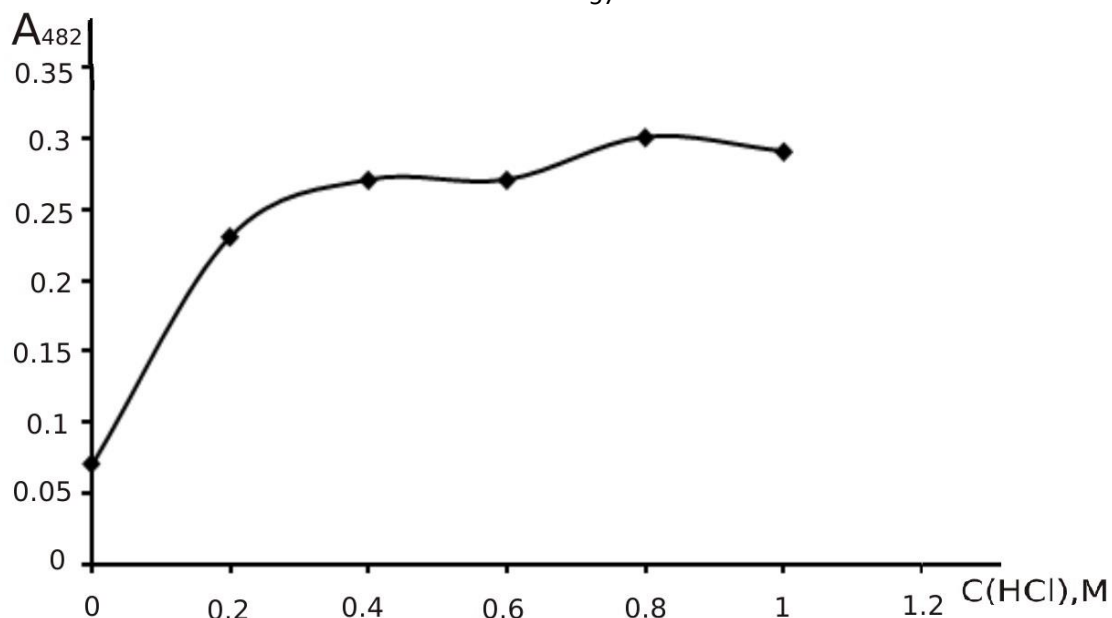


Рисунок 4.6 – Зависимость оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E110 от концентрации HCl

Из зависимости, представленной на (рис. 4.5) видно, что максимальная экстракция красителя E110 в ПММ наблюдается в сильноокислых средах. Поэтому при определении красителей в растворах, предназначенных для экстракции красителя создают концентрацию кислоты 1 моль/л.

Спектры поглощения водных растворов красителя Понсо 4R концентрацией 34 мг/дм^3 и цветные шкалы при различных значениях pH среды представлены на (рис. 4.7 и рис.4.8).

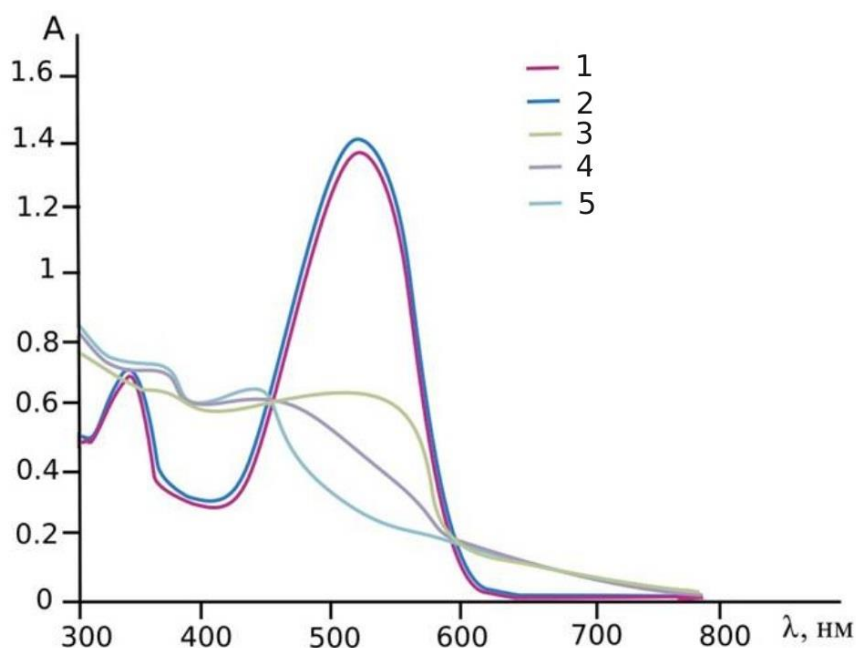


Рисунок 4.7– Спектры поглощения E124 в ПММ при различных pH: 1–0.1; 2–6; 3–12; 4 – 2,2; 5 – 13

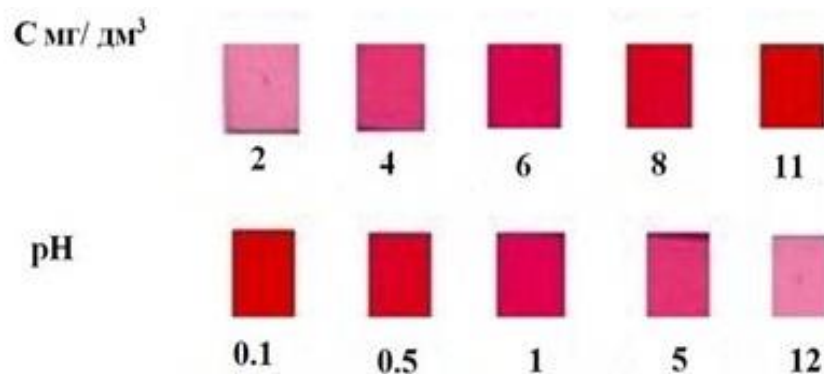


Рисунок 4.8 – Цветовая шкала ТФЭ E124 в ПММ от концентрации красителя при $\text{pH} < 1(0.4)$ и различных значениях pH , $C = 1 \text{ мг/дм}^3$

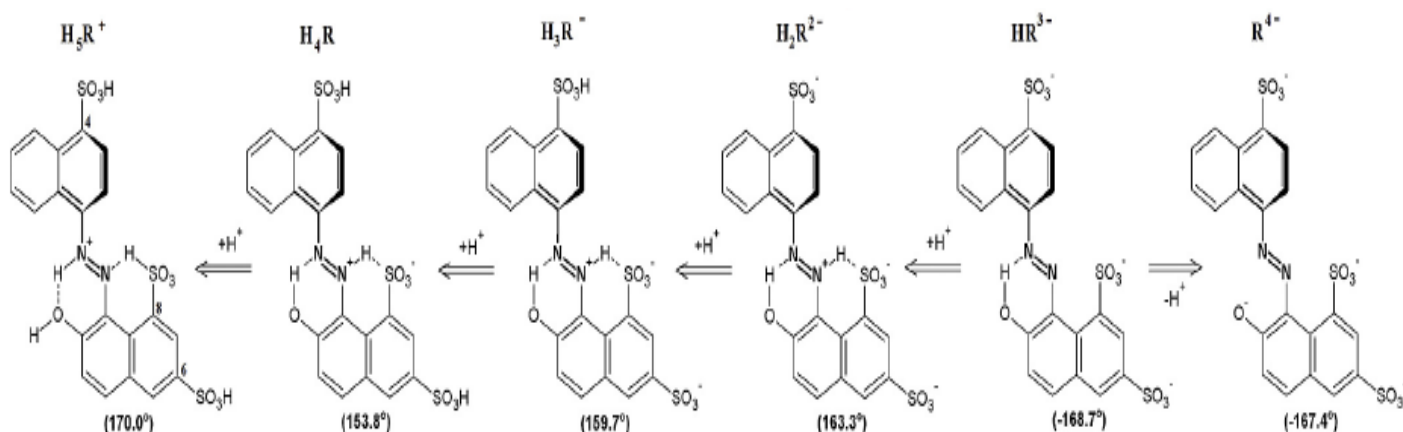


Рисунок 4.9 – Схема кислотно-основного равновесия ионных форм красителя E124 [104]

Присутствует одна широкая полоса с максимумом поглощения при 505 нм., в широком диапазоне pH (0 – 6) на приведенном спектре красителя E124 (Рис. 4.7). Интенсивность данной полосы поглощения заметно снижается с увеличением pH среды. В сильнощелочной среде (pH 13) на спектре появляется новая полоса с максимумом при 440 нм, что свидетельствует о существовании двух форм красителя E124, находящихся в кислотно-основном равновесии.

На основании квантово-химических расчетов в работе [104] определены возможные механизмы протонизации и диссоциации красителя E124 в водном растворе, а также предположено существование 6 ионных форм исследуемого красителя (Рис.4.9). Константы ионизации, ионные формы и pH переходы исследуемого красителя E124 приведены в таблице 4.2.

Таблица 4.2– Константы ионизации, ионные формы и pH переходы красителя E124 в водных растворах [104]

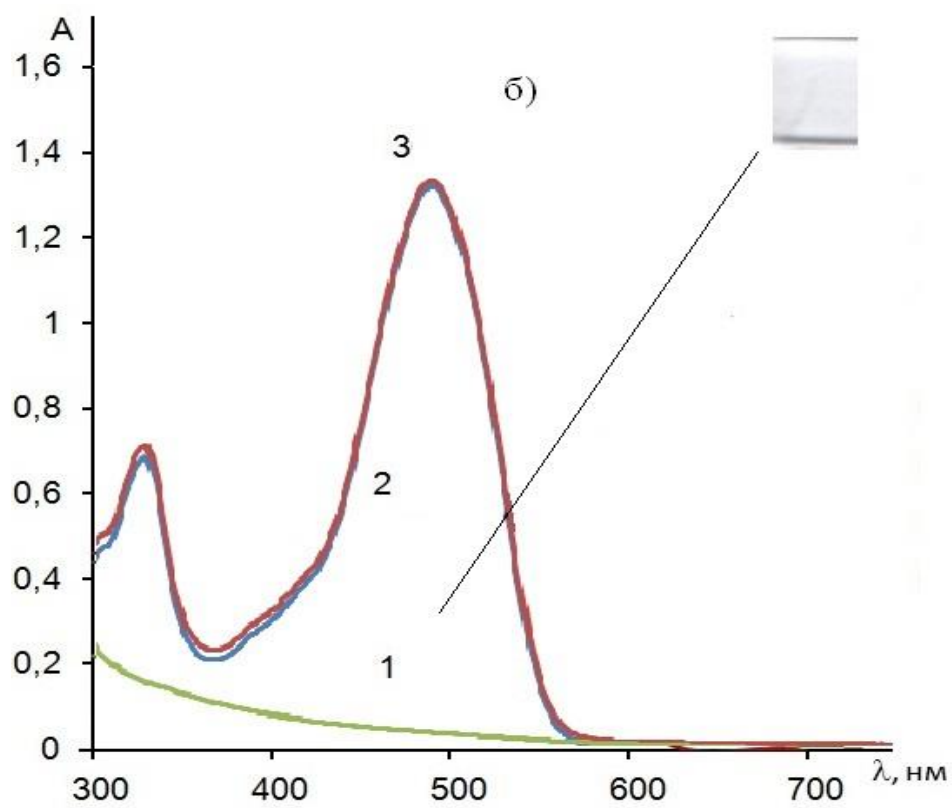
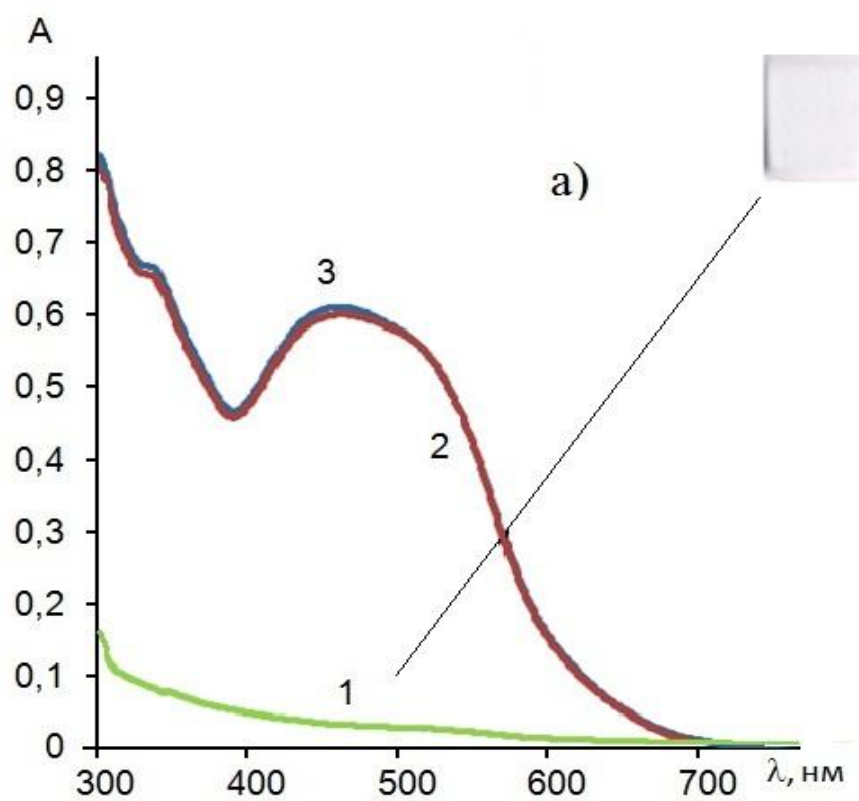
pKa		Форма красителя	pH переход
pKa ₁ pKa ₂ pKa ₃	0.4–0.9	$\text{H}_5\text{R}^+ \xrightleftharpoons{K_{a1}} \text{H}_4\text{R} + \text{H}^+$	0 — 1
		$\text{H}_4\text{R} \xrightleftharpoons{K_{a2}} \text{H}_3\text{R}^- + \text{H}^+$	
		$\text{H}_3\text{R}^- \xrightleftharpoons{K_{a3}} \text{H}_2\text{R}^{2-} + \text{H}^+$	
pKa ₄	2.7	$\text{H}_2\text{R}^{2-} \xrightleftharpoons{K_{a4}} \text{HR}^{3-} + \text{H}^+$	1 — 3
pKa ₅	11.5	$\text{HR}^{3-} \xrightleftharpoons{K_{a5}} \text{R}^{4-} + \text{H}^+$	9 — 11

Из приведенной схемы кислотно–основного равновесия (Рис. 4.9) и значений констант ионизации исследуемого красителя E124 очевидно, что в сильнокислой среде краситель E124 находится в двух равновесных формах: протонированной форме H_5R^+ и молекулярной форме H_4R . Повышение pH среды способствует отщеплению протонов от протонированной азогруппы, что приводит к образованию одно– (H_3R^-) и двузарядного аниона (H_2R^{2-}). В области pH 1 — 13 доминирующей формой красителя является трехзарядный анион (HR^{3-}). В сильнощелочной среде наблюдается диссоциация OH-групп красителя и формирование четырехзарядного аниона (R^{4-}).

Спектры поглощения красителя E124 концентрацией 34 мг/дм³ в ПММ и в растворе до и после контакта с ней при разных значениях pH представлены на рисунке 4.7.

Из приведенных выше спектров красителя E124 (Рис.4.10) видно, что в широком диапазоне pH (0.6 – 12) максимумы и интенсивность светопоглощения растворов исследуемого красителя до и после контакта с ПММ практически не изменяются. В щелочных и нейтральных средах сорбция не наблюдается. Отмечено, что в кислой среде сорбционная способность ПММ по отношению к данному красителю значительно возрастает.

1 — Пластины ПММ 2 — Раствор до контакта 3 — Раствор после контакта



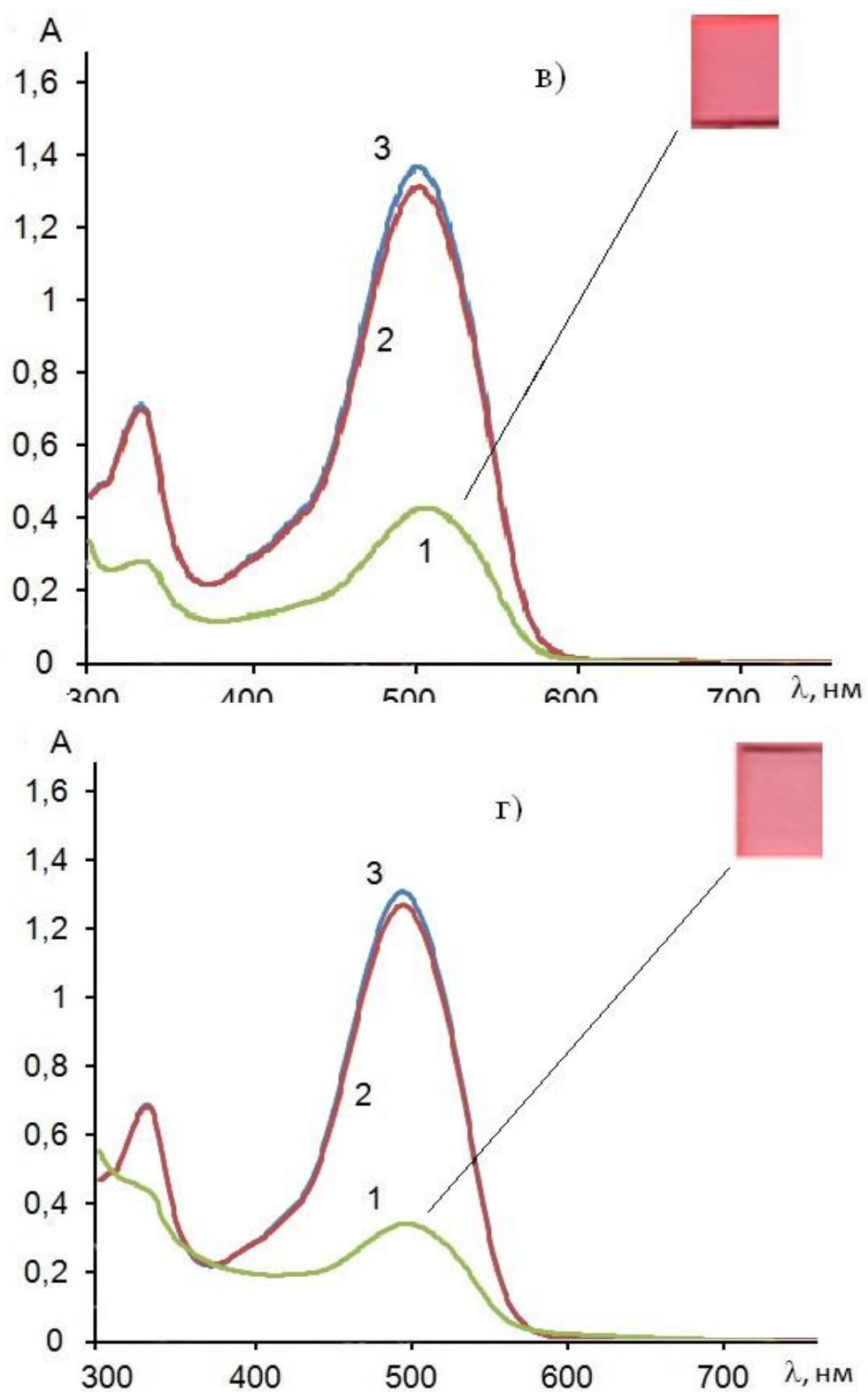


Рисунок 4.10 – Спектры поглощения красителя E124 концентрацией 34 мг/дм³ в ПММ и в растворе до и после контакта с ней при разных значениях pH: а) pH 12; б) pH 6; в) pH 0,2; г) pH –0,6

В таблице 4.3 представлены экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик в зависимости от pH при контакте пластин ПММ с раствором красителя E124 концентрацией 34 мг/дм³ объемом 5 см³.

Таблица 4.3 – Экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик красителя E124 при различных значениях pH среды

pH	m _{пластин} , г	C _{E124} исходная в растворе, мг/дм ³	C _{E124} равновесная, мг/дм ³	C _{E124} , сорбированного в ПММ, мг/дм ³
13.01	0.0288	—	—	—
12.20	0.0285	—	—	—
12.03	0.0262	—	—	—
5.51	0.0342	—	—	—
3.21	0.0345	—	—	—
1.30	0.0331	33.6	33.3	83.03
0.67	0.0348	34.01	32.6	294.8
0.21	0.0359	34.3	32.9	280.7
C _{HCl} 4.7 М	0.0413	34.3	33.3	186.3

В таблице 4.4 представлены кислотно-основные формы красителя E124 и изменения их окраски в растворе и в ПММ, а также экстракционные характеристики при разном значении pH среды

Таблица 4.4 – Ионные формы и окраска E124 (C_{E124} = 34 мг/дм³) в ПММ и в растворе и экстракционные характеристики при разном значении pH

рН	Раствор красителя		ПММ		а, мг/г	R, %	D	К	
	Окраска	Форма	Окраска	Форма					
13	пунцовая с бурым оттенком	R ⁴⁻ HR ³⁻	не сорбируется		—	—	—	—	
12					—	—	—	—	
6		пунцовая			HR ³⁻	—	—	—	—
3						—	—	—	—
1	пунцовая	HR ³⁻	пунцовая	HR ³⁻	0.06	1	3	2	
0.7					0.20	4	9	9	
0,2					0.19	4	9	8	
4.7M HCl					0.13	3	6	5	

Механизм экстракции исследуемого красителя E124 ПММ основан на том, что в кислых средах, как и в случае красителя E133, происходит протонизация поверхности ПММ, сам азокраситель в этих условиях находится в виде аниона (HR^{3-}). В результате, экстракция происходит за счет электростатических взаимодействий отрицательно заряженной формы красителя (HR^{3-}) и положительно заряженной поверхностью ПММ, что показана на спектре красителя в ПММ (Рис. 4.10 в).

В сильнокислых средах поверхность ПММ положительно заряжена, в данных условиях краситель E124 находится в форме трехзарядного аниона (HR^{3-}) и в молекулярной форме H_4R , наблюдается сорбция, однако, не такая значительная, вследствие уменьшения формы (HR^{3-}) с уменьшением pH среды (Рис.4.10 г). В щелочных и нейтральных растворах, вследствие отсутствия протонизации ПММ, заряд на ее поверхности частично отрицательный, сам краситель находится в виде отрицательно заряженных анионов (R^{4-} , HR^{3-}), вследствие этого, сорбция исследуемого красителя не наблюдается (Рис. 4.10 а, б). Построены зависимости оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E124 от pH среды и от концентрации HCl, которые представлены (Рис. 4.11,4.12).

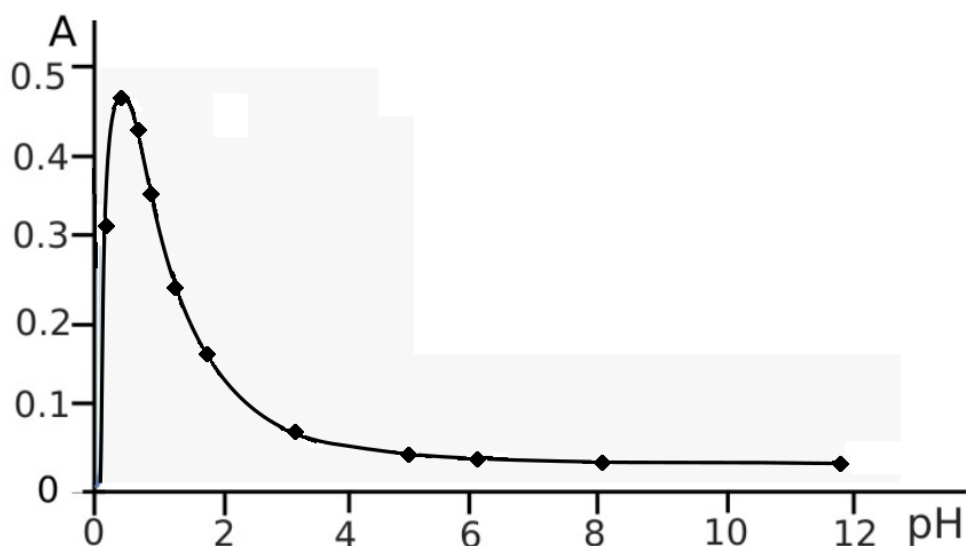


Рисунок 4.11 – Зависимость поглощения ПММ от pH ТФЭ красителя E124

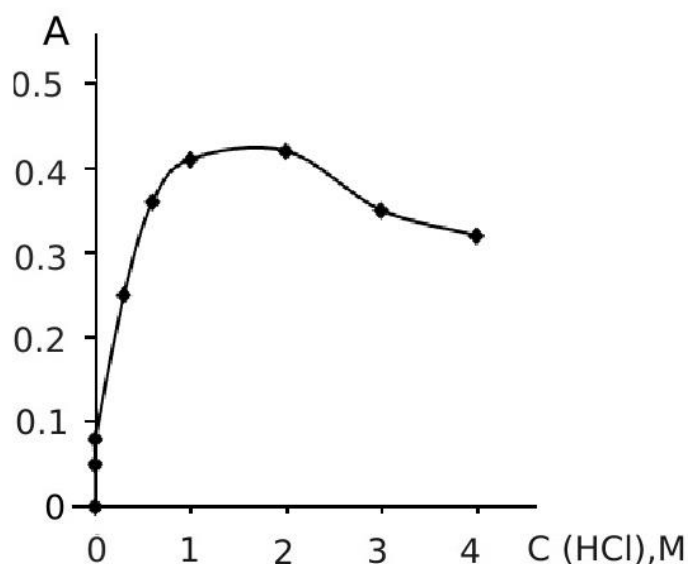


Рисунок 4.12 – Зависимость оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E124 от концентрации HCl

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что оптимальная концентрация HCl, при которой наблюдается максимальная экстракция красителя E124 ПММ, 0.7 М, соответствует рН 0.1, который выбран для дальнейшего исследования экстракции красителя E124 ПММ. Спектры поглощения водных растворов красителя Кармуазина E122 концентрацией 9 мг/дм³ и цветовые шкалы при различных значениях рН среды представлены на (рис. 4.13 ,4.14).

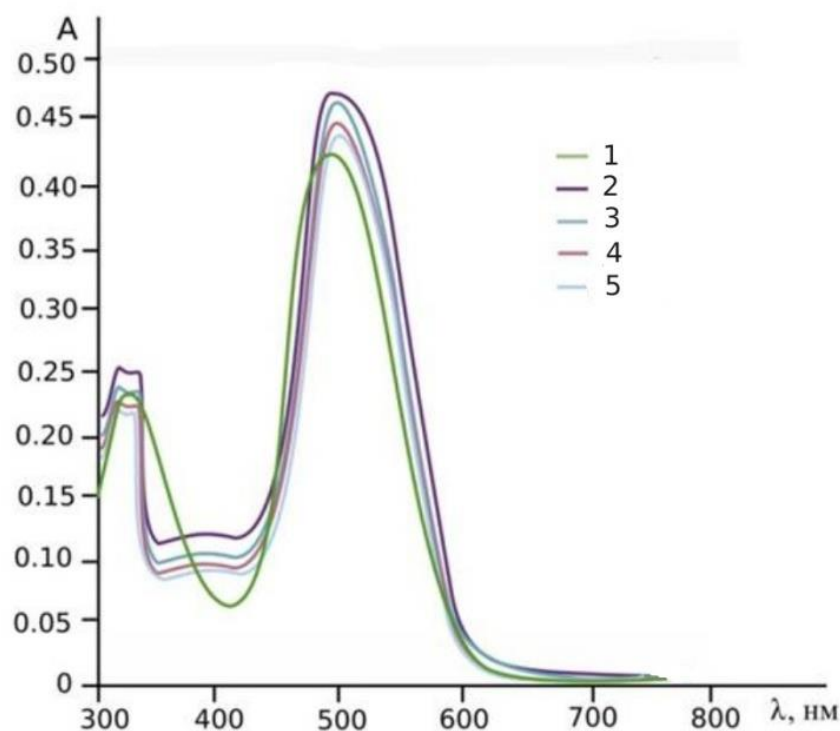


Рисунок 4.13 – Спектры поглощения E122 в ПММ при различных рН: 1–12; 2– 5; 3–1; 4–0.5; 5– 0.1

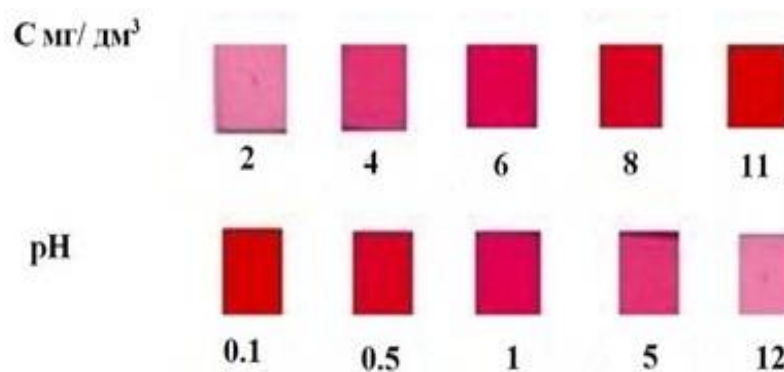


Рисунок 4.14– Цветовая шкала ТФЭ E122 в ПММ от концентрации красителя при $\text{pH} < 1(0.4)$ и различных значениях pH , $C = 1 \text{ мг/дм}^3$

На приведенном выше спектре красителя E122 (Рис.4.14) наблюдается одна широкая полоса с максимумом поглощения при 516 нм, которая достигает наибольшей интенсивности при pH 5. С уменьшением pH среды интенсивность данной полосы поглощения уменьшается. В щелочной среде (pH 12) появляется новая полоса с максимумом поглощения при 505 нм. В работе [108] автор предполагает существования исследуемого красителя E122 в виде трех анионных формах, находящихся в кислотно-основном равновесии друг с другом, а также приводит константы ионизации, ионные формы и pH переходы красителя E122 (Табл. 4.5).

Таблица 4.5 – Константы ионизации, ионные формы и pH переходы красителя E122 в водных растворах

рКа	Форма красителя	рН переход
3.88	$\text{H}_2\text{R}^- \xrightleftharpoons{K_{a1}} \text{HR}^{2-} + \text{H}^+$	2 — 4
8.33	$\text{HR}^{2-} \xrightleftharpoons{K_{a2}} \text{R}^{3-} + \text{H}^+$	6 — 9

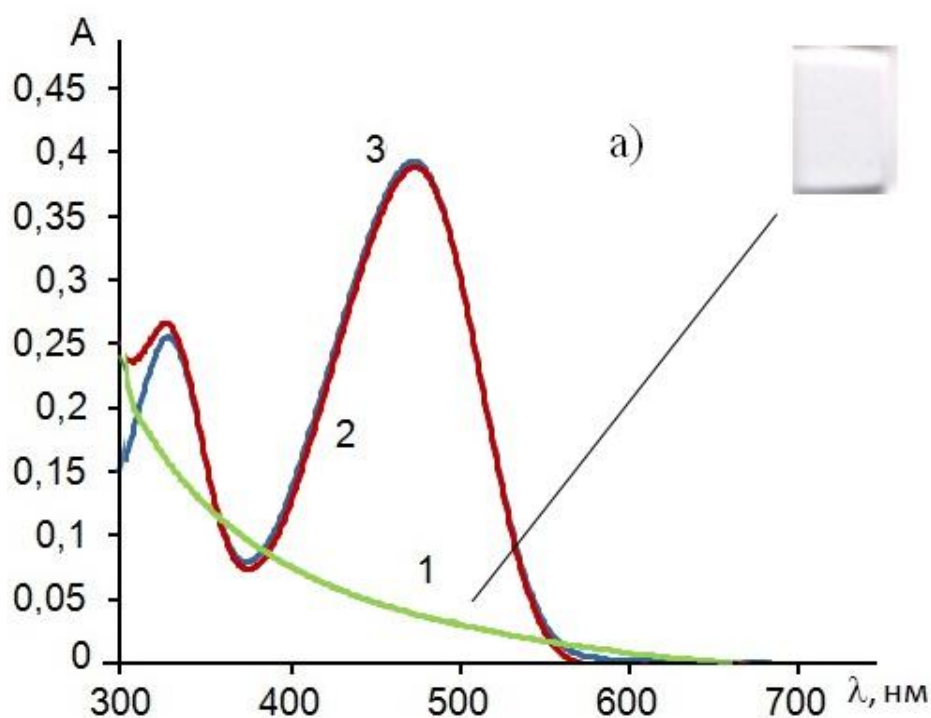
Исходя из полученного спектра (Рис. 4.13), опираясь на приведенные данные pKa , pH переходы и соответствующие формы красителя E122 (Табл.4.5), видно, что при $\text{pH} < 5$ происходит протонизация атома азота азогруппы красителя кармуазина, которое практически не влияет на хромофорные свойства светопоглощающих частиц. Вследствие этого, в спектрах данного красителя при $\text{pH} < 5$ полосы поглощения с максимумом при 516 нм практически идентичны и незначительно отличаются по интенсивности. В этой области pH краситель E122 находится в

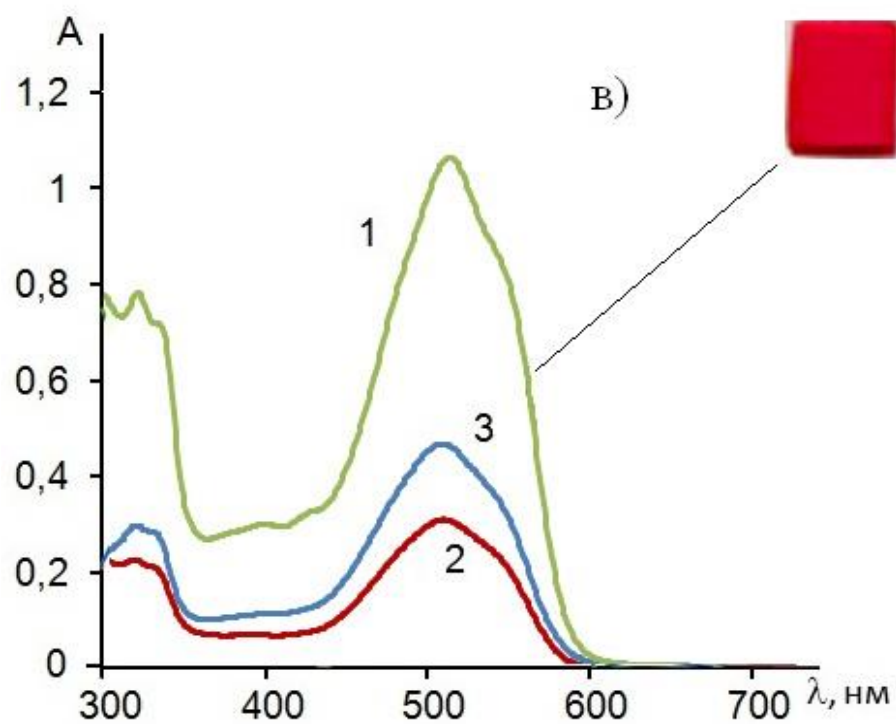
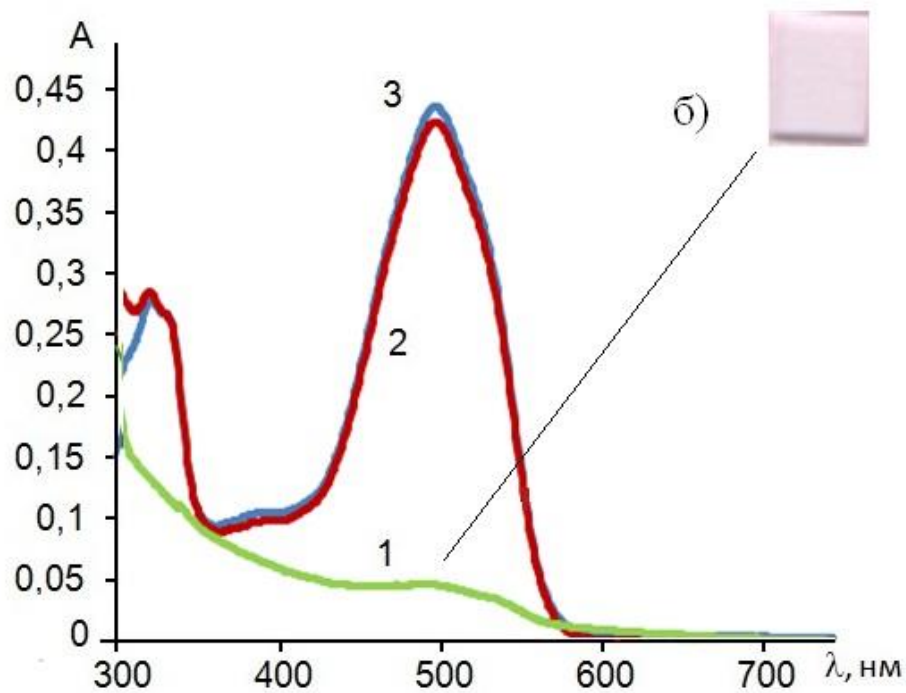
форме одно- (H_2R^-) и двухзарядного аниона (HR^{2-}). При увеличении $\text{pH} > 5$, как говорилось выше, появляется новая полоса с максимумом поглощения при 505 нм, что связано с диссоциацией сульфогрупп и образованием аниона R^{3-} .

Получены спектры поглощения растворов красителя E122 концентрацией 9 мг/дм³ до и после контакта с ПММ и спектры поглощения красителя в ПММ при различных значениях pH , которые представлены на рисунке 4.13.

Анализируя полученные спектры красителя E122 (Рис.4.15 а, б) видно, что в нейтральных и щелочных средах максимумы и интенсивность светопоглощения растворов исследуемого красителя до и после контакта с ПММ практически не изменяются, в кислых же средах интенсивность раствора после контакта с ПММ несколько снижается.

1 — Пластины ПММ 2 — Раствор до контакта 3 — Раствор после контакта





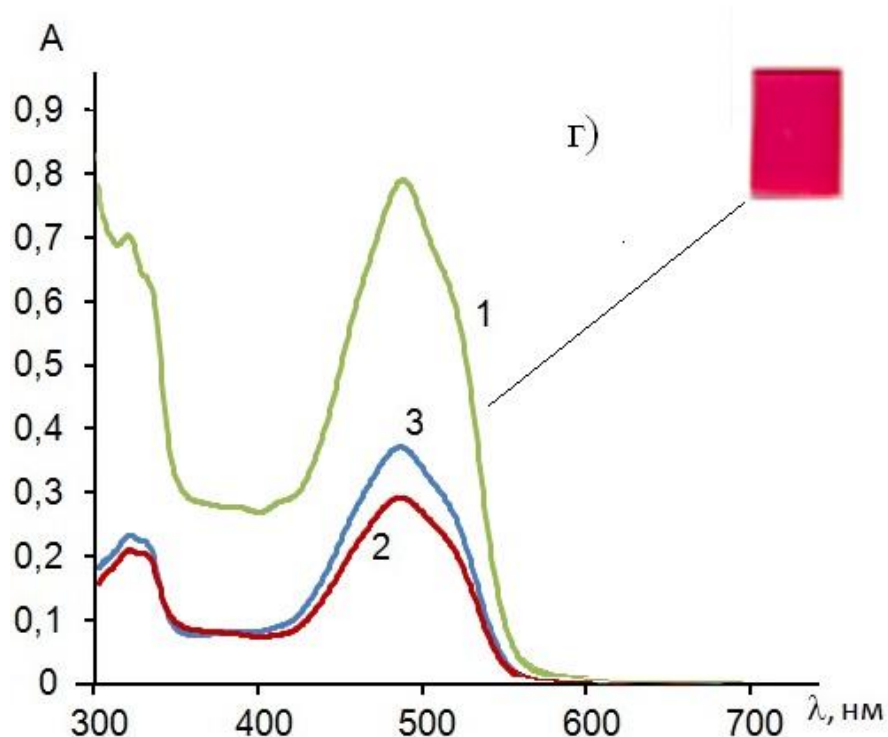


Рисунок 4.15 – Спектры поглощения красителя E122 концентрацией 9 мг/дм^3 в ПММ и в растворе до и после контакта с ней при разных значениях pH: а) 12; б) 5; в) 0,4; г) 0,1

Можно заметить, что краситель не сорбируется в щелочных и нейтральных средах, сорбционная способность ПММ по отношению к данному красителю значительно возрастает в кислых средах (Рис.4.15 в, г).

В таблице 4.6 представлены экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик в зависимости от pH при контакте пластин ПММ с раствором красителя E122 концентрацией 9 мг/дм^3 объемом 5 см^3 .

Таблица 4.6 – Экспериментальные данные для расчета экстракционных характеристик красителя E122 при различных значениях pH среды

pH	m пластин, Г	C_{E122} исходная в растворе, мг/дм^3	C_{E122} равновесная, мг/дм^3	C_{E122} , сорбированного в ПММ, мг/дм^3
12.42	0.0313	8.6	8.5	17.07
5.49	0.0295	10.2	9.9	84.5
3.31	0.0306	9.8	9.6	46.6
2.39	0.0409	9.7	8.5	217.7
1.30	0.0334	9.6	7.4	533.14

0.70	0.0301	9.3	6.5	745.4
0.40	0.0308	9.6	6.4	832.5
0.22	0.0324	9.7	6.7	714.5
C _{HCl} 4M	0.0394	9,1	6.9	520.02

Ниже приведены ионные формы красителя E122 в растворе и в ПММ, их окраска, а также экстракционные характеристики исследуемого красителя при разном значении pH (Табл. 4.7)

Таблица 4.7 – Ионные формы и окраска красителя E122 ($C_{E122} = 9 \text{ мг/дм}^3$) в растворе и в ПММ, экстракционные характеристики при разном значении pH

pH	Раствор красителя		ПММ		a, мг/г	R, %	D	K
	Окраска	Форма	Окраска	Форма				
12	малиновая с бурым оттенком	HR^{2-} R^{3-}	плохо сорбируется		0.01	0,5	1	1
5	малиновая	HR^{2-}			0.05	3	8	8
3		H_2R^-			0.03	2	4	4
2	малиновая	HR^{2-} H_2R^-	малиновая	HR^{2-}	0.14	12	23	21
1					0.34	23	66	51
0.7					0.41	27	89	65
0.4					0.47	30	102	71
0.3					0.43	29	91	65
4M HCl					0.24	21	49	39

На основании полученных экспериментальных данных, можно предположить, что механизм сорбции исследуемого красителя E122 ПММ в кислых средах основан на электростатическом взаимодействии положительно заряженной поверхности ПММ и отрицательно заряженной формы красителя (HR^{2-}) (Рис. 4.15 в, г).

В щелочных и нейтральных растворах краситель плохо сорбируется, поскольку поверхность ПММ в этих средах носит частично отрицательный заряд и сам краситель находится в анионной форме (R^{3-} , HR^{2-}) (Рис. 4.15 а, б). Зависимости

оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E122 от pH среды и от концентрации HCl представлены (рис. 4.16 ,4.17) .

Для дальнейших исследований, в качестве оптимального pH среды, для экстракции красителя из ПММ выбран pH 0.50.

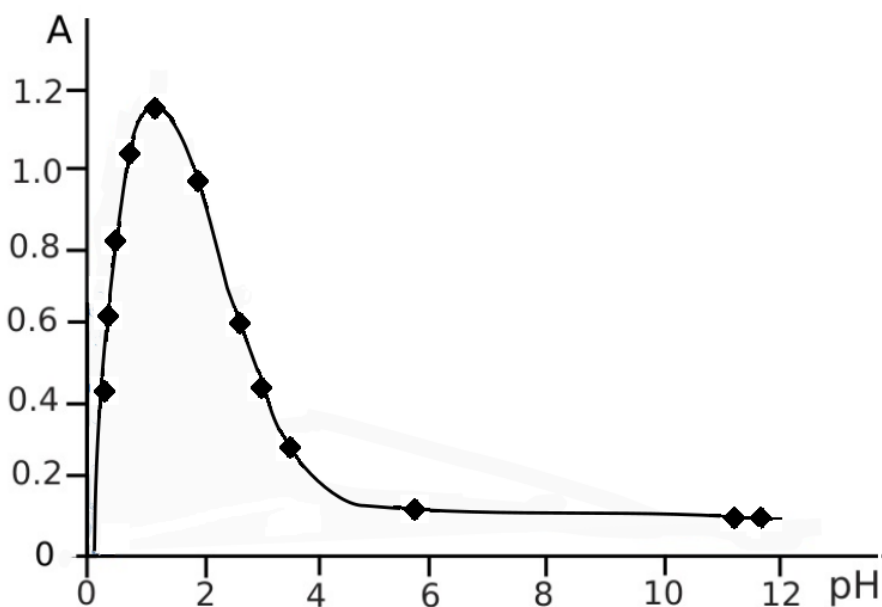


Рисунок 4.16 – Зависимость оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E122 от pH среды

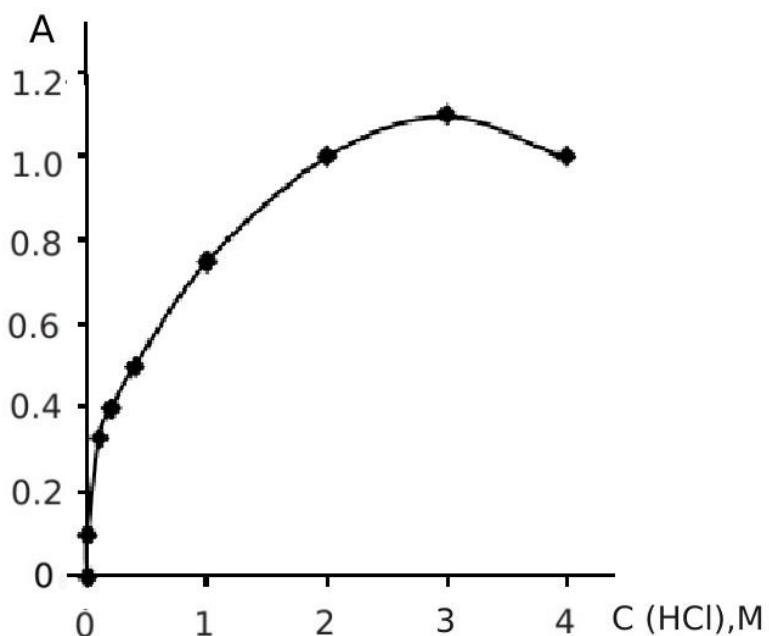


Рисунок 4.17 – Зависимость оптической плотности сорбированного в ПММ красителя E122 от концентрации HCl

4.2 Влияние времени контакта анализируемого раствора красителя с ПММ на величину аналитического сигнала

Время контакта ПММ с анализируемым раствором, позволяет оптимизировать цвет пластинки для визуального определения красителя или оптическую плотность для спектрофотометрического определения. Как правило, с увеличением времени контакта количество экстрагируемого вещества в объеме ПММ возрастает вплоть до достижения предела сорбционной емкости, после чего выходит на плато (рис. 4.18, 4.19, 4.20). Для визуального определения этот предел характеризуется отсутствием изменением насыщенного цвета красителя в матрице (рис.4.21).

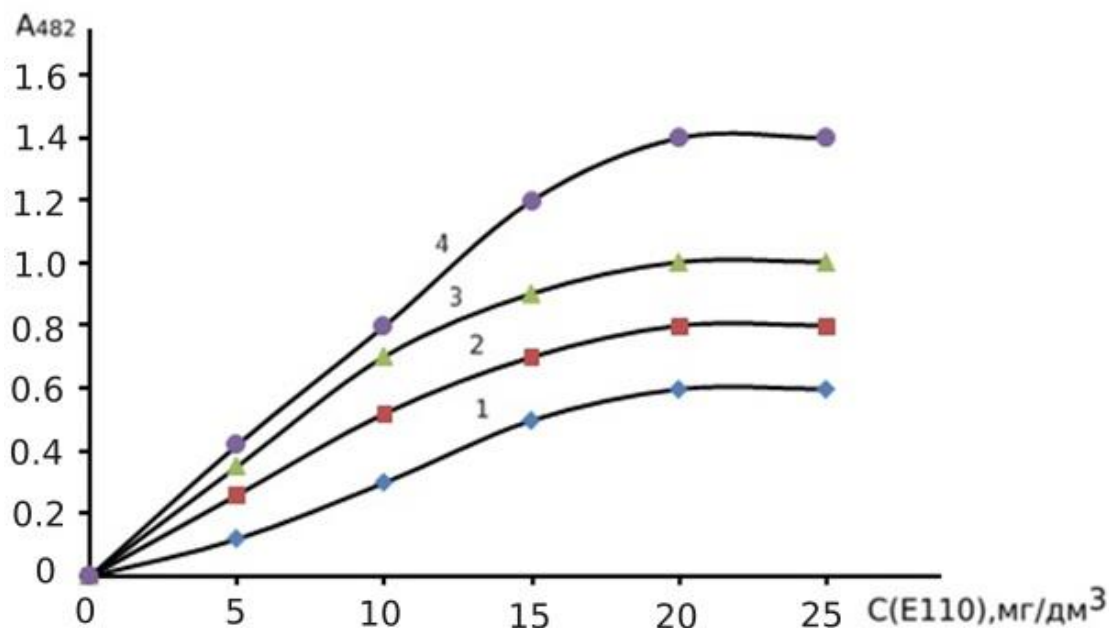


Рисунок 4.18 – Зависимость аналитического сигнала от концентрации красителя E110 в растворе при контакте 1– 5; 2- 15; 3-30; 4- 45 мин

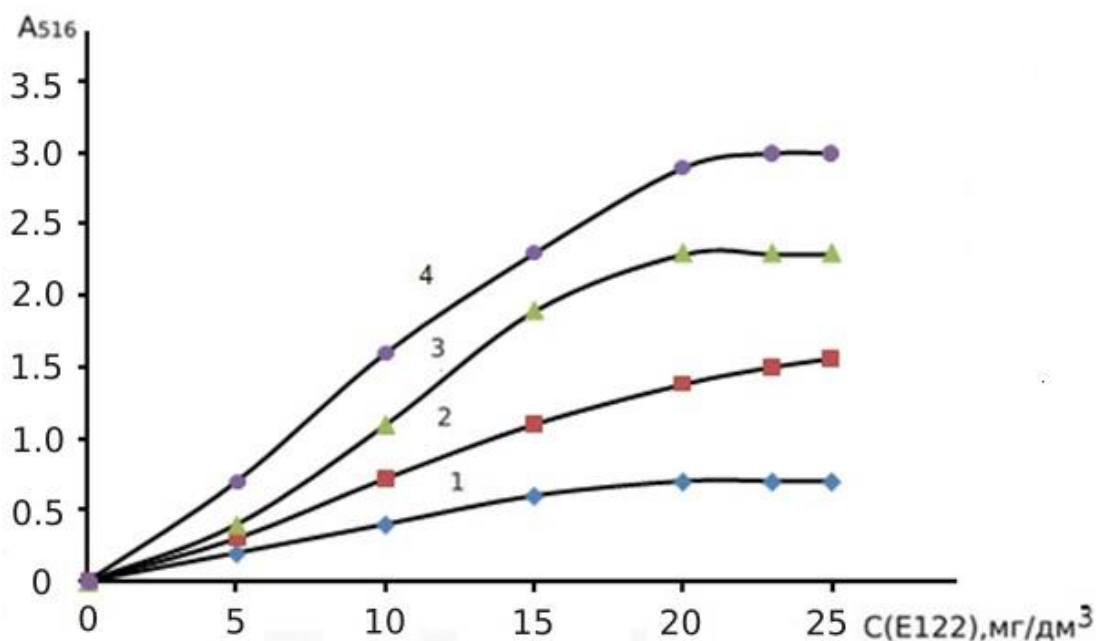


Рисунок 4.19 – Зависимость аналитического сигнала от концентрации красителя E122 в растворе при контакте 1–5; 2–15; 3–30; 4–45 мин

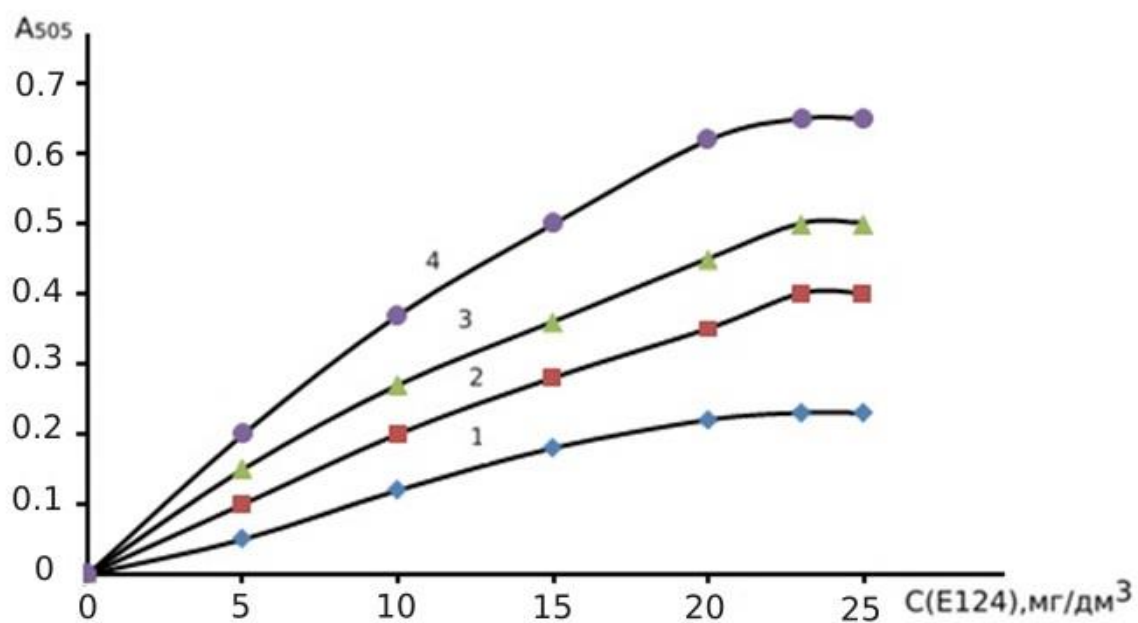


Рисунок 4.20 – Зависимость аналитического сигнала от концентрации красителя E124 в растворе при контакте 1– 5; 2– 15; 3–30; 4–45 мин

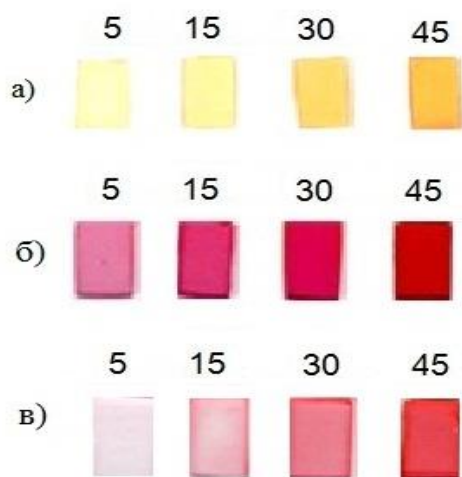


Рисунок 4.21 – Полиметакрилатные матрицы после сорбции красителя в зависимости от времени контакта, мин: а – E110; б – E 122; в – E 124

Как видно из рисунка 4.18 зависимости аналитического сигнала от концентрации красителя при контакте матрицы с раствором красителя 5, 15, 30, 45 мин имеют полиномный вид в диапазоне концентрации от 0 до 25 мг/дм³

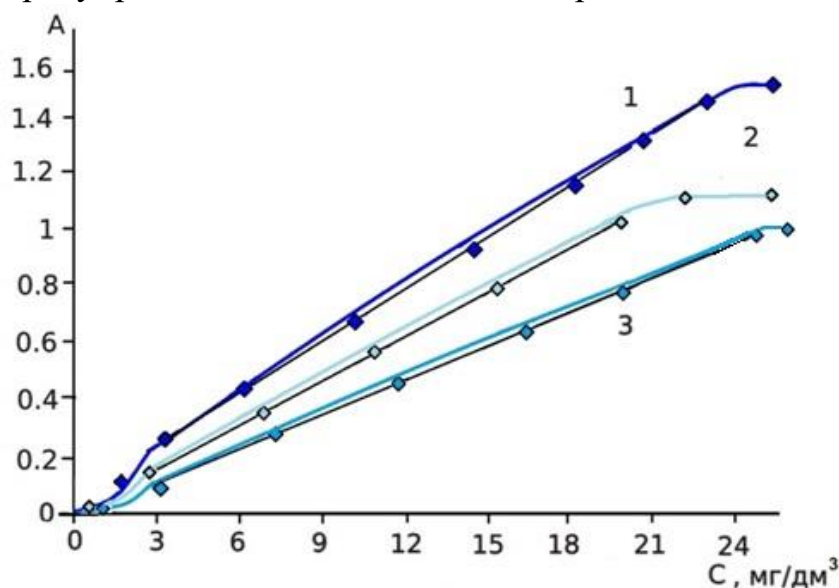
В таблице 4.8 представлены параметры градуировочных зависимостей.

Таблица 4.8– метрологические характеристики определения азо красителей с использованием ПММ

Краситель	Уравнение градуировочной зависимости	r	ДОС, мг/дм ³	ПО, мг/дм ³
Е 110	$A_{482} = 0.01 \cdot C_{E110}$	0.9877	0.20 – 20.0	0.07
Е 122	$A_{516} = 0.036 \cdot C_{E122}$	0.9924	0.10 – 25.0	0.05
Е 124	$A_{505} = 0.061 \cdot C_{E124}$	0.9924	0.03 – 23.0	0.01

Форма кривой зависит от времени контакта. Для времени контакта 5 мин диапазон линейности находится в широкой области концентрации. При увеличении времени контакта диапазон сокращается. При времени контакта 15 минут и рН 3 зависимость оптической плотности ПММ с иммобилизованным красителем E110 является линейной (рис. 4.4). В дальнейшей работе используется диапазон концентраций 0.2–20 мг/дм³.

Рисунок 4.22 – Градуировочные зависимости азo красителей в ПММ: 1– E124; 2–



E110; 3–E122

При времени контакта 15 мин и рН 3 зависимость оптической плотности ПММ с иммобилизованным красителем E124 является линейной (рис. 4.22). В дальнейшей работе используется диапазон концентраций 0.2–23 мг/дм³.

В определенной области концентраций кривые красителей E122 и E133 имеют линейный начальный участок, что отражено на рисунках 3.14 и 4.22, и указывает на постоянство распределения растворенного вещества между сорбентом и раствором красителя.

Краситель Понсо 4R имеет большой диапазон концентраций, в котором каждая из кривых, соответствующая разному времени контакта раствора исследуемого красителя с ПММ, имеет линейный участок.

Глава 5. Разработка алгоритмов количественного определения СК в пищевых продуктах

5.1 Алгоритм определения синтетических красителей E133, E110, E124 и E102 в соках

Спектры поглощения красителей E133, E110, E124 и E102 в ПММ показаны на (рис. 5.1) и совпадают со спектрами в растворах [105].

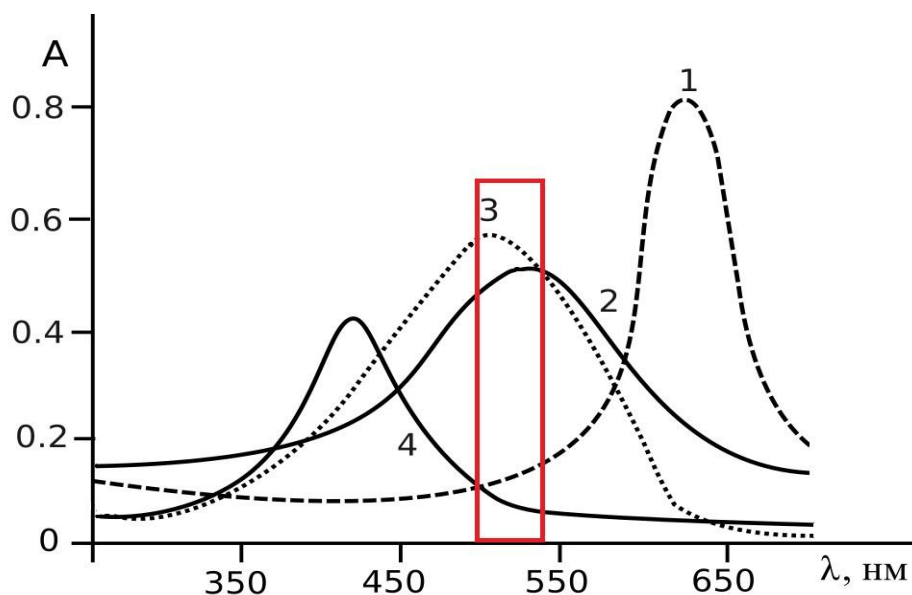


Рисунок 5.1 – Спектры поглощения ПММ при pH 3.0 с иммобилизованными красителями: 1– E131; 2– E110; 3– E124; 4– E102

Зависимость между эффективностью твердофазной экстракции красителя в ПММ и pH образца раствора исследуют в статическом режиме (рис. 5.2). Экстракция начинается в средах с более низкой кислотностью (0.2—0.5 М HCl); она составляет максимум 90% при pH 2–4, после чего R ступенчато снижается до pH 7 [106].

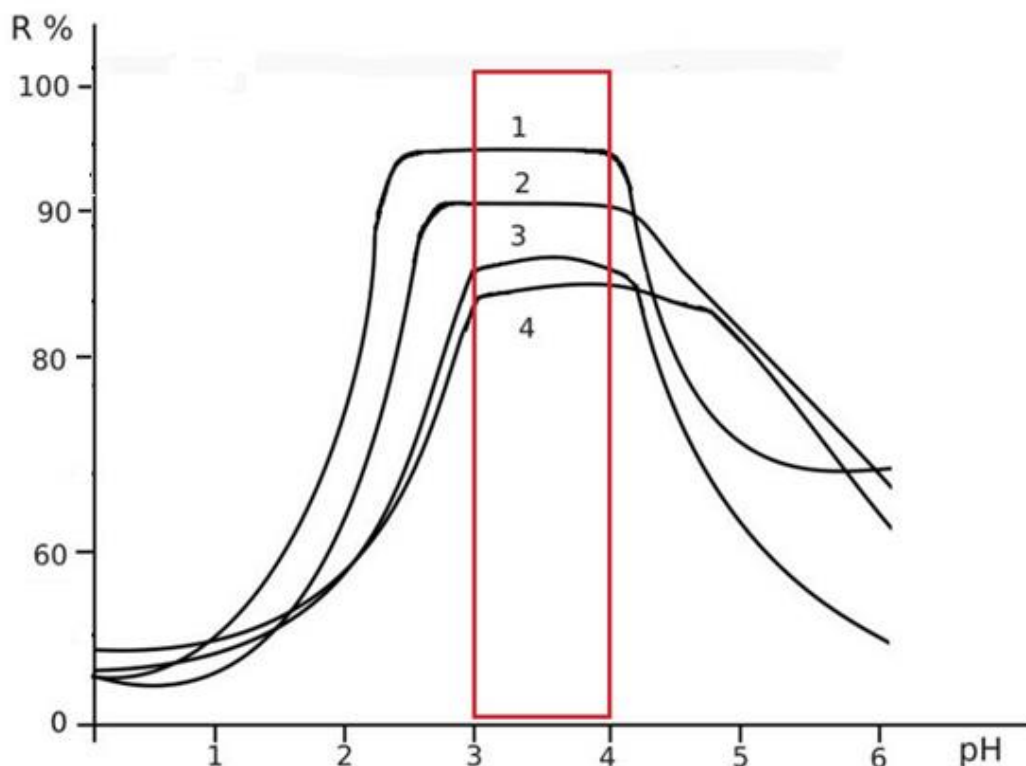


Рисунок 5.2 – Степень ТФЭ красителя в ПММ в зависимости от pH раствора: 1– E133; 2– E102; 3– E110; 4 –E124

Кислая среда положительно влияет на твердофазную экстракцию, поскольку экстракция красителей в ПММ происходит в молекулярных формах. Метод реализован для определения E133, E110, E124 и E102 в напитках. Спектрофотометрическим методом определяют концентрацию красителя в водной фазе с применением калибровочных кривых, построенных при соответствующих длинах волн с использованием стандартных растворов красителей. Рассчитывают концентрацию красителя в ПММ как разницу между начальной и равновесной концентрацией в водной фазе.

В таблице 5.1 показано содержание красителя, полученное предлагаемой методикой и методом ВЭЖХ. Согласно таблице, результаты полученные предложенным спектрофотометрическим методом, соответствуют полученным методом ВЭЖХ.

Таблица 5.1 – Определение красителей в соках (n=5, P=0.95)

Сок	краситель	ТФС, мг/дм ³	Sr, %	ВЭЖХ, мг/дм ³	Sr, %
Лимон	E133	0.06 ±0.01	8.5	0.055±0.006	0.6
	E102	1.2 ±0.2	8.5	1.19 ±0.14	6.0
Виноград	E133	0.05 ± 0.01	10	0.054±0.006	0.6
	E124	1.8 ±0.3	8.5	1.68±0.21	7.0
Клубника	E124	0.56 ±0.13	0.2	0.49±0.07	7.3
	E110	1.2 ±0.2	8.5	1.22±0.16	6.7
Манго	E102	0.06 ±0.01	8.5	0.065±0.006	0.5
	E110	0.09±0.02	11	0.084±0.007	4.0
Апельсин	E102	1.6 ±0.3	9.5	1.61 ± 0.18	5.5
	E110	2.4 ±0.4	8.5	2.48±0.27	5.5

Аналитические сигналы, производимые каждым красителем, не зависят от концентрации других красителей. Результаты, полученные с помощью предложенного спектрофотометрического метода с твердофазной экстракцией, соответствуют результатам, полученным с помощью ВЭЖХ.

5.2 Алгоритм твердофазно-спектрофотометрического определения исследуемых красителей в напитках и контроль качества результатов анализа

В работе на примере модельных растворов продемонстрирована возможность селективного определения исследуемых красителей твердофазной экстракцией с помощью ПММ с дальнейшим спектрофотометрическим окончанием. В качестве реальных объектов выбраны пищевые продукты: безалкогольные, молочные напитки, кондитерские сахаристые изделия. Определение содержания исследуемых красителей в выбранных объектах проводят по градуировочным графикам, построенным с использованием стандартных растворов (рис 5.3).

Поэтому, для уменьшения матричного влияния пищевого объекта на результаты определения красителей, наряду с градуировочными зависимостями,

построенными с использованием стандартных растворов, построены градуировочные зависимости по методу добавок.

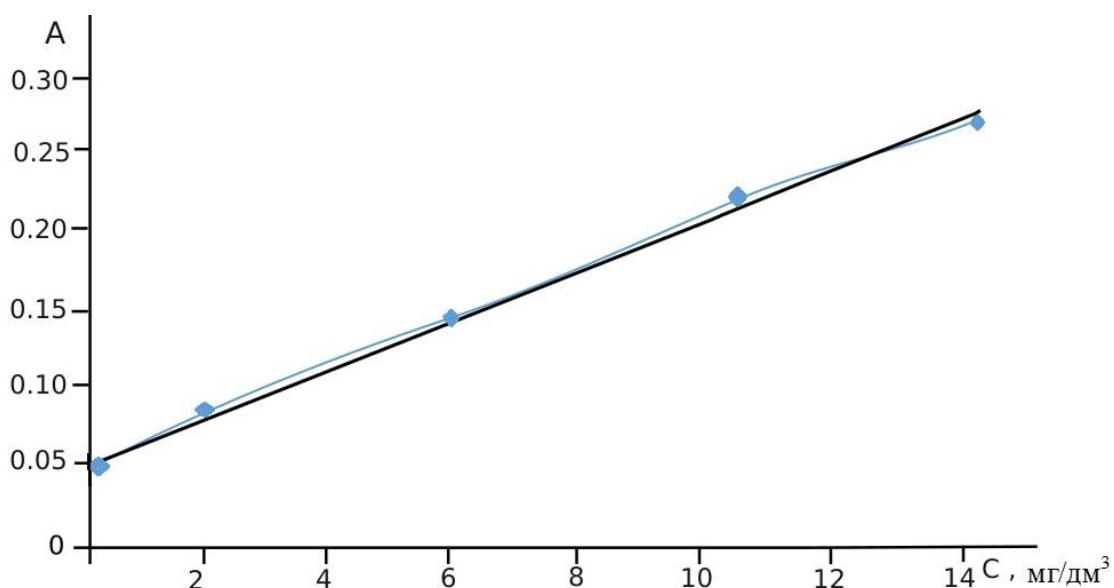


Рисунок 5.3 – Градуировочная зависимость оптической плотности от концентрации для определения содержания пищевого красителя Е110 в газированном напитке «Миринда» при времени перемешивания 15 мин

Проведено сравнение результатов анализов определения красителей в напитках, полученных по методу градуировочного графика, построенного методом стандартных растворов и методом добавок, результаты представлены в таблице 5.2. Из приведенной таблицы 5.2 видно, что при определении исследуемых красителей в выбранных безалкогольных напитках экспериментально посчитанное значение t -критерия во всех случаях меньше табличного значения критерия Стьюдента, что говорит о правильности полученных результатов анализа. Как видно, количественное определение добавки стандартных растворов исследуемых красителей в безалкогольных напитках определяется достаточно точно. Данные, полученные двумя независимыми способами построения градуировочных зависимостей, близки и согласуются.

Таблица 5.2 – Проверка правильности методики определения красителей в безалкогольных напитках с применением метода добавок

краситель	объект	$C_{\text{(введенной добавки), мг/дм}^3}$	Содержание красителя, мг/дм ³				$C_{\text{(найденной добавки), мг/дм}^3}$	θ	$t_{\text{эксп}}$	Правильность $\sigma(\Delta_c), \%$
			$C_{\text{(без добавки)}}$	$S_1. \%$	$C_{\text{(с добавкой)}}$	$S_2. \%$				
E133	Basil seed	0.49	1.50 ± 0.18	5	1.95 ± 0.13	3	0.45	-0.04	0.87	11
	Тархун	0.49	1.09 ± 0.12	4	1.59 ± 0.15	4	0.5	0.01	0.03	4
E110	Миринда	14	50 ± 6	5	61 ± 7	5	10.7	3.32	1.89	3
E122	Приятный день	0.53	1.38 ± 0.12	4	1.83 ± 0.12	3	0.42	-0.08	2.57	6
E124	Royal	16.88	18 ± 5	11	31 ± 5	6	13	-3.88	2.17	10

Расчетные значения t -критерия не превышают критических значений критерия Стьюдента для всех исследуемых красителей и выбранных образцов напитков независимо от способа построения градуировочного графика, что свидетельствует об отсутствии систематической погрешности при проведении анализа. На основании этого, определение исследуемых красителей в напитках путем построения градуировочного графика можно проводить как с использованием стандартных растворов, так и с помощью метода добавок.

В таблице 5.3 представлены результаты определения исследуемых красителей в выбранных безалкогольных напитках, относительное стандартное отклонение, а также допустимое содержание красителей в пищевых продуктах. Можно отметить, что результаты определения

Таблица 5.3 – Результаты определения исследуемых красителей в напитках

Краситель	Наименование	Результат определения, мг/кг	S_r , %	Допустимое содержание, мг/кг
E133	Безалкогольный негазированный напиток „Basil seed”	1.62 ± 0.18	10	100
	Газированный напиток „Тархун”	1.25 ± 0.09	10	
E124	Газированный напиток „Royal”	28 ± 4	10	50
	Газированный напиток „Ирбис”	5.2 ± 0.6	4	
E122	Безалкогольный негазированный напиток „Приятный день”	3.6 ± 0.6	10	

красителей в выбранных безалкогольных напитках не превышают их допустимого содержания [107].

Исследование влияния объема пробы на чувствительность проведено на примере определения красителя Понсо 4R в газированном напитке „Ирбис”. Расчет содержания красителя в выбранном объекте проводят по градуировочным графикам, построенным с использованием стандартных растворов при времени контакта раствора красителя с пластинами ПММ равным 30 мин. В таблице 5.4 представлены результаты влияния объема

анализируемого раствора на градуировочные характеристики определения красителя E124 в напитке.

Таблица 5.4 – Результаты влияния объема анализируемого раствора на градуировочные характеристики определения красителя E124

Общий объем, см ³	Коэффициент чувствительности (b)	Стандартная ошибка определения коэффициента чувствительности (b)	Коэффициент корреляции (R)
5.0	0.0184	0.003	0.9817
15.0	0.0187	0.001	0.9950
25.0	0.0179	0.002	0.9857

Можно заметить, что увеличение объема анализируемого раствора не приводит к повышению чувствительности определения красителя E124. Добиться нужной чувствительности определения того или иного красителя помогает увеличение времени контакта раствора красителя с пластинами ПММ.

5.3 Алгоритм определения синтетических красителей E102, E110, E124, E131 в йогурте

Наблюдаются четко выраженные максимумы в видимой области на спектрах поглощения ПММ при $pH < 3$ (рис.5.4), соответствующие индивидуальным формам красителей. Прозрачную ПММ, которую получают после экстракции красителей, можно окрасить в соответствии с их цветом или комбинацией цветов (рис. 5.5). В растворе и в ПММ максимальная поглощающая способность E102, E110, E122, E124 совпадают, что дает возможность предположить близость аналитических свойств, где применяют известные закономерности протекания подобных реакций.

Рисунок 5.4 – Спектры поглощения ПММ после ТФЭ красителей из раствора 10 мг/кг, 20 мин, pH 2.7

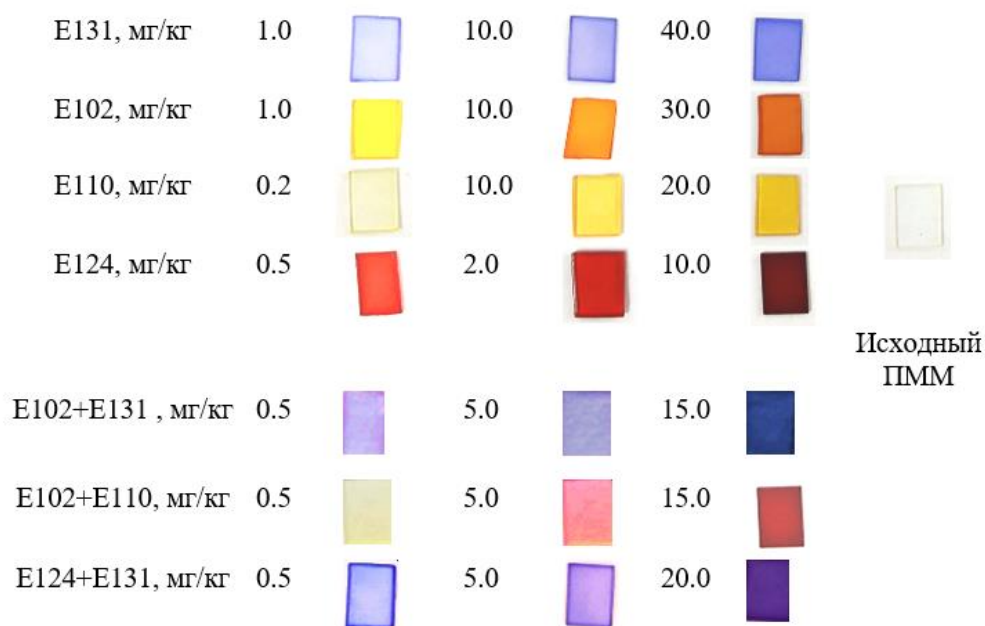


Рисунок 5.5 – Сканированные образцы ПММ при различных концентрациях (С, мг/кг) и комбинациях синтетических красителей: 1– E131; 2– E102; 3 – E110; 4 – E124; 5 – E102+E131 (черника); 6 – E102+E110 (гранат); 7 – E124+E131(ежевика)

По результатам исследования влияние рН среды на молочные продукты выявлено, что сдвиг кислотности среды до $\text{pH} < 3$ привел к конгломерации белков с хорошо заметным визуальным переходом красителей в надосадочную жидкость. При низком значении рН 1–3 исследуемого раствора позволяет без ограничений использовать экстракционный потенциал ПММ и получить максимальный аналитический сигнал после ТФЭ (рис. 5.6).

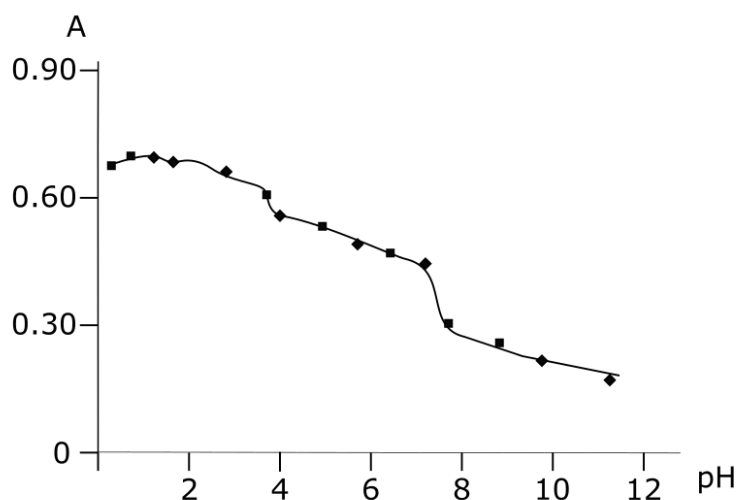


Рисунок 5.6 – Влияние рН на интенсивность поглощения ПММ после ТФЭ красителей из раствора 10 мг/кг, 20 мин

В результате происходит диссоциация сульфогрупп при рН среды <3 , в трифенилметановом красителе E131, что приводит к образованию смеси монопротонированной формы HR^+ и нейтральной формы $R^\pm$. В кислой среде азокрасители существует в анионных формах, где происходит отщепление протонов от протонированной азогруппы, что приводит к образованию преобладающей формы H_3R^- . С помощью механизма происходит сорбция кислых сред, в которых находятся карбонильные группы ПММ, благодаря этому поверхность оптода становится положительно заряженным.

В результате этого, происходит сорбция $R^\pm$ формы красителя E131 и анионоазокрасителей положительно заряженной поверхностью ПММ.

Эмульгаторы и подсластители, входящие в состав кисломолочных продуктов не обладают собственной окраской и не мешают определению СК. Аналитические характеристики для определения СК твердофазно-спектрофотометрическим методом представлены в табл. 5.5

Таблица 5.5 – Параметры градуировочных характеристик определения СК твердофазно–спектрофотометрическим и визуальным методами ($n=3-5$, $P=0.95$)

Краситель	Диапазон концентраций, мг/кг		ПО, мг/кг
	Цветовая шкала	Спектрофотометрия	
E102	2–25	0.1–25.0	0.04
E124	2–8	0.03–23.0	0.01
E110	1–14	0.2 – 20.0	0.07
E131	4–30	0.2 – 15.0.	0.08

Содержание регламентируется требованиями по применению пищевых добавок [108–109] при определении СК в йогуртах и биокефирах (табл. 5.6). В анализируемых объектах содержание красителей находят прямой спектрофотометрией пластинок ПММ по градуировочным зависимостям, построенным с использованием стандартных растворов, а также по методу добавок.

Таблица 5.6 – Результаты определения синтетических красителей (мг/кг) в пищевых продуктах твердофазно-спектрофотометрическим (ТФС) и спектрофотометрическим (СФ) методами

Продукт	Краситель	Введено, мг/кг	ТФС	S _г , %	СФ	S _г , %
Черника йогурт	E131	–	6.0 ±1.0	6.7	5.5±0.6	4.4
		5.0	11.0±1.0	3.7	10.4±0.7	2.7
	E102	–	12.0 ±2.0	6.7	12.0 ±1.0	3.4
		10.0	22.0±3.0	5.5	22.0±2.0	4.2
Черника биокефир	E131	–	5.0 ± 1.0	8.1	5.4±0.6	4.5
		5.0	10.0±1.0	4.0	10.5±0.6	2.3
	E124	–	18.0 ±3.0	6.7	17.0±2.0	4.7
		10.0	29.0±4.0	5.6	27.0±3.0	3.0
Клубника йогурт	E124	–	6.0 ±1.0	6.7	5.2±1.0	0.8
		5.0	11.0±2.0	7.3	11.4±1.0	0.4
Персик йогурт	E110	–	12.0 ±2.0	6.7	12.0±1.0	6.7
		10.0	21.0±4.0	7.7	22.0±2.0	3.7
Клубника биокефир	E124	–	6.0 ±1.0	6.7	6.5±0.6	3.7
		5.0	12.0±2.0	6.7	12.0±0.7	2.4
Персик биокефир	E110	–	9.0 ±2.0	9.0	8.4±0.7	3.4
		5.0	13.0±2.0	6.2	14.0±1.0	2.9
Гранат йогурт	E102	–	16.0 ±3.0	7.6	16.0±2.0	5.0
		10.0	26.0±4.0	6.2	26.0±2.0	3.1
	E110	–	24.0 ±4.0	6.7	25.0±3.0	4.8
		10.0	34.0±5.0	5.9	35.0±3.0	3.5
Гранат биокефир	E102	–	6.0 ±1.0	6.7	6.5±0.6	3.7
		5.0	12.0±2.0	6.7	12.0±1.0	2.4
	E110	–	9.0 ±2.0	9.0	8.4±0.7	3.4
		5.0	13.0±2.0	6.2	14.0±1.0	2.9
Ежевика йогурт	E124	–	16.0 ±3.0	7.6	16.0±2.0	5.0
		10.0	26.0±4.0	6.2	26.0±2.0	3.1
	E131	–	24.0 ±4.0	6.7	25.0±3.0	4.8
		10.0	34.0±5.0	5.9	35.0±4.0	3.5

В исследованном диапазоне концентраций наблюдается наложение спектров в красителях E110 и E124. При этом они отсутствуют и в исследованных образцах эти красители совместно не присутствуют, обусловлено тем, что они не могут быть разделены без использования хемометрических методов. По результатам исследования оба метода дали точное количественное определение точной добавки исследуемых краситель. Благодаря применению метода твердофазной спектрофотометрии пластинок ПММ дает возможность получить сопоставимые по точности результаты по

сравнению со спектрофотометрией надосадочной жидкости при упрощении пробоподготовки. Твердофазно-спектрофотометрическая методика с применением ПММ позволяет определить СК в молочной продукции, об этом свидетельствуют результаты и метрологические характеристики определения красителей E122, E124, E124 и E133.

5.4 Алгоритм твердофазно–спектрофотометрического определения исследуемых красителей в кондитерских изделиях и контроль качества результатов анализа

Для определения содержания красителя E110 в мармеладе построена градуировочная зависимость по методу добавок при времени перемешивания 15 мин в диапазоне концентраций 0 – 14 мг/дм³, которая представлена на рисунке 5.7 (кривая 1). Уравнение градуировочной зависимости имеет вид $A_{482} = 0.1062 + 0.0121C$. Для проверки правильности результатов анализа построена градуировочная зависимость по методу добавок с добавкой при тех же условиях. Уравнение градуировочной зависимости имеет вид $A_{482} = 0.1525 + 0.0122C$. Аналогичным образом представлены графические зависимости для глазури (рис.5.9 , 5.10)

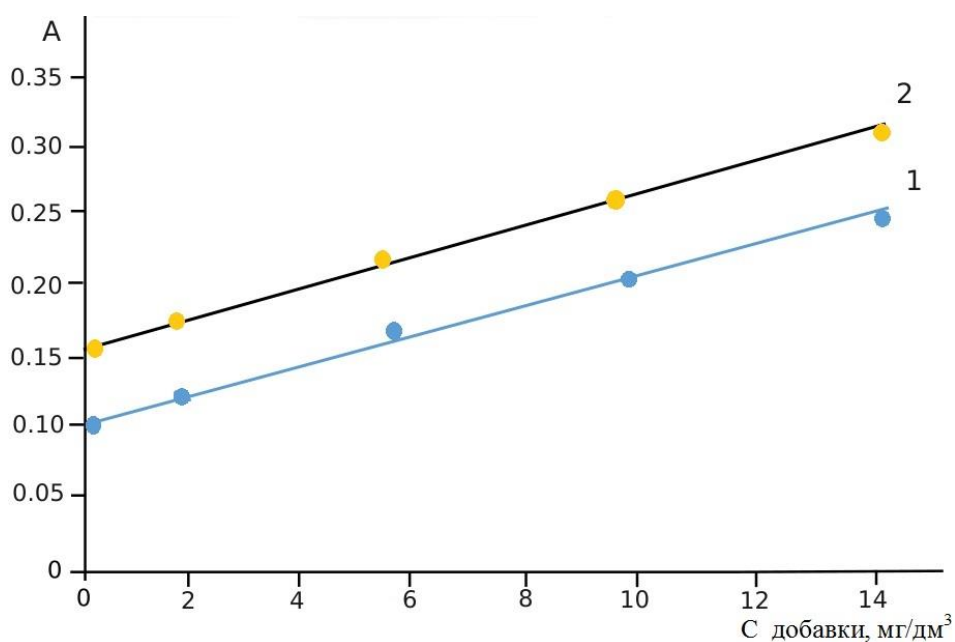


Рисунок 5.7 – Градуировочная зависимость оптической плотности для определения содержания красителя E110 в мармеладе по методу добавок: 1 – без добавки; 2 – с добавкой.

В состав мармелада входит концентрированный сок, лимонная кислота и сахар. Данные продукты не мешают определению красителя E131 в составе. Для оценки влияния «матрицы» объекта (красителя) на величину аналитического сигнала применяли метод добавок [110]. Добавка составляет 50% от концентрации красителя в растворе реального объекта.



Рисунок 5.8 – ПММ после сорбции красителя E131 из раствора мармелада



Рисунок 5.9 – ПММ после сорбции красителя E131 из раствора глазури

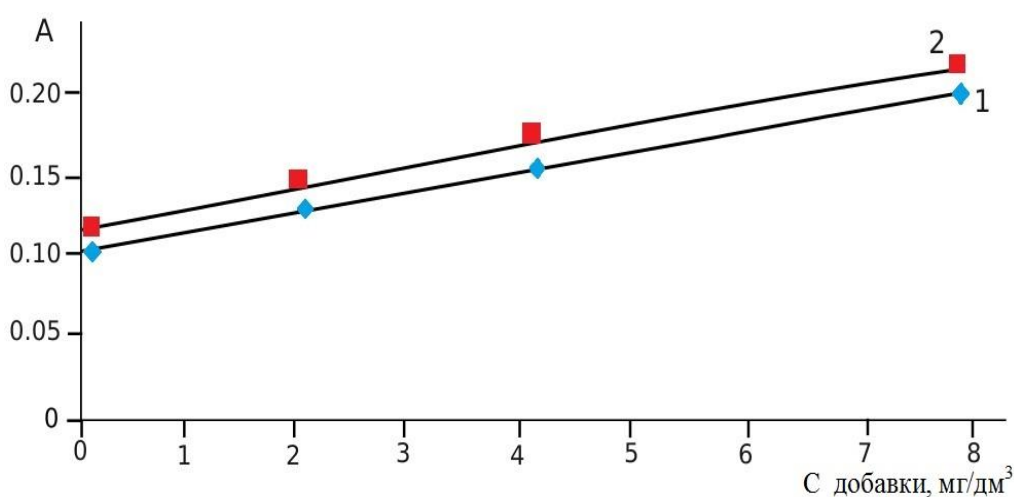


Рисунок 5.10 – Зависимости оптической плотности от концентрации при определении глазури: 1 – без добавки; 2 – с добавкой

Таблица 5.7– Проверка правильности методики определения исследуемых красителей в кондитерских изделиях с применением стандартных растворов ($n = 3 - 6$, $P = 0.95$)

Краситель	Объект	Способ построения градуировочного графика	Масса навески, г	C_{E133} , мг/кг	S_r , %	θ (*)	$t_{\text{эксп}}$	$t_{\text{теор}}$	Правильность $\sigma(\Delta_c)$, %
E133	Мармелад „Fini Sharks” (синий) ($\eta = 2$)	Метод стандартных растворов	5.5	19 ± 1	0.6	6.9	22.7	4.30	–
			10.9	12.1 ± 0.8	6				
	Мармелад „Fini Sharks” (зеленый) ($\eta = 2$)	Метод стандартных растворов	7.3	19 ± 13	7	13.5	13.4	2.57	–
			14.6	5.5 ± 0.6	10				
E124	Трехслойный мармелад «Томочка» (красный слой) ($\eta = 1,5$)	Метод стандартных растворов	7.3	28 ± 6	14	–10	4.20	3.18	–
			11.0	38 ± 4	6				

η – коэффициент разбавления пробы

(*) $\theta = C_{\text{красителя в пробе}} - C_{\text{красителя в пробе с измененной навеской}}$

Определение красителей в выбранных объектах проводят путем построения градуировочного графика с помощью стандартных растворов, а также для учета влияния матрицы объекта для определения красителей в кондитерских изделиях, расчет содержания красителей проводили по градуировочным зависимостям, построенным по методу добавок.

Как видно из таблицы 5.7, результаты, полученные по методу стандартных растворов, заниженные и не проходят по t – критерию, что может быть связано с влиянием матрицы объекта. Результаты определения синтетических красителей, полученные путем построения градуировочного графика с помощью метода добавок, дали удовлетворительные результаты, экспериментальные значения t не превышают табличных значений критерия Стьюдента. На основании этого, определение синтетических красителей в кондитерских изделиях предпочтительнее проводить по градуировочной зависимости, построенной с помощью метода добавок.

Таблица 5.8 – Проверка правильности методики определения исследуемых красителей в кондитерских изделиях с применением метод добавок ($n = 3-6$, $P = 0.95$)

Краситель	Объект	Масса навески, г	C_{E133} , мг/кг	S_T , %	θ (*)	$t_{\text{эксп}}$	$t_{\text{теор}}$	Правильность $\sigma(\Delta_c)$, %
E110	Мармелад*	4.7	13 ± 2	7	0.42	0.7	4.3	1.16
E131	Мармелад Ju–Ju–Juv	8	32.7 ± 6.3	5.8	5.72	1.72	4.3	3.2
E131	Арахис & Глазурь YOTA	2.7	103.7 ± 0.5	0.3	0.26	0.92		0.3
E133	Мармелад „Fini Sharks” (синий) ($\eta = 2$)	5	27.0 ± 7.1	11	2.0	0.79	3.9	7
		10	25.7 ± 8.3	13		0.72	3.9	
	Мармелад „Fini Sharks” (зеленый) ($\eta = 2$)	5	10.3 ± 1.4	5	– 1	1	1.8	6
		10	11 ± 1.4	5		1	1.8	
E124	Трехслойный мармелад «Томочка» (красный слой) ($\eta = 1,5$)	5	115 ± 8.2	2.7	6	1	2.2	3
		10	117 ± 7.3	2.5		1.4	2.9	

В таблицах 5.8, 5.9 представлены результаты определения исследуемых красителей в кондитерских изделиях, относительное стандартное отклонение, а также допустимое содержания красителей в пищевых объектах. Полученные результаты определения исследуемых красителей в выбранных кондитерских изделиях, пересчитанные на упаковку, не превышают их допустимого содержания.

Таблица 5.9 – Результаты определения исследуемых красителей в кондитерских изделиях

Краситель	Наименование		Содержание красителя, мг/кг		S _r , %	Допустимое содержание, мг/кг [1]
			пересчет на часть изделия, содержащую исследуемый краситель	пересчет на упаковку		
E133	Оболочка драже „Fini Beans”	синий	102 ± 7	11.4 ± 0.8	9	100
		светло–зеленый	10.9 ± 0,5	2.26 ± 0.11	7	
		зеленый	48.3 ± 2.2	4.11 ± 0.19	4	
	Оболочка драже „M&M” (синий)		43 ± 3	18 ± 1	9	
	Мармелад „Fini Sharks”	зеленый	16 ± 2	5.3 ± 0.4	8	
		синий	30 ± 4	5.5 ± 0.3	5	
	Мармелад трехслойный «Томочка»	(зеленый)	2.3 ± 0.3	0.78 ± 0.12	9	
E124		(красный)	165 ± 6	16.6 ± 0.6	4	50

5.5 Алгоритм определения исследуемых красителей в присутствии следов тяжелых металлов

Фруктовые соки могут быть потенциальным источником токсичных элементов, некоторые из которых обладают кумулятивным эффектом или приводят к проблемам с питанием вследствие низкой или высокой концентрации необходимых элементов [111,112]. Таким образом, чтобы гарантировать

безопасность пищевых продуктов, фруктовые соки требуют тщательного изучения. Вследствие загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами анализ микроэлементов в образцах сезонных фруктов, а также в их продуктах привлек значительное внимание [113]. Несколько аналитических методов предложены для обнаружения ионов металлов в фруктовых соках [114] масс-спектрометрия [115] с пределом определения $0,1 \text{ мкг/дм}^3$. Техника хронопотенциометрии [116] и полярографии [117] признаны вполне применимыми и экономически эффективными для определения ионов металлов, которые можно использовать для эффективной оценки качества напитков в диапазоне $10\text{--}180 \text{ мкг/дм}^3$. Эти методы определения ионов металлов, включая атомно-абсорбционную спектроскопию [118] масс-спектрометрию с индуктивно-сопряженной плазмой [119]. Электрохимия [120] часто накладывает серьезные ограничения на определение ионов металлов в пробах окружающей среды на месте.

Среди доступных методов обнаружения ионов металлов колориметрические оптоды представляют особый интерес [121]. Этот сенсорный подход, несомненно, является многообещающим для разработки коммерческих индикаторов, таких как тест-полоски, которые могут быть оценены визуально [122]. Такие оптические датчики являются перспективным направлением исследований в области разработки методов измерения и контроля для различных объектов [123]. Ионы металлов концентрируются в объеме сенсора, и их содержание оценивается по спектральным характеристикам в видимом спектре [124]. Анализ может быть проведен с использованием оптических датчиков на основе прозрачной полимерной матрицы, модифицированной гидрофильным компонентом, таким как полиэтиленгликоль. Структура ПММ улучшает сорбцию органических соединений в объем матрицы и помогает повысить чувствительность этого аналитического метода [125].

Основная цель этого исследования состоит в том, чтобы определить концентрации суммы ионов тяжелых металлов (СИМ) во фруктовых соках. Сочетание твердофазной экстракции и определения ионов металлов невооруженным глазом позволяет создать простой и чувствительный

колориметрический датчик на основе ПММ. Введение в сенсор 1- (2-пиридилазо) - 2-нафтола (ПАН) или 4- (2-пиридилазо) резорцина (ПАР) обеспечивает цветовую реакцию с ионами металлов [126].

Иммобилизацию в ПММ осуществляют путем их сорбции из водно-спиртового (25%) раствора $2,5 \cdot 10^{-4}$ М ПАН или $5,0 \cdot 10^{-4}$ М ПАР в течение 5 мин. Спектры поглощения ПАН или ПАР в ПММ соответствуют этим спектрам в хлороформе. В результате мы получаем чувствительный элемент, окрашенный в желтый цвет для количественного определения ионов металлов с максимумом поглощения при 525–15нм.

ПАН давно признан чувствительным колориметрическим реагентом для ионов тяжелых металлов, образуя стабильно окрашенные стабильные комплексы благодаря присутствию в нем тиольной группы [127]. В присутствии ионов металлов и в зависимости от его концентрации, цвет оптода меняется на фиолетовый вследствие образования фиолетового комплекса. Это позволяет непосредственно точно измерить оптические и визуальные (рис. 5.13) характеристики оптода.

Зависимости аналитического сигнала от рН раствора и времени контакта изучают для установления оптимальных условий для определения СИМ. Зависимость оптической плотности модифицированного ПММ ПАН от рН водного раствора ионов металлов показана на рис. 5.12.

Оптимальный рН полученного комплекса ионов ПАН и металлов составляет 5.2. При рН 3–4 реакция между ПАН и ионами металлов является нестабильной вследствие протонирования атома серы, что снижает донорно-акцепторное взаимодействие. Тогда как при рН 6–9 реакция становится нестабильной, поскольку ионы металлов образуют гидроксильный комплекс и выпадают в осадок.

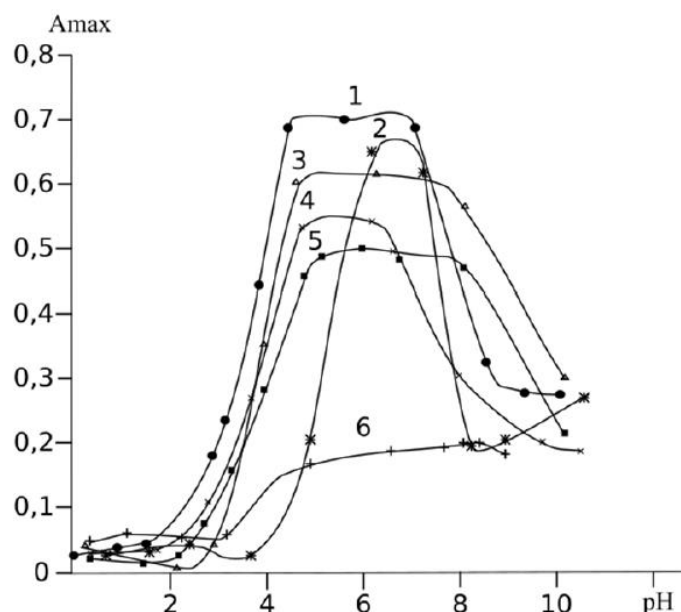


Рисунок 5.12 – Зависимость поглощения ПММ-ПАН от pH образца для катионов: 1 – Ni^{2+} ; 2 – Mn^{2+} ; 3 – Zn^{2+} ; 4 – Cu^{2+} ; 5 – Cd^{2+} ; 6 – Pb^{2+}

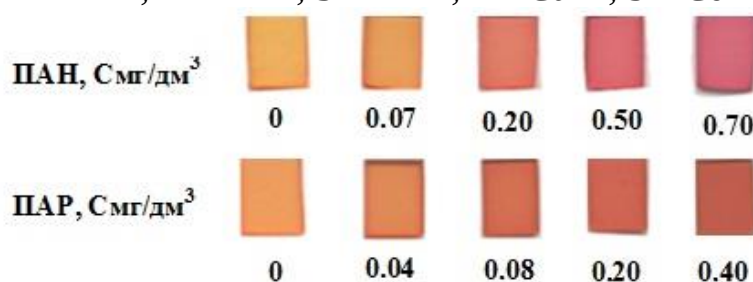


Рисунок 5.13 – Сканированные изображения ПММ, модифицированного ПАН или ПАР после контакта с раствором СИМ различных концентраций, $V = 50$ мл, pH 5.2

Представлены спектры суммы тяжелых металлов для pH 3–4 и pH 5.5–6.5 в случае использования ПММ, модифицированной 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом. При pH 6 полосы поглощения красного красителя E124 совпадает с полосой поглощения красно-оранжевого комплекса ПАН тяжелого металла (рис.5.14), однако при pH 3 (рис 5.15) становится возможным разделение сигнала близких полос поглощения [128]. Разделение аналитических сигналов красителей других цветов с окрашенными комплексами металлов не представляет сложности.

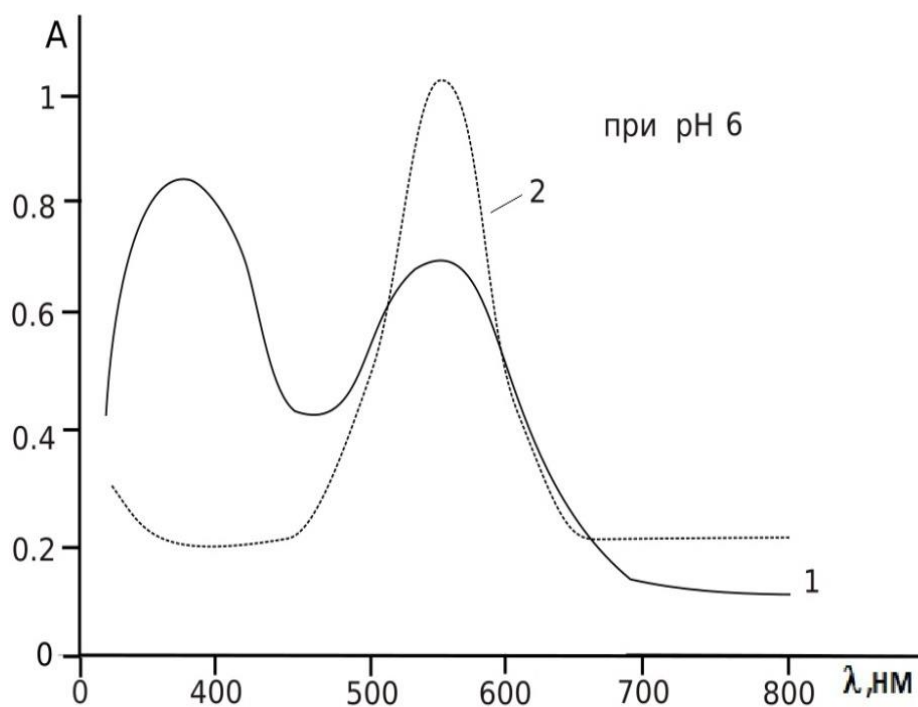


Рисунок 5.14 – Наложение спектров поглощения E124 и ПАН–Ме при pH 6

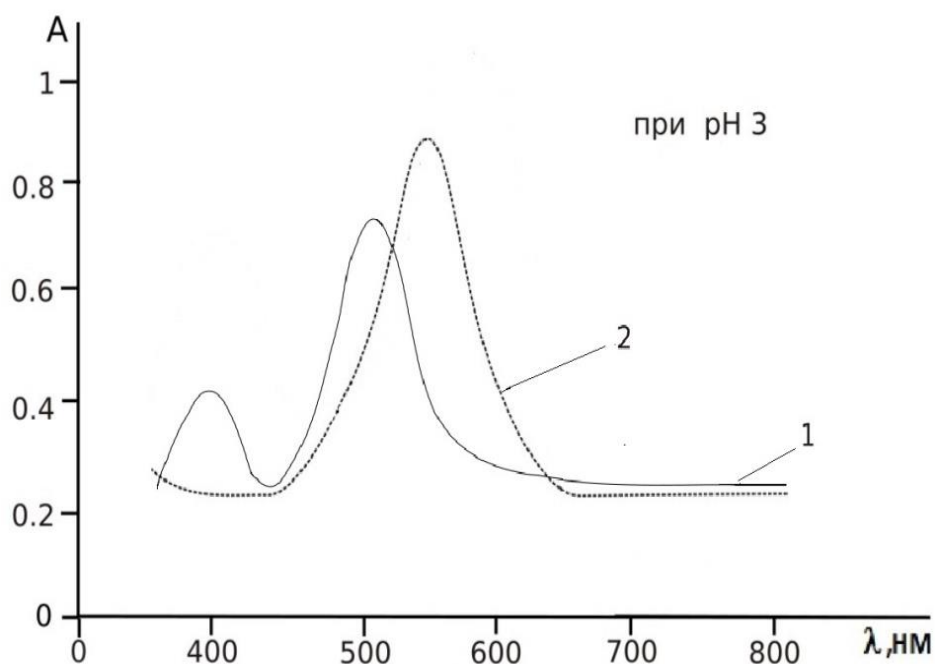


Рисунок 5.15– Разрешение спектров поглощения E124 и ПАН–Ме при pH 3

Точность предложенного метода подтверждена с использованием контрольного метода (табл. 5.10, 5.11). Предел обнаружения 20 мг/дм^3 рассчитан для спектрофотометрического метода при отношении сигнал/шум 3.

Таблица 5.10 – Метрологические характеристики определения катионов металлов в фруктовых соках

Метод обнаружения	Линейный диапазон, мг/дм ³	Уравнение регрессии	ПО мг/дм ³
Визуальный с ПММ (ПАН)	> 20		20
Спектрофотометрия с ППМ	0.1–30.0	$A=0.14_{\text{сим}} + 0.01$ ($R=0.9904$)	0.03
Контрольный метод (Спектрофотометрия)	0.2–21.0		0.06

Таблица 5.11 – Определение концентраций катионов металлов в различных фруктовых соках (n=5, P=0.95)

Образец	ТФС		СФ	
	С, мг/дм ³	Sr,%	С, мг/дм ³	Sr,%
Персик 1	0.27 ± 0.06	18	0.28 ± 0.03	9
Персик 2	0.23 ± 0.05	18	0.23 ± 0.03	10
Персик 3	0.19 ± 0.04	17	0.19 ± 0.02	8
Мультифруктовый 1	2.75 ± 0.22	6	2.75 ± 0.30	9
Мультифруктовый 2	0.95 ± 0.11	9	0.96 ± 0.05	4
Мультифруктовый 3	0.59 ± 0.07	10	0.60 ± 0.04	5
Апельсин 1	0.37 ± 0.06	13	0.37 ± 0.04	9
Апельсин 2	0.14 ± 0.02	12	0.16 ± 0.02	10
Апельсин 3	0.11 ± 0.02	12	0.10 ± 0.01	8
Яблочный 1	0.14 ± 0.02	12	0.14 ± 0.02	12
Яблочный 2	0.22 ± 0.05	18	0.21 ± 0.03	12
Яблочный 3	0.25 ± 0.05	16	0.25 ± 0.03	10
Манго 1	0.49 ± 0.08	13	0.50 ± 0.06	10
Манго 2	0.62 ± 0.08	10	0.63 ± 0.06	8
Ананасовый 1	1.37 ± 0.27	20	1.38 ± 0.09	5
Ананасовый 2	1.25 ± 0.21	13	1.25 ± 0.09	6
Ананасовый 3	0.97 ± 0.15	12	1.00 ± 0.08	6

Линейность диапазона концентраций сохраняется от 0.2 до 36 мг/дм³ со значением R, превышающим 0.999. Предлагаемый способ успешно применяется для визуального и спектрофотометрического определения ионов металлов в фруктовых соках.

ВЫВОДЫ

1. Исследована твердофазная экстракция азо- и трифенилметановых красителей в ПММ из водного раствора по механизму электростатических взаимодействий анионной формы красителя с положительно заряженными протонированными карбоксильными группами и кислородом сложноэфирных звеньев полимера. В спектре поглощения полиметакрилатной матрицы после экстракции присутствуют полосы поглощения, характерные для растворов красителей желтый «солнечный закат» E110, понсо 4R E124, кармуазин E122, патентованный синий E131 и синий блестящий E133.

2. Показана возможность прямого спектрофотометрического определения азо - и трифенилметановых красителей непосредственно в объеме ПММ после твердофазной экстракции. Установлено, что присутствует общая для красителей область pH 3–4, в которой синтетические красители экстрагируются при их совместном присутствии в течение 15 минут. Определению не мешают компоненты пищевой матрицы и наличие взвешенных частиц в объекте анализа.

3. Показана возможность определения нескольких синтетических красителей в присутствии катионов тяжелых металлов при pH 3–4 в случае использовании ПММ, модифицированной 1-(2-пиридилазо) -2-нафтолом.

4. Разработаны и апробированы способы твердофазно-спектрофотометрического и колориметрического определения синтетических красителей желтый «солнечный закат» E110, понсо 4R E124, кармуазин E122, патентованный синий E131 и синий блестящий E133 в пищевых продуктах и напитках, в том числе при их совместном присутствии. Для спектрофотометрического определения перечисленных красителей, диапазон линейности градуировочной зависимости 0.1–25 мг/дм³ с пределом обнаружения 0.01 мг/ дм³.

Список сокращений и условных обозначений

ПММ – полиметакрилатная матрица

СК – синтетические красители

ТСХ – тонкослойная хроматография

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ОФ ВЭЖХ – обращено-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография

У ВЭЖХ – ультра высокоэффективная жидкостная хроматография

ПО – предел обнаружения

МС – масс спектроскопия

ПММА – полиметакрилат

ММА – метилметакрилат

ПВА – поливинилацетат

ПВХ – поливинилхлорид

ПАВ – поверхностно-активные вещества

CPE – cloud point extraction

ГОСТ Р ИСО – Государственный общесоюзный стандарт

РМГ – рекомендации по межгосударственной стандартизации

СКО – среднее квадратическое отклонение

ПАН – 1- (2-пиридилазо) -2-нафтол

ПАР – 4- (2-пиридилазо) резорцин

СИМ – сумма ионов тяжелых металлов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Южаков В.И. Агрегация молекул красителей и ее влияние на спектрально-люминесцентные свойства растворов / Южаков В.И. // Успехи химии.— 1992.— Т. 61.— № 6.— С.1114–1141.
2. Chung K. Azo dyes and human health / Chung K. // Journal of Environmental Science and Health. Part C. – 2016. – Т. 34. – №. 4. – P. 233–261.
3. Varzakas T. Advances in Food Additives and Contaminants / Varzakas T., Tzia C. // Handbook of Food Processing: Food Preservation. CRC Press, Taylor and Francis group. Boca Raton. FL. –2015. –V. 34. – pp. 319–388.
4. Chung K.T. Azo dyes and human health / Chung K.T. // Environment Science Health. Part C – 2016. – Vol.34. – P. 233–261.
5. Okafor S.N. Assessment of the health implications of synthetic and natural food colourants / Okafor S.N., Obonga W., Ezeokonkwo M.A., Nurudeen J., Orovwigho U., Ahiabuike J. // Pharmacy Bioscience food colorants, Regular Toxicology Pharmacy– 2015.–Vol.73.–P. 914–922.
6. Masone D. Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin / Masone D., Chanforan C. // Computational Biology Chemistry –2015. –Vol.56.–P.152–158.
7. Amchova P. Health safety issues of synthetic food colorants / Amchova P. , Kotolova H. // Regular Toxicology Pharmarcy –2015.–Vol.73.– P.914–922.
8. Basu A. Binding of carmoisine, a food colorant, with hemoglobin / Basu A., Kumar G.S. // spectroscopic and calorimetric studies, Food Research International –2015.– Vol.72.–P.54–61.
9. Stevens L.J. Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children / Stevens L.J., Kuczhek T., Burgess J.R., Stochelski M.A., Arnold L.E. , Galland L.// Nutrution Revenue 2013.–Vol.71.– P. 268–281.
10. Rovina K. Extraction and analytical methods for determination of Sunset Yellow (E110) / Rovina K., Acung L.A., Siddiquee S., Akanda J.K., Shaarani S.M. // Food Analytical Method –2017. –Vol.10. – P.773– 787.

11. Statement of EFSA, Refined exposure assessment for amaranth (E 123) // Journal of European food safety authority. – 2013. – Vol. 11.– №10.–P.3442 – 3460.
12. Statement of EFSA, Scientific Opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive // Journal of European food safety authority.–2009. – Vol. 7. – №11. – P.1328.
13. Statement of EFSA, Reconsideration of the temporary ADI and refined exposure assessment for Sunset Yellow FCF (E 110) // Journal of European food safety authority. –2014. –Vol.12. – № 7. –P. 3765.
14. Statement of EFSA, Refined exposure assessment for Azorubine / Carmoisine (E 122) // Journal of European food safety authority.– 2015.– Vol.13.– №3. –P.4072.
15. Statement of EFSA, Refined exposure assessment for allura red AC (E 129) // Journal of European food safety authority.–2015.–Vol.13.–№ 2.– P.4007.
16. Statement of EFSA, Scientific opinion on the re-evaluation tartrazine (E 102) // Journal of European food safety authority. – 2009. – Vol.7.– № 11. –P.1331.
17. Lehto S. Comparison of food colour regulations in the EU and the US / Lehto S., Buchweitz M., Klimm A., Strabburger R. // Food Additives & Contaminants Part A. – 2017. –Vol.34.–P.335–355.
18. Орещенко А.В. О Пищевых добавках и продуктов. / Орещенко А.В. Берестень А.Ф. // Пищевая промышленность. – 1996. – №6. – с 136.
- 19.Смирнов Е.В. Пищевые красители. Справочник. СПб: Изд. «Профессия». 2009.– 352 с.
20. Sacide A. Determination of Tartrazine and Ponceau-4R in Various Food Samples by Vierordt's Method and Ratio Spectra First-Order Derivative UV Spectrophotometry / A. Sacide, S. Toptanw // Journal of food composition and analysis. – 2002. – Vol.15.–№6. – P. 667–683.
21. Малинка Е. В. Определение синтетического пищевого красителя Е110 в безалкогольном напитке / Малинка Е. В., Егорова А.В., Анельчик А.В., Антонович В.П. // Пищевая наука и технология. – 2015. – Т. 9.– № 1. – С. 29–32.
22. Рамазанова Г. Р. Сорбция пищевого красителя желтый «Солнечный закат» FCF из водных растворов и его определения с использованием

- спектроскопии диффузионного отражения / Г. Р. Рамазанова, Т. И. Тихомирова, В. В. Апяри // Журнал аналитической химии. – 2015. – Т. 70.– 6. – С. 602–607.
23. Statement of EFSA, Scientific Opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food Additive. // Journal of European food safety authority.– 2009. –Vol.7.–№ 11.– P. 1328–1333.
 24. Thetford D. Triphenylmethane and related dyes / Thetford D // Kirk–Othmer Encyclopedia of Chemical Technology JohnWiley&Sons, Hoboken, NJ– 2000.– pp.458–512.
 25. Statement of EFSA, Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Blue FCF (E 133) as a food additive // Journal of European food safety authority. – 2010. – Vol. 8. – № 11. – P.1853.
 26. Пищевые добавки: Энциклопедия. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб: ГИОРД, 2004. – 808 с. 534 – 536.
 27. Kus E. Genotoxic and cytotoxic effects of sunset yellow and brilliant blue, colorant food additives, on human blood lymphocytes / Kus E., Eroglu H. E. // Pakistan journal of pharmaceutical sciences. – 2015. – Vol. 28.–№ 1. – P. 227–230.
 28. ГОСТ Р 52470–2005 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в алкогольной продукции. – М.: Стандартинформ, 2006.– 23с.
 29. ГОСТ Р 52671–2006 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в карамели. – М.: Стандартинформ, 2006.– 20с.
 30. ГОСТ Р 52825–2007 Продукты пищевые. Метод определения наличия синтетических красителей в пряностях. – М.: Стандартинформ, 2008.– 10с.
 31. Bonan S. Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector / Bonan S., Fedrizzi G., Menotta S., Elisabett, C. // Dyes and Pigments Elsevier.–2013.– Vol.99.–№ 1.– P.36–40.

32. Karanikolopoulos G. Determination of synthetic food colorants in fish products by an HPLC–DAD method / Karanikolopoulos G., Gerakis A., Papadopoulou K., Mastrantonio I. // *Journal Food Chemistry*–2015. –Vol.177.–P.197–203.
33. Li X. Identification and determination of 34 watersoluble synthetic dyes in foodstuff by high performance liquid chromatography–diode array detection–ion trap time–of–flight tandem mass spectrometry / Li X. Q., Zhang Q. H., Ma K., Li H. M., and Guo Z. // *Journal Food Chemistry*.–2015.– Vol. 182. –P.316–326.
34. Hajimahmoodi M. Determination of eight synthetic dyes in foodstuffs by green liquid chromatography / Afsharimanesh M., Moghaddam G., Sadeghi N., Oveisi M., Jannat B., Pirhadi E., Mazdeh F., Kanan H. // *Food Additives & Contaminants: Part A*.–2013.– Vol. 30.–№ 5 – P.780–785.
35. Bonan S. Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high–performance liquid chromatography coupled with diode–array detector / Bonan S., Fedrizzi G., Menotta S., Elisabetta C. // *Dyes and Pigments*. – 2013. – Vol. 99. – P. 36–40.
36. Sha O. Aqueous two–phase based on ionic liquid liquid–liquid microextraction for simultaneous determination of five synthetic food colourants in different food samples by high–performance liquid chromatography / Sha O., Zhy X., Feng Y., Ma Y // *Food Chemistry*. – 2015. – Vol. 174. – P. 380–386.
37. Sa O. Simultaneous ionic liquid aqueous two–phase extraction and spectrophotometric determination of amaranth and brilliant blue in food samples / Sha O., Zhu X. // *Analytical Chemistry*. – 2015. – Vol. 70. – № 5. – P. 558–565.
38. Hashem E.Y. Advanced spectrophotometric analysis of sunset yellow dye E110 in commercial food samples / Hashem E.Y., Saleh M.S., Al–Salahi N., Youssef A.K. // *Food Analytical Method* .–2016.–Vol.10. –P.865–875.
39. Heidarizadi E., Tabaraki R. Simultaneous spectrophotometric determination of synthetic dyes in food samples after cloud point extraction using multiple response optimizations / Heidarizadi E., Tabaraki R. // *Talanta*. – 2016. – Vol.148. – P.237–246.

40. Rovina K. Toxicology, extraction and analytical methods for determination of Amaranth in food and beverage products / Rovina K., Siddiquee S., Shaarani S. // *Trend Food Science and Technology*–2017.– Vol. 65. – P. 68–79.
41. Rovina K. Extraction, analytical and advanced methods for detection of allura red AC (E129) in food and beverages products / Rovina K., Siddiquee S., Shaarani S.M. // *Micro biology journal*. –2016. –Vol. 7. – P. 798.
42. Rovina K. Methods for the analysis of Sunset Yellow FCF (E110) in food and beverage products / Rovina K., Prabakaran P., Siddiquee S., Shaarani S. // *Trend Analytical Chemistry*. – 2016. – Vol. 85. –P. 47–56.
43. Tsai C.F. Determination of 20 synthetic dyes in chili powders and syrup–preserved fruits by liquid chromatography/tandem mass spectrometry / Tsai C.F., Kuo C.H., Shih D. // *Food Drug Analytical*.–2015.– Vol. 23. –P. 453–462.
44. Tang T.X. A rapid and green limit test method for five synthetic colorants in foods using polyamide thin–layer chromatography / Tang T.X. , Xu X.J., Wang D.M., Zhao Z.M., Zhu L.P., Yang D.P. // *Food Analytical Method*. – 2015. – Vol. 8. – P.459–466.
45. Liu F.J. Dispersive solid–phase microextraction and capillary electrophoresis separation of food colorants in beverages using diamino moiety functionalized silica nanoparticles as both extractant and pseudo stationary phase / Liu F.J., Liu C.T., Li W., Tang A.N. // *Talanta*.–2015.– Vol. 132.–P. 366–372.
46. Yamjala K. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry / Yamjala K. , Nainar M.S., Ramiseti N.R. // *Food Chemistry*.–2016.– Vol. 192. –P. 813–824.
47. Rovina K., Siddiquee S., Shaarani S.M. A review of extraction and analytical methods for the determination of tartrazine (E 102) in foodstuffs / Rovina K., Siddiquee S., Shaarani S.M. // *Critical Reviews Analytical Chemistry*.–2017.– Vol. 47. –P. 309–324.
48. Otles S. Handbook of Food Analysis Instruments / Otles S. // CRC Press, Taylor and Francis group, New York, 2016. – p. 532.
49. Hudari F.F. Advances and Trends in Voltammetric Analysis of Dyes, Applications of the Voltammetry / Hudari F.F., Brugnera M.F., Zandoni M.V. // *In Technology*– 2017.– p. 75–108.

50. Anargha P. Simultaneous densitometric determination of eight food colors and four sweeteners in candies, jellies, beverages and pharmaceuticals by normal-phase high performances thin layers chromatography using a single elution protocol / Anargha P., Malika S., Pranav S. // *Journal of Chromatography A*. – 2018. – Vol. 1572. – P. 152–161.
51. Sobanska A.W. SPE/TLC/Densitometric quantification of selected synthetic food dyes in liquid foodstuffs and pharmaceutical preparations / Sobanska A.W., Pyzowski J., Brzezinska E. // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. – 2017. – P. 9–17.
52. Martins N. Food colorants: challenges, opportunities and current desires of agroindustries to ensure consumer expectations and regulatory practices / Martins N. Roriz C.L., Morales P., Barros L., Ferreira I. // *Trends Food Science* –2016.–Vol. 52. –P.1–15.
53. Zou T. Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors / Zou T., He P., Yasen A., LiZ. // *Food Chemistry* – 2013. –Vol. 138. – P. 1742–1748.
54. Bonan S. Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector / Bonan S., Fedrizzi G., Menotta S., ElisabettaC. // *Dyes Pigments*. –2013. – Vol. 99. – P. 36–40.
55. Islam A. Determination of Sunset Yellow in different brands of orange jellies of Bangladesh by HPLC / Islam A., Sarker M., Khan S., Hossain Md. I., Abedin Md. Z // *Italian Journal of Food Science*. – 2019. – Vol. 31. – P. 184–194.
56. Yildirim S. Core-shell column approach to fast determination of synthetic dyes in foodstuffs by high-performance liquid chromatography / Yildirim S., Yasar A. // *Food Analytical Methods*. – 2018. – Vol. 11. – P. 1581–1590.
57. Xian Y. Simultaneous determination of 11 restricted dyes in cosmetics by ultra high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry / YP. Xian Xian Y., Wu Y., Guo X., Lu Y., Luo X., Luo D., Chen Y. // *Analytical methods*. – 2013. – Vol.5. – P. 1965–1974.

58. Mathiyalagan S. Determination of synthetic and natural colorants in selected green colored foodstuffs through reverse phase–high performance liquid chromatography / Mathiyalagan S., Mandal B.K., Ling Y.C. // Food chemistry. – 2019. – Vol. 278. – P. 381–387.
59. Chen X.H. Fast determination of seven synthetic pigments from wine and soft drinks using magnetic dispersive solid–phase extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry / Chen X.H., Zhao Y.G., Shen H.Y., Zhou L.X., Pan S.D., Jin M.C. // Journal of Chromatography A. – 2014. – Vol. 1346. – P. 123–128.
60. Liu F. J. Dispersive solid–phase microextraction and capillary electrophoresis separation of food colorants in beverages using diamino moiety functionalized silica nanoparticles as both extractant and pseudostationary phase / Liu F. J., Liu C. T., Li, W., Tang A.N. // Talanta. – 2015. – Vol.132. – P. 366–372.
61. J. Yi. Sensitive simultaneous determination of synthetic food colorants in preserved fruit samples by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection / J. Yi., Zeng L., Wu Q., Yang L. // Food Analytical Methods. – 2018. – Vol. 11. – P. 1608–1618.
62. Park M. Highly sensitive wavelength–dependent nonaqueous capillary electrophoresis for simultaneous screening of various synthetic organic dyes / Park M., Bahng S., Woo N., Kang S. // Talanta. – 2016. – Vol.152. – P. 236–243.
63. Rodriguez J.A. Magnetic solid phase extraction based on fullerene and activated carbon adsorbents for determination of azo dyes in water samples by capillary electrophoresis / Rodriguez J.A., Ibarra I.S., Miranda J.M., Barrado E., Santos E.M. // Analytical Methods. – 2016. – Vol.8. – P. 8466–8473.
64. Chen L. Simultaneous determination of nine banned azo dyes in foodstuffs and beverages by high–performance capillary electrophoresis / Chen L., Hu, J., Zhang W., Zhang J. // Food Analytical methods. 2015. – Vol. 8. – P.1903–1910.
65. Pelaez–Cid A. A. Determination of textile dyes by means of non–aqueous capillary electrophoresis with electrochemical detection / Pelaez–Cid A.A., Blasco–Sancho S., Matysik F.M. // Talanta. – 2008. – Vol. 75. – P. 1362–1368.

66. Otles S. Handbook of food analysis instruments / Otles S. // CRC Press, Taylor and Francis group. 2016. – 532 p.
67. Waring D.R. The Chemistry and Application of Dyes / D.R. Waring D.R., Hallas G. // Springer Science & Business Media, New York, 2013, p. 413.
68. Rodriguez–Amaya D.B. Natural food pigments and colorants / Rodriguez–Amaya D.B. // Current Opinion in Food Science – 2016.– Vol.7. – P. 20–26.
69. Konig J. Food colour additives of synthetic origin/ Konig J. // J. Michael Scotter (Ed.), Colour Additives for Foods and Beverages, Woodhead Publishing, Cambridge. 2015.– pp. 35–60.
70. Carocho M. Adding molecules to food, pros and cons: a review on synthetic and natural food additives / Carocho M., Barreiro M.F., Morales P., Ferreira I. // Comprehensive Review in Food Science F. – 2014.–Vol.13 –P.377–399.
71. Martins N. Food colorants: challenges, opportunities and current desires of agroindustries to ensure consumer expectations and regulatory practices / Martins N., Roriz C.L., Morales P., Barros L., Ferreira I. // Trends Food Science Technology – 2016. –Vol.52. –P.1–15.
72. Fogg A. G. Direct differential–pulse polarographic determination of mixtures of the food colouring matters Tartrazine–Sunset Yellow FCF, Tartrazine–Green S and Amaranth–Green S in soft drinks / Fogg A. G. , Yoo K. S. // Analyst. –1979.–Vol. 104. – P. 723–729.
73. Gomez M. Adsorptive stripping voltammetric determination of Tartrazine and Sunset Yellow in gelatins and soft drink powder in the presence of cetylpyridinium bromide / Gomez M., Arancibia Vol. , Rojas C., Nagles E. // International journal Electrochemistry Science– 2012.– Vol.7.–P. 7493–7505.
74. Scholz F. Electroanalytical methods /Scholz F.// Berlin–Heidelberg: Springer. – 2010.–Vol. 2.–347 p.
75. Липских О.И. Определение кармуазина в безалкогольных напитках методом вольтамперометрии / Липских О.И., Короткова Е.И., Дорожко Е.В. Дерина К. В., Воронова О. А. //Заводская лаборатория. Диагностика материалов–2016.– Т. 82. –№6.– С. 22–26.

76. Lipskikh O.I. Voltammetric determination of Tartrazine in food / Lipskikh O.I., Nikolaeva A.A., Korotkova E.I. // *Analytical Chemistry*. – 2017. – Vol. 72. – №4. – P. 396–401.
77. Antakli S. Simultaneous determination of Tartrazine and Brilliant Blue in Foodstuffs by Spectrophotometric method / Antakli S., Nejeh L., Katran S. // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. – 2015. – Vol. 7. – P. 214–218.
78. Mortazavi S. Sensitive nanosilver-based spectrophotometric determination of Brilliant Blue FCF in surface water samples / S. Mortazavi, R. Sahraei, A. Farmany // *Water Science and Technology*. – 2013. – Vol. 67. – P. 2302–2311.
79. Ni Y. Simultaneous kinetic spectrophotometric analysis of five synthetic food colorants with the aid of chemometrics / Ni Y., Wang Y., Kokot S. // *Talanta*. – 2009. – Vol. 78. – P. 432–441.
80. Asadpour-Zeynali K. Simultaneous spectrophotometric determination of Sunset Yellow and Quinoline Yellow in a Single Step / Asadpour-Zeynali K., Manafi – Khoshmanesh S. // *Journal of the Chinese Chemical Society*. – 2015. – Vol. 62. – P. 772–779.
81. Hajimahmoodi M. Simultaneous determination of Carmoisine and Ponceau 4R / Hajimahmoodi M., Sadeghi N., Oveisi M., Jannat B., Nilfroush E. // *Food Analytical Methods*. – 2008. – Vol. 1. – P. 214–219.
82. Antakli S. Simultaneous determination of tartrazine and carmoisine in foodstuffs by spectrophotometric method / Antakli S., Nejeh L., Ahmad W.A. // *International Journal of Academic Scientific Research*. – 2016. – Vol. 4. – №1. – P. 83–96
83. Серова В.Н. Оптические и другие материалы на основе прозрачных полимеров: монография / В.Н. Серова; Федер. агентство по образованию, Казан. гос. технол. ун-т. – Казань: КГТУ, 2010. – 540 с.
84. Гудимов, М.М. Органическое стекло / М.М. Гудимов, Б.В. Перов. – М.: Химия, 1981. – 216 с.
85. Шепурев, Э.И. Полимерные оптические материалы. / Э.И. Шепурев. – Л.: ЛДНТП, 1987. – 20 с.

86. Торбин, И.Д. Применение прозрачных термопластов в оптической промышленности / И.Д. Торбин, Ю.Ф. Даминов // Пласт. массы. – 1977. – № 3. – С. 61–63.
87. Рупышев, В.Г. Прозрачные полимерные материалы / В.Г. Рупышев, Е.И. Кривченко // Полимерные материалы. – 2006. – № 11 – 12. – С. 41–45.
88. Шепурев, Э.И. Полимерные оптические материалы и их применение / Э.И. Шепурев // Свойства и применение оптич. и прозрачных полимеров: мат. науч.–техн. конф. – Л.1984. – С. 4–11.
89. Muravyov S.V. Colorimetric scales for chemical analysis on the basis of transparent polymeric sensors / Muravyov S.V., Gavrilenko N.A., Spiridonova A.S., Silushkin S. V, Ovchinnikov P.G. // Journal Physic Conference Serria – 2010.–Vol.238. – № 1. – P.12–51.
90. McCarthy J. F. Effect of pH on sorption and transport offluorescent dyes as groundwater tracers / McCarthy J. F., Howard K. M., McKay L. D. // Journal of Environmental Quality. –2000. – Vol. 29. –P.1806–1813.
91. Шеррингтон Д. Получение, свойства и применение реагентов, закрепленных на полимерных носителях / Шеррингтон Д. // Успехи химии. –1991.– Т. 60. –№ 7. – С. 1494.
92. Брыкина Г.Д. Твердофазная спектрофотометрия / Брыкина Г.Д., Крысина Л.С., Иванов В.М.// Журн. аналит. химии. –1988. –Т. 43.– № 9. –С.1547
93. Островская В.М. Вода. Индикаторные системы / В.М. Островская, О.А. Запорожец, Г.К. Будников, Н.М. Чернавская. М.: ВИНТИ РАН.– 2002.– 266 с.
94. ГОСТ Р 32745–2014 Добавки пищевые. Красители триарилметановые. Технические условия. – М.: Стандартиформ, 2016. – 42 с.
95. ГОСТ Р 55579–2013 Добавки пищевые. Азокрасители. Технические условия. – М.: Стандартиформ, 2015. – 39 с.
96. РМГ 61–2010 Государственная система обеспечения единстваизмерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. – Введ. 2012–09–01. – М.: Стандартиформ, 2012. – 59с.

97. ГОСТ Р ИСО 5725–6–2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Ч.6. Использование значений точности на практике. – М.: Стандартинформ, 2009. – 42 с.
98. Heidarizadi E. Simultaneous spectrophotometric determination of synthetic dyes in food samples after cloud point extraction using multiple response optimizations / Heidarizadi E., Tabaraki R. // *Talanta*. – 2016. – Vol. 148. – P. 237–246.
99. Хальзова С. А. Определение синтетических красителей в жидких средах пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками: дис. канд. хим. наук / С. А. Хальзова. – Воронежский Государственный Университет, 2017. – 157 с.
100. Чеботырев А. Н. Ионно–молекулярные формы Бриллиантового Голубого FCF в растворах по данным спектрофотометрии / Чеботырев А. Н., Бевзюк Е.В., Снигур Д.В., Базель Я.Р. // *Журнал физической химии*. – 2017. – Т. 91. – № 10. – 1694–1699 с.
101. Bevziuk K. Adsorption of anionic food azo dyes from aqueous solution by silica modified with cetylpyridinium chloride / Bevziuk K., Chebotarev A., Koicheva A., Snigur D. // *Journal of Molecular Structure*. – 2018. – Vol.149. – № 12. – P.2153-2160.
102. Чеботырев А. Н. Кислотно–основные и цветометрические характеристики пищевого красителя Желтый «солнечный закат» / Чеботырев А. Н., Бевзюк Е.В., Христова Н. М., Столовник Е. А. // *Вестник Одесский Национальный Университет, Химия*. – 2014. – Т. 19, –№2. – С. 50–57.
103. Bevziuk K. Protonation of Patented Blue V in aqueous solutions: theoretical and experimental studies / Bevziuk K., Chebotarev A., Fizer M., Klochkova A., Pliuta K., Snigur D. // *Chemical science*. – 2018. – Vol. 130. – №2. – P.121–128.
104. Bevziuk K. Spectrophotometric and theoretical studies of protonation of Allura Red AC and Ponceau 4R / Bevziuk K., Chebotarev A., Koicheva A., Snigur D. // *Journal of Molecular Structure*. – 2017. – Vol. 1144. – P. 216–224.
105. European Parliament and Council Directive № 95/2/EC. On food additive other than colours and sweeteners. // *Official Journal* 1995. – L 61. – P.63

106. Dudkina A.A. Colorimetric determination of food colourants using solid phase extraction into polymethacrylate matrix / Dudkina A.A., Volgina T.N., Saranchina N.V., Gavrilenko N.A., Gavrilenko M.A. // *Talanta*. –2019. –Vol. 202. – P. 186–189.
107. СанПиН 2.3.2.1293–03 Гигиенические требования по применению пищевых добавок. – М.: Минздрав России, 2003. – 416 с.
108. Дудкина А. А. Определение пищевых синтетических красителей в кисломолочных продуктах методом твердофазной спектрофотометрии / А. А. Дудкина, Т. Н. Волгина, М. А. Гавриленко // *Современные технологии, экономика и образование: сборник трудов Всероссийской научно–методической конференции, г. Томск, 27–29 декабря 2019 г.* — Томск : Изд–во ТПУ, 2019. — С. 50–51.
109. Габриелян О.С. Пищевые добавки. / Габриелян О.С. Крупина Т.С. // - М.: Издательский дом "Дрофа", 2010.– 178с.
110. Дворкин В. И. Метрология и обеспечение качества количественнохимического анализа / Дворкин. В. И. – Москва : Химия, 2001. – 263 с.
111. García E.M., Cabrera C., Sánchez J., Lorenzo M.L., López M.C. Chromium levels in potable water, fruit juices and soft drinks: influence on dietary intake / García E.M., Cabrera C., Sánchez J., Lorenzo M.L., López M.C. // *Science Total Environment* – 2003.–Vol.241.–P.143–150.
112. Tvermoes B.E. Screening level health risk assessment of selected metals in apple juice sold in the United States / Tvermoes B.E., Banducci A.M., Devlin K.D., Kerger B.D., Abramson M.M., Bebenek I.G., Monnot A.D. // *Food Chemistry Toxicol.*– 2014.–Vol. 71.–P. 42–50.
113. Cindri I.J. Comparison of sample preparation methods for the ICP–AES determination of minor and major elements in clarified apple juices / Cindri I.J., Zeiner M., Kröppl M., Stingeder G. // *Microchemistry*. – 2011. – Vol.99. – P.364 –369.
114. Dehelean A., Magdas D.A. Analysis of mineral and heavy metal content of some commercial fruit juices by inductively coupled plasma mass spectrometry / Dehelean A., Magdas D.A. // *Science World*. –2013. – Vol. 215. – P.1–6.

115. Coco F.L. Determination of cadmium and lead in fruit juices by stripping chronopotentiometry and comparison of two sample pretreatment procedures / Coco F.L., Monotti P., Cozzi F., Adami G. // Food Control.–2006.–Vol.17.–P. 966–970.
116. Kocak S., Tokusoglu O., Ayçan S. Some heavy metal and trace essential element detection in canned vegetable foodstuffs by differential pulse polarography (DPP) / Kocak S., Tokusoglu O., Ayçan S.// Environment Agriculture Food Chemistry.–2005.–Vol. 4.–P. 871–878.
117. Leao D.J. Simultaneous determination of cadmium, iron and tin in canned foods using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry / Leao D.J., Junior M.M., Brandao G.C., Ferreira S.L. // Talanta. – 2016.–Vol. 153. – P.45–50.
118. Froes R.E.S. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry / Froes R.E.S., Neto W.B., Silva N.O.C., Naveira R.L.P., Nascentes C.C., Silva J.B.B. // Spectrochim. Acta B Atom Spectroscopy. – 2009.–Vol. 64. – P.619–622.
119. Arino C. Voltammetric determination of metal ions beyond mercury electrodes/ Arino C., Serrano N., Díaz-Cruz J.M., Esteban M. // Analytical Chemistry Actaul. – 2017.–Vol. 990.–P.11–53.
120. Wang J. A micro-plate colorimetric assay for rapid determination of trace zinc in animal feed, pet food and drinking water by ion masking and statistical partitioning correction / Wang J., Niu Y., Zhang C., Chen Y. // Food Chemistry.– 2018.– Vol. 245.–P.337–345.
121. Guo S. Paper-based analytical devices prepared with polycaprolactone printing and their application in the activity determination of mulberry extracts / Guo S., Shao J., Gong X. // Journal Pharmacy Biomedical Analytical. – 2018. – Vol.161. – P. 28–34.
122. Kaur G. Colorimetric determination of Cu^{2+} ions in water and milk by apotirosinase / Kaur G., Verma N. // discipline Sensors Actuators B Chemistry. –2018. – Vol. 263.–P.524–532.

123. Kukkar D. A critical review on the metal sensing capabilities of optically active nanomaterials: Limiting factors, mechanism, and performance evaluation / Kukkar D., Vellingiri K., Kumar Vol. , Deep A., Kim K. // Trends in Analytical Chemistry. –2018. – Vol. 109.– P. 227–246.
124. Fedenko Vol. S. UV-vis spectroscopy and colorimetric models for detecting anthocyanin–metal complexes in plants: An overview of in vitro and in vivo techniques / Fedenko Vol. S., Shemet S.A., Landi M. // Journal Plant Physysical. – 2017.– Vol. 212.–P.13–28.
125. Gavrilenko M.A. Polymethacrylate sorbent for the solid-phase extraction of amines / Gavrilenko M.A., Gavrilenko, N.A. // Mendeleev Communication. –2006. –P.117–119.
126. Gavrilenko N.A. A colorimetric sensor based on a polymethacrylate matrix with immobilized 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol for the determination of cobalt / Gavrilenko N.A., Saranchina N.V., Gavrilenko M.A. // Analytical Chemistry –2015.–Vol.70.– P.1475–1479.
127. Safari, Z. Spectrophotometric study of complexformations between 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) and some metal ions in organicsolvents and the determination of thermodynamic parameters / Safari, Z., Gholivand, M.B., Hosseinzadeh, L. // A Molecular Biomolecular Spectroscopy.–2011.– Vol. 78.– P.1606–1610.
128. Saranchina N.V. A simple method for colorimetric and naked–eye detection of mercury in fish products / Saranchina N.V., Dudkina A.A., Gavrilenko M.A., Gavrilenko N.A. // Materials Science Forum. –2019. – Vol. 970. – P. 219–226.