

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

На правах рукописи

Липских Ольга Ивановна

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ
КРАСИТЕЛЕЙ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ НА УГЛЕРОДСОДЕРЖАЮЩЕМ
МОДИФИЦИРОВАННОМ ЭЛЕКТРОДЕ**

02.00.02 – аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:

Доктор химических наук,

доцент

Короткова Елена Ивановна

Томск-2017

СОДЕРЖАНИЕ

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	11
1.1 История появления синтетических красителей.....	11
1.2 Классификация и номенклатура красителей.....	12
1.3 Физико-химические свойства синтетических красителей.....	14
1.3.1 Азокрасители.....	14
1.3.1.1 Кармуазин (E122).....	15
1.3.1.2 Тартразин (E102).....	16
1.3.1.3 Понсо 4R (E124).....	16
1.3.2 Трифенилметановые красители.....	17
1.3.2.1 Синий блестящий FCF (133).....	18
1.4 Токсичность и нормативы применения синтетических красителей в пищевых продуктах.....	19
1.5 Методы извлечения синтетических красителей из пищевой матрицы.....	21
1.5.1 Твердофазная экстракция.....	21
1.5.2 Жидкостная экстракция.....	23
1.5.3 Мицеллярная экстракция.....	25
1.6 Методы определения синтетических красителей.....	25
1.6.1 Спектрофотометрические методы.....	25
1.6.2 Хроматографические методы.....	27
1.6.2.1 Тонкослойная хроматография.....	27
1.6.2.2 Высокоэффективная жидкостная хроматография.....	28
1.6.3 Капиллярный электрофорез.....	30
1.6.4 Электрохимические методы.....	31
ГЛАВА 2. АППАРАТУРА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА.....	42
2.1 Приборы, электроды, ячейки, посуда.....	42
2.2 Реактивы.....	44

2.3 Объекты исследования.....	45
2.4 Приготовление растворов, модификатора.....	46
2.5 Методика эксперимента.....	48
2.6 Статистическая обработка результатов.....	48
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ОКИСЛЕНИЯ-ВОССТАНОВЛЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ НА МОДИФИЦИРОВАННОМ ЭЛЕКТРОДЕ.....	51
3.1 Характеристика модифицированного электрода.....	51
3.2 Исследование электрохимических свойств синтетических красителей на модифицированном электроде.....	53
3.3. Влияние различных факторов на аналитические сигналы синтетических красителей.....	55
3.3.1 Влияние pH фонового электролита.....	55
3.3.2 Влияние потенциала и времени электролиза.....	58
3.4 Исследование механизмов окисления-восстановления синтетических красителей на модифицированном электроде.....	60
3.4.1 Механизм окисления-восстановления азокрасителей.....	60
3.4.2 Механизм окисления-восстановления трифенилметанового красителя Синего Блестящего.....	64
3.5 Исследование адсорбционного характера электрохимического процесса.....	66
ГЛАВА 4. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ НА МОДИФИЦИРОВАННОМ ЭЛЕКТРОДЕ.....	68
4.1 Определение индивидуальных синтетических красителей.....	68
4.1.1 Определение азокрасителей.....	68
4.1.2 Определение трифенилметанового красителя Синего блестящего.....	70

4.2	Определение смеси синтетических красителей на модифицированном электроде.....	71
4.2.1	Совместное определение Понсо 4R и Тартразина.....	71
4.2.2	Совместное определение Тартразина и Синего блестящего.....	73
4.3	Определение натуральных и синтетических красителей.....	76
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ.....		79
5.1	Исследование влияния сопутствующих компонентов пищевой матрицы на электрохимические сигналы синтетических красителей.....	79
5.1.1	Влияние подсластителей, консервантов.....	79
5.1.2	Влияние желирующих веществ.....	80
5.2	Пробоподготовка пищевых продуктов.....	82
5.3	Определение синтетических красителей в пищевых продуктах методом спектрофотометрии.....	83
5.4	Методика количественного определения Кармуазина в напитках.....	85
5.5	Методика количественного определения Тартразина в драже, карамели, мармеладе.....	86
5.6	Методика количественного определения Понсо 4R в напитках, желе.....	87
5.7	Методика количественного определения Синего Блестящего в напитках, конфетах.....	88
5.8	Методика количественного определения смеси Понсо 4R и Татразина в конфетах, мармеладе.....	88
5.9	Методика количественного определения смеси Тартразина и Синего блестящего в напитках.....	89
ГЛАВА 6. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СМЕСИ ТАРТРАЗИНА И СИНЕГО БЛЕСТЯЩЕГО В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ.....		91

6.1	Разработка методики вольтамперометрического определения синтетических красителей Тартразина и Синего блестящего в пищевых продуктах при их совместном присутствии.....	91
6.2	Методика проведения измерений количественного содержания Тартразина и Синего блестящего в пищевых продуктах.....	95
6.3	Подготовка вольтамперометрической методики определения смеси Тартразина и Синего блестящего к метрологической аттестации.....	96
	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ.....	99
	ВЫВОДЫ.....	103
	Список литературы.....	105
	Приложение 1.....	123

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

СК – синтетические красители

СБ – Синий блестящий

МЭ – модифицированный электрод

УСЭ – углеродсодержащий электрод

УПЭ – углеродно-пастовый электрод

ЦПБ – цетилпиридиний бромид

УНТ – углеродные нанотрубки

Н.Ч. – наночастицы

МНТ – многостенные нанотрубки

ТРГ – терморасширенный графит

ИЖ – ионная жидкость

МИП – молекулярно-импринтированный полимер

ДИП – дифференциально-импульсная полярография

ДИВА - дифференциально-импульсная вольтамперометрия

ЦВ – циклическая вольтамперометрия

КВВ – квадратно-волновая вольтамперометрия

ВАМ ЛП – вольтамперометрия с линейной разверткой потенциала

ЦВА – циклическая вольтамперометрия

ПАВ – поверхностно-активное вещество

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. В настоящее время красители широко применяются для окрашивания продуктов питания, лекарственных препаратов с целью улучшения их внешнего вида или для восстановления первоначальной окраски, утраченной в процессе технологической обработки [1]. Традиционно, для окрашивания применяются как натуральные, так и синтетические красители (СК). И если несколько десятилетий назад большинство красителей имело натуральное происхождение, то в последнее время производители все чаще отдают предпочтение синтетическим, благодаря их хорошей окрашивающей способности и устойчивости к изменениям температуры, света и кислотности среды.

Несмотря на интенсивное использование СК, чрезмерное употребление продуктов, содержащих их в своем составе, может вызвать ряд негативных последствий для здоровья человека, таких как аллергические реакции, заболевания почек и печени, гиперактивность и перевозбуждение детей. Кроме того, СК могут являться канцерогенами.

В связи с этим, содержание СК в пищевых продуктах должно быть строго регламентировано. В Российской Федерации их допустимое содержание определяется нормами СанПин 1293-03 и варьируется от 50 до 500 мг на кг продукта. Однако иногда недобросовестные производители не соблюдают эти нормы. Кроме того, порой красители используют для фальсификации продуктов путем их подкрашивания, не предусмотренного рецептурой и технологией. Поэтому необходимость проведения строго контроля содержания СК в пищевых продуктах является в настоящее время актуальной задачей.

Несмотря на существующие методы определения СК, такие как спектрофотометрия, хроматография, капиллярный электрофорез, электрохимические методы находят все большее применение для этих целей благодаря высокой чувствительности, экспрессности, а также возможности определения нескольких красителей одновременно.

Целью данной работы является исследование физико-химических закономерностей окисления – восстановления ряда СК на модифицированном электроде (МЭ) с последующей разработкой методик их количественного определения в продуктах питания.

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать влияние различных факторов на электрохимические сигналы СК на модифицированном электроде (рН, потенциал и время электролиза)
2. Изучить физико-химические закономерности окисления-восстановления СК на поверхности МЭ. Предложить механизмы электродных реакций.
3. Оценить мешающее влияние компонентов пищевой матрицы на аналитические сигналы СК, полученные методом вольтамперометрии.
4. Оценить возможность совместного определения смеси СК.
5. Определить содержание как индивидуальных СК в пищевых продуктах, так и их смесей вольтамперометрическим и спектрофотометрическим методами
6. Разработать вольтамперометрическую методику определения смеси СК Тартразина и Синего блестящего (СБ). Рассчитать основные метрологические характеристики разработанной методики.

Научная новизна:

1. Впервые изучены физико-химические закономерности электровосстановления азокрасителей Кармуазина, Понсо 4R, Тартразина методом циклической вольтамперометрии на углеродсодержащем электроде (УСЭ), модифицированном углеродными чернилами
2. Впервые исследована закономерность изменения электрохимического сигнала красителя трифенилметанового ряда СБ от кислотности среды. Показано, что редокс-процесс носит квазиобратимый характер. Предложен механизм электродной реакции СБ на поверхности МЭ.
3. Модификатор на основе полимерной пленки из микрокристаллического графита и полистирола, нанесенный на поверхность УСЭ, впервые применен для определения синтетических красителей в объектах пищевой промышленности.

Разработан новый подход для определения смеси Тартразина и СБ в продукции пищевой промышленности методом катодной постоянноточковой вольтамперометрии, основанный на использовании различных рН фонового электролита.

Практическая значимость:

Разработаны вольтамперометрические методики определения, как индивидуальных красителей (Тартразина, Кармуазина, Понсо 4R), так и двух смесей красителей разных цветов (Тартразина и Понсо 4R, Тартразина и Синего блестящего) на МЭ в продукции пищевой промышленности. Установлены метрологические характеристики методики определения смеси Татразина и СБ, которые часто используются в смеси для придания продукту зеленого цвета. Показано, что при определении смеси красителей при разных рН, удается свести к минимуму их взаимное влияние. Вольтамперометрическая методика не требует дорогостоящего оборудования и сложной пробоподготовки, а также обладает высокой чувствительностью.

Разработанные методики можно рекомендовать к применению в аналитических лабораториях для контроля качества пищевых продуктов.

Личный вклад автора: состоял в обобщении, систематизации литературных данных по методам выделения, определения СК в пищевых продуктах, а также в проведении экспериментальных исследований и интерпретации полученных данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследования влияния рН, времени и потенциала электролиза на электрохимические сигналы СК (Тартразин, Кармуазин, Понсо 4R, Синий блестящий)
2. Физико-химические закономерности протекания реакции окисления-восстановления СК (Кармуазин, Тартразин, Понсо 4R, Синий блестящий) на МЭ

3. Влияние сопутствующих компонентов пищевой матрицы на аналитические сигналы СК (Кармуазин, Тартразин, Понсо 4R, Синий блестящий)

4. Вольтамперометрические методики определения индивидуальных красителей Тартразина, Кармуазина, Понсо 4R, а также смеси двух СК разных цветов Тартразина и Понсо 4R, Тартразина и Синего блестящего.

Апробация результатов работы: Основные результаты работы докладывались на VII молодежной конференции «Инновации в химии: достижения и перспективы – 2016» (Москва, 2016); V Всероссийской научной молодежной школы-конференции «Химия под знаком сигма: исследования, инновации, технологии» (Омск, 2016); XVII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2016); IX Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа «ЭМА 2016» (Екатеринбург-Леневка, 2016); X Всероссийской научной конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Баранул, 2016); XVIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2017); VIth international scientific conference, dedicated to EXPO-2017 (Karaganda, 2017).

Публикации: Опубликовано 9 работ, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 7 тезисов докладов на Всероссийских и международных конференциях.

Структура и объём работы: Диссертационная работа выполнена на 137 страницах машинописного текста и включает 38 рисунков, 25 таблиц и список литературы из 140 наименований.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. История появления синтетических красителей

Подкрашивать пищу люди научились в древние времена. Еще Плиний старший в 400г. до н.э. описал технологию подкрашивания вин с помощью экстракта алоэ. Существует множество исторических документов, свидетельствующих о том, что цветные неорганические соли, такие как сульфат меди, хромат свинца, сульфид ртути широко использовались для придания цвета различным пищевым продуктам: конфетам, джемам, желе, маринадам и т.д. По мере того, как налаживались торговые отношения между Европой и Азией в 17-18 веках, началось распространение таких продуктов, как чай, кофе, шоколад, а вместе с ними и новых окрашивающих веществ. Так, в хлеб часто добавляли мел, придавая ему более светлый оттенок, чай часто подкрашивали карбонатом меди, а для придания окраски красному стручковому перцу и порошку карри применяли оксид свинца и сульфид меди [2].

Ситуация резко изменилась в середине 19 века. В 1842г. Н.Н. Зинин открыл реакцию восстановления ароматических нитросоединений. Таким способом был получен анилин и некоторые другие аминопроизводные, что впоследствии послужило началом анилиноокрасочной промышленности. В 1834г. Рунге открыл фенол, а спустя некоторое время из каменноугольной смолы получил первый краситель – розоловую кислоту (аурин). В 1855г. профессор Варшавского университета Я. Натансон при нагревании анилина в среде дихлорэтана синтезировал синтетический краситель ярко-красного цвета, названный фуксином.

В 1856г. английский химик Уильям Перкин получил из каменноугольной смолы синтетический анилиновый краситель мовеин. Ткани, окрашенные этим красителем, сохраняли свой цвет даже после стирки и воздействия солнечных лучей. Уже через год Перкин начал промышленное производство анилина, нитробензола и мовеина, по достоинству оценив практическое значение своего открытия. Именно 1856г. считается датой возникновения СК и анилиноокрасочной промышленности.

После открытия мовеина химики многих стран принялись изучать каменноугольную смолу, синтезировать все новые органические красители, которые постепенно стали замещать неорганические соли. Впоследствии П. Гресс открыл реакцию диазотирования в 1858г и азосочетания в 1864г. Это привело к появлению азокрасителей. Производство антрахиноновых красителей началось с 1869г. когда К. Либерман и К. Греббе синтезировали ализарин. Впоследствии на основе ароматических аминов состоялись многочисленные открытия путей синтеза различных красителей [3, 4].

1.2 Классификация и номенклатура красителей

Существует несколько классификаций красителей. Первая из них основана на их происхождении. Согласно этой классификации все пищевые красители можно разделить на три группы: натуральные, неорганические и синтетические (Рис. 1) [5].

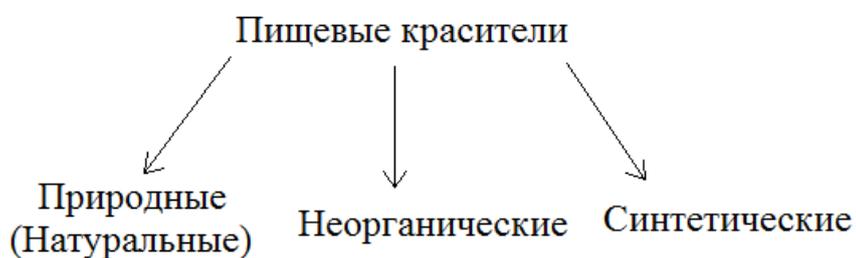


Рисунок 1 - Классификация пищевых красителей по происхождению

Натуральные красители получают из сырья растительного или животного происхождения. Так, например куркумин (E100) получают из корневищ куркумы, сахарный колер (E150) – при термической обработке пищевых углеводов (глюкозы, фруктозы), кармин (E120) – экстракцией из кошенили (тел самок насекомых *Dactylopius coccus costa*).

Неорганические красители получают из минерального сырья, как природного, так и химического происхождения. Наиболее часто встречающимся представителем неорганических красителей является диоксид титана (E171), получаемый из титансодержащих руд, а также карбонат кальция (E170i), получаемый из природного известняка или с помощью химического синтеза [6].

СК получают с помощью органического синтеза. Согласно классификации, основанной на химической структуре, можно выделить пять основных классов синтетических красителей: азокрасители, трифенилметановые, индигоидные, хинолиновые и ксантовые [7]. Основные представители каждого класса и общая хромоформная группа представлены на рисунке 2.

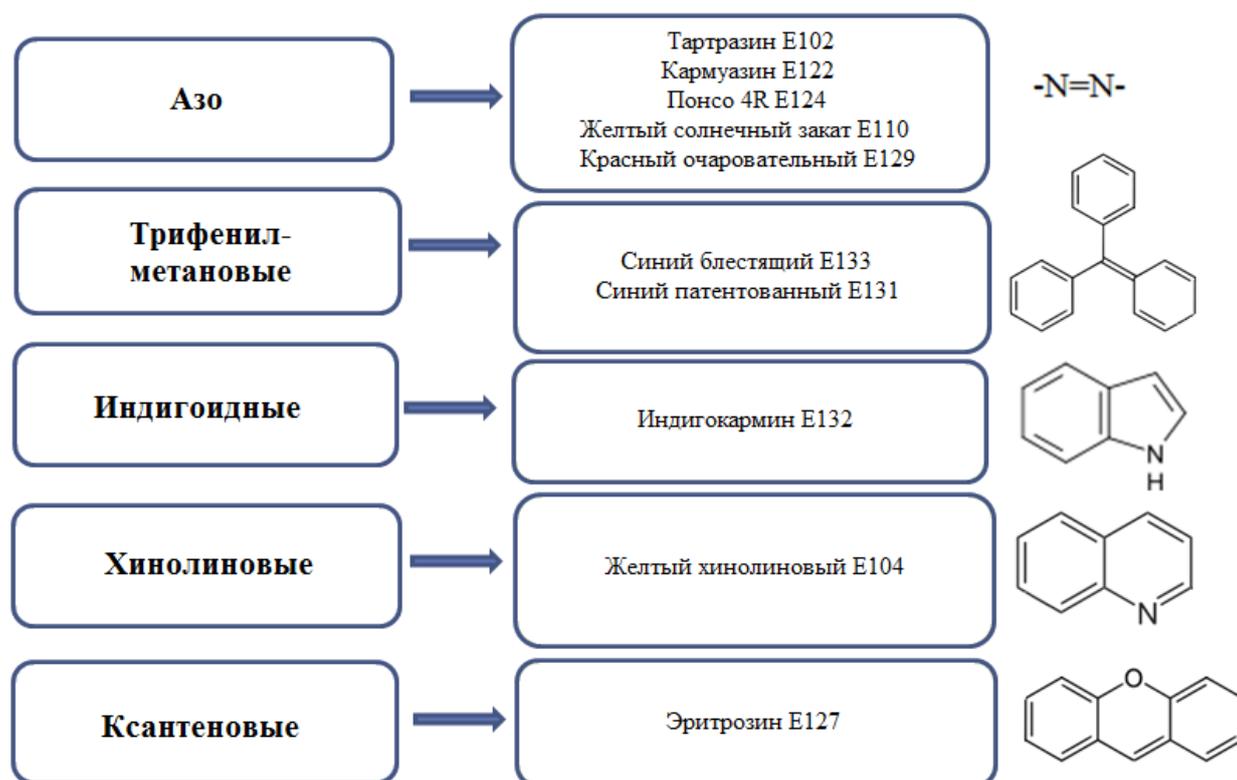


Рисунок 2 - Классификация СК по химическому строению

В странах Евросоюза в 1953г. была разработана система нумерации для классификации пищевых красителей, в соответствии с которой каждому красителю был присвоен уникальный номер, начинающийся с буквы «Е». Причем номера присваиваются как синтетическим, так и натуральным красителям (Табл. 1). Все пищевые добавки, в том числе красители, внесены в Кодекс Алиментариус [8].

Таблица 1 - Международная классификация пищевых красителей по номерам

Номер	E100-E199 Красители
E100-E109	Желтые
E110-E119	Оранжевые
E120-E129	Красные

Продолжение таблицы 1

E130-E139	Синие и фиолетовые
E140-E149	Зеленые
E150-E159	Коричневые и черные
E160-E199	Другие

В настоящее время в РФ к применению разрешено около 60 синтетических и натуральных красителей. Зная их буквенно-числовое обозначение, можно узнать наименование и происхождение каждого из них.

1.3 Физико-химические свойства синтетических красителей

Сегодня красители широко используются в различных видах промышленности: пищевой, фармацевтической, текстильной. В пищевом производстве наиболее часто их применяют при производстве напитков, кондитерских изделий, мороженого, консервов, соусов и т.д.

Широкое применение СК связано с их высокой устойчивостью к изменениям pH среды, стабильностью к нагреванию и свету, большой окрашивающей способностью, легкостью дозирования, устойчивостью окраски при хранении продукта. В большинстве случаев они дешевле натуральных красителей. Все они применяются обычно в форме натриевых солей. Прекрасная растворимость в воде позволяет вносить их в продукт в виде водных растворов или растворов в жидких компонентах продукта. Если необходим нерастворимый краситель, например, для окрашивания драже, используют пигменты или алюминиевые лаки, которые получают взаимодействием натриевых солей соответствующих красителей с гидроксидом алюминия.

1.3.1 Азокрасители

Цвет красителя определяется его способностью поглощать свет в видимой области спектра (400-700нм). Согласно теории О. Витта, каждое окрашенное вещество содержит хромоформные и ауксохромные группы. Хромоформные группы придают красителю цвет, в то время как ауксохромные его усиливают. Современная теория объясняет способность органических соединений поглощать

свет благодаря возбуждению π -электронов видимым светом [9]. Красители, содержащие в своем составе одну или несколько азогрупп $-N=N-$ составляют самый многочисленный и распространенный класс азокрасителей. Большое распространение они получили благодаря простоте получения, структурному разнообразию, высокому коэффициенту молярной экстинкции, а также благодаря своей высокой устойчивости по отношению к различным внешним факторам [10].

Наиболее распространенными представителями класса азокрасителей можно считать красители красного цвета Кармуазин (E122), Понсо 4R (E124) и желтого цвета Тартразин (E102). В РФ перечисленные азокрасители разрешены для окрашивания напитков, десертов, кондитерских изделий, маринованных продуктов и др.

1.3.1.1 Кармуазин (E122)

Кармуазин (Азорубин) принадлежит к группе азокрасителей красных оттенков. Химическая формула добавки $C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$ с молекулярной массой 502,44 г/моль. Его полное химическое название динатрий 4-гидрокси-3-(4-сульфонато-1-нафтилазо)-1-нафталин-сульфонат). Структурная формула представлена на рисунке 3. Кармуазин состоит из сложной тринатриевой соли красного цвета и вспомогательных веществ в виде хлорида натрия или сульфата натрия в качестве бесцветных компонентов. Кармуазин является натриевой солью, однако он также может быть представлен солями кальция и калия.

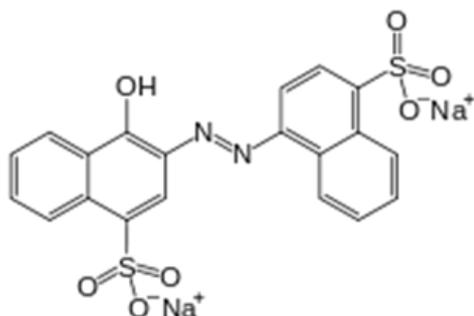


Рисунок 3 - Структурная формула кармуазина

Для употребления в тексте существует не менее 143 его синонимов. Наиболее встречающиеся из них опубликованы в литературе как CI Acid Red 14 и

CI Food Red 3. Кармуазин хорошо растворим в воде, при температуре 30°C растворимость достигает значения 260 граммов порошка на литр воды, слабо растворим в этаноле. Температура плавления кармуазина 300°C [11].

1.3.1.2 Тартразин (E102)

Тартразин — пищевой краситель синтетического происхождения. В природе в чистом виде не встречается. Его химическая формула $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$, молекулярная масса 534,37 г/моль. Полное химическое название тринатрий-5-гидрокси-1-(сульфонатофенил)-4-4-(сульфонатофенилазо)-н-пиразол-3-карбоксилат. Структурная формула тартразина представлена на рисунке 4. Наиболее часто встречающиеся синонимы тартразина - Yellow No. 5 и Food Yellow 4.

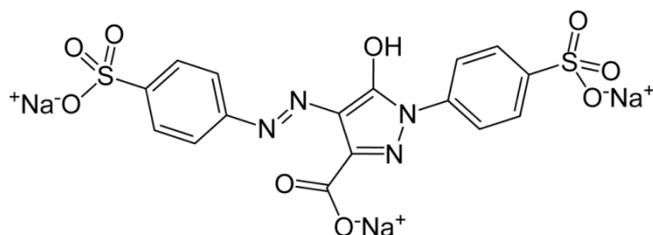


Рисунок 4 - Структурная формула тартразина

По своей физической форме тартразин — растворимый в воде порошок желтого цвета с золотым оттенком. Тартразин прекрасно растворяется в воде, при температуре 30°C растворимость достигает значения 260 граммов порошка на литр воды, умеренно растворим в этаноле. Температура плавления тартразина 300°C [11].

1.3.1.3 Понсо 4R (E124)

Понсо 4R также является синтетическим органическим азокрасителем с химической формулой $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$, молекулярной массой 604,48 г/моль и структурной формулой, представленной на рисунке 5.

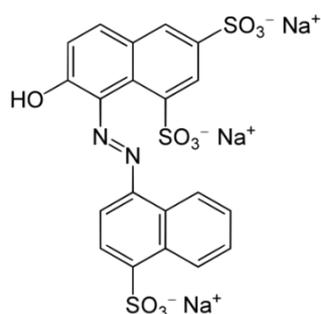


Рисунок 5 - Структурная формула Понсо 4R

Полное химическое название 2-гидрокси-1-1(4-сульфонато-1-нафтилазо)-6,8-нафталиндисульфонат тринатрия. Также можно встретить такие названия, как пунцовый 4R, кошенилевый красный А.

Понсо 4R (натриевая соль) отлично растворяется в воде с образованием растворов красного цвета, слабо растворим в этаноле [11].

1.3.2 Трифенилметановые красители

Второй по распространенности группой являются красители трифенилметанового ряда. Они имеют яркие цвета, высокую красящую способность, невысокую стоимость и могут использоваться для окрашивания широкого спектра продуктов. С химической точки зрения это монометиновые красители с тремя арильными системами, в которых присутствуют одна или несколько аминогрупп или гидроксильные группы. Также в структуре могут присутствовать такие группы, как карбоксильная, алкильная, сульфогруппа, количество и положение которых определяет глубину окраски трифенилметанового красителя. Однако красители трифенилметанового ряда менее устойчивы по сравнению с азосоединениями. В щелочной среде возможно их превращение в бесцветные карбинольные соединения (Рис. 6) [12]:

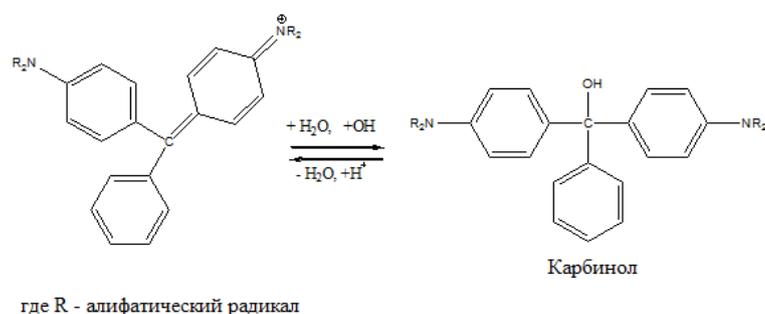


Рисунок 6 - Образование карбинольного соединения трифенилметанового красителя в щелочной среде

1.3.2.1 Синий Блестящий FCF (E133)

Одним из представителей трифенилметанового ряда красителей является СБ (другое название – «бриллиантовый голубой»). Его химическая формула $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$, молекулярная масса 792,86 г/моль, полное 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. Структурная формула представлена на рисунке 7.

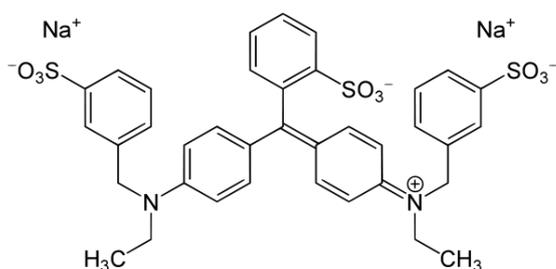


Рисунок 7 - Структурная формула СБ

Краситель хорошо растворяется в воде с образованием раствора ярко синего цвета, имеет слабую растворимость в этаноле [13].

В РФ данный краситель разрешен к применению при производстве мороженого, десертов, закусок, напитков и т.д.

1.4 Токсичность и нормативы применения синтетических красителей в пищевых продуктах

На сегодняшний день в мире нет единого мнения о степени вреда пищевых добавок с кодом «Е». Это связано с тем, что не существует единой официальной системы разделения добавок по степени вредного воздействия на организм человека. В законодательстве большинства стран просто прописан перечень разрешенных и запрещенных добавок и максимально допустимые их количества.

В 1887г. в Германии был издан первый законодательный акт, согласно которому было запрещено применение токсичных красителей при производстве продуктов питания. В тот же период во многих странах также стали появляться законодательные акты об использовании красителей. Но все они основывались на создании определенных списков, разрешавших использование любых красителей, кроме запрещённых. В настоящее время, наоборот, существуют списки разрешенных красителей, а все остальные принято считать неразрешенными к применению [5]. В результате многочисленных исследований негативного влияния СК на организм человека, их количество в разрешенных списках постоянно уменьшается.

Было показано, что регулярное употребление в пищу азокрасителей может приводить к появлению аллергических реакций, анемии, гематурии, заболеванию почек, печени, и даже летальному исходу [14]. По данным [15] токсичность азокрасителей обусловлена продуктами их распада. Азо-группа может легко подвергаться воздействию фермента азоредуктазы, встречающейся в различных микроорганизмах, животных и человеке. Такое воздействие приводит к образованию соответствующих ароматических аминов, большинство из которых токсичны и канцерогенны. Ароматические амины также могут присутствовать в красителе в качестве остаточных примесей. Есть данные о том, что СК могут приводить к гиперактивности и перевозбуждению детей, астматическим заболеваниям, особенно если они употребляются в избытке [16,17]. Также токсичность красителей может наблюдаться в результате их связывания с гемоглобином крови [18].

Красители трифенилметанового ряда, в том числе E133, при изменении pH, воздействии света легко переходят в лейко-форму, которая также проявляет токсичные и канцерогенные свойства [19].

В связи со всем вышесказанным, возникает необходимость регламентировать применение СК при производстве пищевых продуктов. Международный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам (JECFA) определяет величину максимального суточного потребления красителей на кг веса тела, которая колеблется от 4 мг/кг для Понсо 4R [20], Кармуазина [21], до 6,0 мг/кг для СБ [22] и 7,5 мг/кг для Тартразина [23] в сутки.

Существует также норматив максимального содержания СК в пищевых продуктах. В РФ количество СК в пище определяется «Гигиеническими требованиями по применению пищевых добавок» и варьируется от 50 до 500 мг/кг продукта (Табл. 2) [24].

Таблица 2 - Гигиенические регламенты применения красителей, мг/кг

Краситель Пищевые продукты	Тартразин (E102)	Кармуазин (E122)	Понсо 4R (E124)	СБ (133)
Безалкогольные напитки ароматизированные	100	50	50	100
Фрукты и овощи глазированные	200	200	200	200
Фрукты (окрашенные) консервированные	200	200	200	200
Сахаристые кондитерские изделия	300	50	50	300
Мороженое, фруктовый лёд	150	50	50	150
Сдобные хлебобулочные и мучные кондитерские изделия, макаронные изделия	200	50	50	200
Десерты, включая молочные продукты	150	50	50	150

Из-за отсутствия единой нормативной этики применения СК, могут возникнуть сложности при импорте или экспорте продуктов, т.к. один и тот же краситель может быть разрешен в одной стране, но запрещен в другой. Также нередки случаи замены натуральных красителей на синтетические самими

производителями с целью уменьшения производственных затрат. Кроме того, существует ряд продуктов, добавление красителей в которые вовсе не допускается. Всё это ещё раз показывает необходимость контроля содержания СК в продуктах питания и, как следствие, разработки экспрессных, недорогих методик их определения.

1.5 Методы извлечения синтетических красителей из пищевой матрицы

В большинстве методов определения СК, таких как спектрофотометрия и хроматография необходима процедура предварительного их выделения из пищевой матрицы. Многочисленные способы, описанные в литературе, сводятся к выделению красителей из объектов с последующим удалением мешающих компонентов с помощью твердофазной или жидкофазной экстракции.

1.5.1 Твердофазная экстракция

Наиболее распространенным способом извлечения красителей из пищевой матрицы является экстракция с помощью твердых сорбентов.

В РФ в соответствии с ГОСТ Р 52470-2005 [25], ГОСТ Р 52671-2006 [26], ГОСТ Р 52825-2007 [27] по определению СК в алкогольной продукции, карамели и пряностях пробоподготовка проводится с помощью патронов для твердофазной экстракции, заполненных оксидом алюминия. В зависимости от содержания красителя в образце используется от 1 до 5 патронов. После полной сорбции красителей проводится промывание патронов ледяной уксусной кислотой и их десорбция аммиаком до полного обесцвечивания сорбента. После чего элюат досуха выпаривают на водяной бане, сухой остаток растворяют в дистиллированной воде и проводят сначала качественное определение красителей хроматографированием в тонком слое сорбента, затем их количественное определение методом оптической денситометрии или спектрофотометрии.

Обзор литературы за последние пять лет показал, что для твердофазной экстракции используется большое количество различных сорбентов. Одним из наиболее распространенных сорбентов является полиамид. В работах [28-30] проведено извлечение синтетических красителей на полиамидном сорбенте из безалкогольных напитков, желе, мармелада, конфет. В качестве элюента для десорбции красителей применялся раствор аммиака (25%) или смесь метанола и аммиака в разных соотношениях. Дальнейшее определение красителей проводили с помощью ВЭЖХ с различными видами детектирования: диодно-матричным, УФ.

Силикагели с привитыми фазами C18 применяются для извлечения красителей из безалкогольных напитков. В качестве элюента используется изопропиловый спирт (18%) [31]. Дальнейшее определение красителей проводят с помощью ТСХ, ВЭЖХ.

Авторы работы [32] применяли синтезированный аминофункциональный низкомолекулярный полимер, с помощью которого провели извлечение E102, E133 из вина и безалкогольных напитков и их последующее определение методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Хитозан в качестве сорбента применили в работе [33] для извлечения нескольких красителей, в том числе E133 из пищевых продуктов, содержащих белок. Для десорбции красителей использовали смесь этанол:аммиак:вода (7:2:1). Количественное определение красителей проводили с помощью ВЭЖХ с УФ детектированием.

В последнее время наблюдается тенденция к миниатюризации процесса выделения красителей посредством применения способов микроэкстракции. Особое внимание для этих целей сосредоточено на различных магнитных частицах, благодаря их гомогенному распределению в фазе анализируемого раствора, большой площади удельной поверхности, и возможности контролировать и разделять их с помощью внешнего магнитного поля. В целом, процедура осуществления микроэкстракции сводится к добавлению магнитных наночастиц в анализируемый раствор, перемешиванию, выделению сорбента с

помощью магнита и десорбцию анализируемых компонентов подходящим растворителем [34].

Количество работ, представляющих использование магнитных частиц в качестве сорбентов, неуклонно растет. Так, в работе [35] описывается применение наночастиц Fe_3O_4 , поверхность которых модифицировали с помощью 3-(триметоксисилил)пропил метакрилата в качестве полимеризующегося силанового связывающего агента. С помощью полученных магнитных микросфер Fe_3O_4 проводили извлечение Понсо 4R, Тартразина из мороженого, коктейлей, безалкогольных напитков и их определение ВЭЖХ с УФ-детектированием.

Для модификации наночастиц Fe_3O_4 используют также биополимер зеин (белок кукурузного зерна) для сорбции Кармуазина и Понсо 4R из безалкогольных напитков и конфет. Далее проводят десорбцию красителей 0,5M раствором NaOH и их определение ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием [36]. Также для модификации наночастиц Fe_3O_4 применяется оксид графена [37] и полидопамин [38].

При модификации углерода с помощью $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, были получены магнитные частицы, с помощью которых провели извлечение E102 из безалкогольных напитков и его определение с помощью спектрофотометрического метода [39].

Несмотря на активное применение твердофазной экстракции для извлечения синтетических красителей из сложной пищевой матрицы, трудоемкость и многостадийность такой пробоподготовки, а также необходимость применения токсичных растворителей являются ее главными недостатками.

1.5.2 Жидкостная экстракция

Жидкостная экстракция заключается в разделении компонентов, основанном на их разной растворимости между двумя несмешивающимися жидкими фазами, как правило, органической и водной. Наиболее распространенными растворителями для экстракции синтетических красителей

(индивидуально или в комбинации) являются вода, этанол, метанол, изопропиловый спирт, этилацетат, циклогексан и др.

В работе [40] описывается применение смеси этанол:аммиак:вода (80:1:19) для эффективного извлечения семи синтетических красителей, в том числе Понсо 4R из корма для животных и последующее их определение ВЭЖХ с диодно-матричным детектором.

Для извлечения E102, E122, E124, E133 из безалкогольных напитков, желе, сухих смесей применяли смесь аммиак: метанол (10:90) [41], этанол: вода (1:1) [42].

Альтернативой стандартным органическим растворителям могут стать ионные жидкости (ИЖ). Физико-химические свойства ИЖ, такие как низкая температура плавления, негорючесть, вязкость, высокая полярность и способность растворять большое количество соединений, делают их объектами повышенного интереса [43].

Для определения E102, E124, E133 методом ВЭЖХ с УФ-детектированием проводится экстракция красителей из безалкогольных напитков, сахаристых кондитерских изделий, мармелада с помощью 1-октил-3-метилимидазол тетрафлюоробората [44] и 1-алкил-3-метилимидазолиум бромиды [45]. При подобранных оптимальных условиях эффективность экстракции достигала 95%.

В работе [46] для извлечения E133 из безалкогольных напитков и карамели использовали водную двухфазную систему, состоящую из гидрофильной ИЖ 1-бутил-3-метилимидазолиум бромиды и KH_2PO_4 . Эффективность извлечения красителя достигала 100% при одноэтапном экстрагировании.

Основными недостатками жидкостной экстракции является необходимость использования большого количества органических растворителей, многие из которых являются токсичными, а также длительность процедуры и её трудоемкость.

1.5.3 Мицеллярная экстракция.

Стремление исследователей следовать принципам «зеленой химии» привело к появлению мицеллярной экстракции (cloud-point extraction), т.к. при её осуществлении, как правило, используются малые количества малотоксичных растворителей. Суть мицеллярной экстракции заключается в регистрации точки помутнения при перемешивании или нагревании раствора, содержащего неионное поверхностно-активное вещество (ПАВ) полиоксиэтиленового типа. Вследствие дегидратации ПАВ в процессе осаждения, происходит разделение жидкости на водную и насыщенную ПАВ фазы. В основном экстракцию в «точке помутнения» применяют для пробоподготовки образцов перед спектрофотометрическим определением. Наиболее распространенным экстрагентом для мицеллярной экстракции является Тритон X-100. Его применяют для извлечения из конфет и желе красителя E133 совместно с NaCl [47] и KCl и цетилтриметиламмоний бромидом в ацетатном буферном растворе [48].

На основе оксиэтилированных нПАВ предложены двухфазные водные системы в присутствии высаливателей (сульфатов, карбонатов, фосфатов) для экстракции целого ряда синтетических красителей, в том числе E102, E122, E124, E133 [49].

1.6 Методы определения синтетических красителей

Основными методами определения синтетических красителей в пищевых продуктах являются спектрофотометрия, хроматография, капиллярный электрофорез и электрохимические методы анализа. Большинство этих методов применяются после соответствующей пробоподготовки, описанной в разделе 1.4.

1.6.1 Спектрофотометрические методы

Т.к. красители интенсивно поглощают свет в видимой области спектра, для их определения хорошо подходит метод спектрофотометрии. Использование спектрофотометрического метода не представляет трудностей, если в образце содержится один или два красителя, спектры которых не перекрываются.

В работе [50] проводят определение Тартразина в мармеладе, желе, конфетах по степени поглощения анализируемого раствора при длине волны 420нм. При этом проводят окисление красителя йодидом калия в ацетатном буферном растворе в присутствии наночастиц серебра (Ag NPs), катализирующих процесс окисления.

Также для определения Тартразина в напитках используют реакцию комплексообразования красителя с ионами Cu(I) или реакцию окисления Тартразина щелочным раствором KMnO_4 . Измерение поглощения растворов проводят при длинах волн 332нм и 610нм соответственно [51].

В соответствии с национальными стандартами РФ методом спектрофотометрии определяют содержание индивидуальных синтетических красителей в пищевых продуктах и алкогольных напитках. Определение двух красителей в смеси, возможно, при условии, если их максимумы поглощения находятся в диапазонах длин волн 400-450нм и 590-640нм [26].

Несложным является определение смеси E133 и E122, т.к. максимумы поглощения СБ и Кармуазина находятся при длинах волн 640нм и 522нм соответственно [52].

Если в смеси присутствуют два красителя с близкими максимумами поглощения, для их определения можно использовать первые производные спектров, как в случае совместного определения E102 и E110 в соках и напитках [53], а также E102 и E122 в конфетах, желе, мороженом [54].

Можно определить смесь E122 и E124 как по первым производным спектров и измерением при нулевом пересечении, так и по первым производным отношения спектров [55].

Применение хемометрических алгоритмов значительно расширяет возможности спектрофотометрического определения мультикомпонентной смеси красителей. Методы многомерного статистического анализа, такие как множественная линейная регрессия (MLR), регрессия на главные компоненты (PCR), проекция на латентные структуры (PLS), итерационный целевой

факторный анализ (ИТТФА) и др. были успешно применены для анализа смеси трех [56] и пяти красителей [57].

Спектрофотометрический метод отличается своей простотой и доступностью. Однако прямое спектрофотометрическое измерение практически невыполнимо, если в смеси присутствует несколько красителей с близкими максимумами поглощения. Без применения хемометрических алгоритмов такое определение становится крайне затруднительным. Кроме того, компоненты пищевой матрицы без тщательной пробоподготовки могут влиять на положение максимума поглощения и интенсивность сигнала.

1.6.2 Хроматографические методы

1.6.2.1 Тонкослойная хроматография

Метод ТСХ считается самым простым хроматографическим методом, т.к. не требует сложного и дорогостоящего оборудования. Единственной сложностью является подбор стационарной и подвижной фазы. При правильно подобранных условиях возможно разделение смеси нескольких красителей и их идентификация путем сравнения коэффициента миграции R_f , формы и цвета пятен по сравнению со стандартными красителями [58].

В РФ в соответствии с ГОСТ [25] после пробоподготовки образцов пищевых продуктов проводится идентификация синтетических красителей с помощью метода ТСХ. В качестве неподвижной фазы используется пластина с силикагелем на полимерной подложке (10×10 см). В качестве элюента применяется смесь пиридина, аммиака, изоамилового, изобутилового и этилового спиртов, либо смесь диэтиламина, хлороформа, аммиака и этилового спирта. Идентификацию проводят сравнением коэффициентов миграции анализируемых и стандартных красителей. Количественное определение содержания синтетических красителей проводится на денситометре с помощью программы «DENS».

Авторы [59] предлагают в качестве элюентов для определения в напитках и кондитерских изделиях красителей E122 и E124 использовать смесь н-пропанол-

этилацетат-аммиак-вода (100:30:30:1), для E102, E133 смесь изобутанол-этанол-аммиак-вода (10:20:1:10), что позволяет получить лучшее разделение СК по сравнению с методиками ГОСТ.

Для определения красителей в карамели, безалкогольных напитках в качестве элюентов для хроматографирования смеси E102, E122, E133 применяется смесь бутанол-этилацетат-уксусная кислота-вода (5:3:3:3) [60], а также смесь изопропилового спирта и аммиака (2:1) [32].

Если необходима быстрая качественная оценка образцов на содержание синтетических красителей, то метод ТСХ лучше всего подходит для этой цели благодаря доступности, простоте и экспрессности. Однако возникают определенные трудности с количественным определением, связанным с выделением разделенных компонентов из неподвижной фазы. Кроме того, для определения СК методом ТСХ необходима тщательная пробоподготовка образцов перед анализом. Присутствие сахара, жиров и других веществ приводит к размыванию пятен на хроматографической пластине, а порой, может сделать определение невозможным.

1.6.2.2 Высокоэффективная жидкостная хроматография

Метод ВЭЖХ позволяет разделить практически любую смесь синтетических красителей. Основой разделения является различное распределение компонентов между двумя несмешивающимися фазами – подвижной (элюент) и неподвижной. Красители имеют различную адсорбционную активность по отношению к стационарной фазе вследствие различия в молекулярной массе, структуре и наличия различных функциональных групп. При подборе условий хроматографирования наиболее важной характеристикой, которую надо учитывать, являются гидрофобные свойства красителей и присутствие в их структуре кислотных групп. Азокрасители обладают наибольшей гидрофобностью.

Наиболее распространенными видами ВЭЖХ для определения красителей являются обращенно-фазовая и ионная.

В обращенно-фазовой системе неподвижная фаза малополярна или неполярна вообще, в то время как подвижная фаза обладает сильной полярностью (тетрагидрофуран, ацетонитрил, метанол, вода). Очень часто с целью улучшения разделения и уменьшения времени анализа в подвижную фазу добавляют неорганические электролиты (чаще всего ацетат аммония) [61, 62]

Авторы работы [63] проводят одновременное определение 8 красителей в конфетах и напитках с помощью обращенно-фазовой хроматографии с градиентным элюированием. Мобильная фаза состоит из растворителя А (ацетат аммония 0,1М) и растворителя В (смесь метанола и ацетонитрила). Определение концентраций красителей проводят с помощью УФ-детектора.

Определению семи красителей в вине, в том числе E102, E133 посвящена работа [64]. В качестве растворителей А и В используют ацетат аммония и метанол соответственно. Для количественной оценки содержания красителей в образцах также применяют УФ-детектор.

Также для определения содержания красителей в смеси может применяться диодно-матричный [65] и масс-спектрометрический детекторы [66].

Стремление исследователей снизить количество и объемы токсичных растворителей приводит к добавлению ПАВ в органические растворители, например Тритон X-100 [67].

Ион-парная хроматография основана на добавлении в подвижную фазу гидрофобных ионных веществ (четвертичный аммониевый катион, алкил- или арилсульфониевый катион). В результате реакции между образцом и элюентом происходит образование нейтральных ионных пар, разделение которых происходит в обращенно-фазовой системе.

В качестве ион-парных реагентов применяют гидроксид тетраметиламмония [68], хлорид додецилтриметиламмония [69].

Как уже говорилось, метод ВЭЖХ позволяет определять широкий спектр красителей при их одновременном присутствии. Однако, как правило, один пищевой продукт содержит 1, 2 реже 3 красителя одновременно. Кроме того,

ВЭЖХ анализ занимает достаточно длительное время и требует дорогостоящего аппаратного оформления и большого количества органических растворителей.

1.6.3 Капиллярный электрофорез

Капиллярный электрофорез – это электрофоретический метод, осуществляемый в капилляре, используемый для анализа и эффективного разделения как маленьких, так и больших молекул. Разделение красителей в сложной смеси происходит под действием электрического поля. Кварцевый капилляр заполняют подходящим буфером (электролитом), в который вводят микрообъем анализируемого раствора. К концам капилляра подается высокое напряжение (до 30 кВ), после чего происходит движение красителей по капилляру. Причем, в зависимости от заряда и массы (ионного радиуса) разные красители достигают зоны детектирования в разное время [70].

Методом КЭ в безалкогольных напитках, конфетах, желе, мармеладе определены смеси 3-10 синтетических красителей в буферных растворах: фосфатных [71,72], боратных [73], карбонатных [74].

Авторы работы [75] к боратному буферному раствору (30 mM, pH 10,0) добавляют β -циклодекстрин (2mM) в качестве хирального селектора, применяемого для разделения оптических, структурных изомеров. Образцы вводились в гидродинамическом режиме. Для разделения аналитов применяли напряжение 15 кВ. УФ-детектор применяли для количественного определения смеси трех красителей, в том числе E102.

В последнее время в методе КЭ используют наночастицы, которые рассматриваются как псевдостационарная фаза. Так, помимо β -циклодекстрина (2mM) к фосфатному буферному раствору (pH 6,0) авторы работы [76] добавляли наночастицы кремния с функциональными аминогруппами, что позволило с высокой эффективностью разделить смесь четырех красителей, в том числе E102, E133.

Как и в случае ВЭЖХ, как правило, не возникает необходимости одновременного определения более трех красителей в одном пищевом продукте.

Кроме того, нельзя забывать о трудоёмкой процедуре пробоподготовки перед проведением анализа.

1.6.4 Электрохимические методы

Электрохимические методы набирают всё большую популярность для определения синтетических красителей в различных объектах благодаря своей простоте, экспрессности, высокой чувствительности и возможности миниатюризации [77]. Благодаря наличию электроактивных групп в молекулах красителей, возможно их электровосстановление/окисление на поверхности электрода. Наиболее изученными в этом отношении являются азокрасители.

Еще в 1979г. Фог и соавторы изучали электровосстановление азокрасителей на ртутно-капающем электроде методом дифференциально-импульсной полярографии (ДИП) [78]. Также ртутно-капающий электрод применяется для определения азокрасителей в пищевых продуктах методами квадратно-волновой вольтамперометрии (КВВА), инверсионной вольтамперометрии (ИВА) [79]. Достоинствами ртутного электрода является высокое перенапряжение выделения водорода, хорошая воспроизводимость поверхности и низкие пределы определения – от 0,001 до 0,042 мг/дм³. Тем не менее, маленький диапазон потенциалов ограничивает применение ртутного электрода в анодной области. Кроме того, немаловажное значение имеет высокая токсичность таких электродов, в связи, с чем их использование в последнее время значительно сократилось.

Применение электродов с нанесенными на их поверхность пленкой висмута или сурьмы были предложены как альтернатива ртутным электродам. Так, в работе [80] на поверхности стеклоуглеродного электрода проводили электроосаждение наночастиц Вi из раствора Вi(NO₃)₃, после чего дополнительно покрывали поверхность хитозаном. С помощью полученного электрода определяли концентрацию Гартразина в таблетках и декоративных покрытиях с пределом обнаружения 8,08 мг/дм³.

Модифицирование поверхности углеродного электрода пленкой Sb также проводилось электроосаждением из раствора Sb(III). Определение Тартразина проводили в безалкогольных напитках, конфетах. Предел обнаружения составил $0,16 \text{ мг/дм}^3$ [81]. Electrodes, modified with Sb and Bi have a sufficiently wide range of working potentials in the cathodic region and allow to work in a strongly oxidizing medium, but have a low sensitivity.

Широкое применение в электроаналитической практике находят различные углеродсодержащие электроды благодаря их химической устойчивости, широкой области рабочих потенциалов и возможности модификации [82]. Определение Кармуазина и Тартразина в безалкогольных напитках, желе, мармеладе, конфетах проводят на СУЭ в буфере Бриттона-Робинсона pH 2,0 методом постоянноточковой вольтамперометрии с пределами обнаружения 0,02 и 0,01 мг/дм^3 соответственно [83,84].

Для увеличения площади электродной поверхности, скорости переноса электронов, и как следствие, уменьшение предела определяемых концентраций, используют большое количество различных модификаторов электродной поверхности. В последнее время наноматериалы на основе углерода, такие как углеродные нанотрубки (УНТ), мезопористый углерод, оксид графена, терморасширенный графит и др. привлекают большое внимание исследователей [85]. Все эти материалы различаются по степени дисперсности, особенностям получения и структуре, однако все они обладают высокой термической и химической стабильностью, отличной электропроводностью и успешно применяются в качестве модификаторов для определения синтетических красителей [86].

В работах [87-89] проводят модификацию графитового и углеродно-пастового электрода с помощью многостенных УНТ и определение красителей E102, E122 и E133 методами КВВА и дифференциально-импульсной вольтамперометрии (ДИВА) при pH 5,0 и 2,0 соответственно. Причем в первых двух случаях готовят суспензию УНТ в N,N-диметилформамиде и 1,3-диоксолане под воздействием ультразвука в течение 30с и 5мин, затем определенный объем

полученной суспензии наносят на поверхность электрода и высушивают при комнатной температуре. Во втором случае готовят пасту путем смешиванием парафина и порошка УНТ (80:20) и помещают её в корпус электрода. Пределы обнаружения красителей E102, E122 и E133 составляют 0,5, 0,05 и 0,007 мг/дм³ соответственно.

Терморасширенный графит (ТРГ) и оксид графена – достаточно новые перспективные углеродные материалы, интенсивно используемые в качестве модификаторов электродной поверхности [90,91]. Для определения Тартразина в безалкогольных напитках авторы работ [92,93] готовили суспензии углеродных наноматериалов – ТРГ и смеси оксида графена и УНТ в органических растворителях, которые наносили на поверхность СУЭ. Определение красителя проводили при рН 4,6 и 5,0 методами ДИВА и вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала (ВАМ ЛП). При этом пределы обнаружения Тартразина составили 0,0015 и 0,0053 мг/дм³ соответственно.

Нанюглеродные материалы позволяют достичь достаточно низкого предела обнаружения, характеризующего их как перспективные модификаторы. Однако способы их получения, такие как абляция, дуговой разряд, осаждение из газовой фазы и др. требуют применения специальных физико-химических подходов, которые являются достаточно трудоёмкими, дорогостоящими и не всегда позволяют получить материал с заданными физико-химическими свойствами [94].

Среди большого многообразия различных модификаторов, наночастицы металлов занимают особое место. Наночастицы обладают уникальными свойствами, отличными от свойств микрокристаллов, что позволяет использовать их для значительного увеличения электрической проводимости электродных материалов [95]. Различные комбинации наночастиц и нанюглеродных материалов позволяют создавать новые электрохимические сенсоры для определения красителей.

Комбинация многостенных УНТ и наночастиц Fe₃O₄ и SiO₂ используется для модификации углеродно-пастового электрода (УПЭ) и определения

Тартразина в присутствии красителя Желтый солнечный закат при pH 6,0 методом КВВА с пределом обнаружения 0,021 мг/дм³ [96].

Наночастицы TiO₂ и Ni в комбинации с графеном применяются авторами [97,98] для модификации СУЭ и определения Тартразина в безалкогольных напитках, конфетах, мороженом. Определение проводят методом КВВА при pH 4,0. Благодаря комбинации электропроводящих частиц, удалось снизить предел обнаружения красителя до 0,004 и 0,0006 мг/дм³ соответственно.

В последние годы наблюдается возрастание интереса ИЖ, как модификаторам электродной поверхности. ИЖ представляют собой группу немолекулярных растворителей, находящихся в жидком состоянии при комнатной температуре вследствие слабой координации между ионами. Как правило, ИЖ состоят из органического катиона (имидазолия, пиридиния, пирролидиния, сульфония, фосфония) и органического или неорганического аниона (ацетат, трифлюороацетат, гексафлюорофосфат) [99]. ИЖ находят широкое применение в электрохимии благодаря таким свойствам, как высокая проводимость, термическая устойчивость, невоспламеняемость, нелетучесть и ионная природа [100]. Наиболее значимым достоинством ИЖ является возможность замены катиона или аниона соли с изменением её свойств. Также как и наночастицы металлов, ИЖ в основном используются в комбинации с углеродными материалами.

Для определения E102, E122, E124, E133 используются следующие комбинации: графен+1-аллил-3-метилимидазол тетрафлюороборат [101], терморасширенный графит+1-бутил, 3-метилимидазол гексафлюорофосфат [102], оксид графена+многостенные УНТ+1-бутил-3-метилимидазол гексафлюорофосфат [103]. При этом пределы обнаружения красителей варьируются от 0,0002 до 0,05 мг/дм³.

Несмотря на возрастающий интерес к ИЖ, как электродным модификаторам, необходимость их использования совместно с другими материалами существенно влияет на способы и время приготовления модификатора. В работе [104] описывается способ получения модификатора на

основе смеси УНТ и оксида графена в присутствии ИЖ - 1-бутил-3-метилимидазол гексафлюорофосфата. Процесс приготовления состоит из множества стадий: сначала диспергируют оксид графена в воде, затем добавляют ИЖ и проводят обработку УЗ в течение 20 мин. Затем рН суспензии доводят до 10,0 и повторно в течение 20 мин обрабатывают УЗ. После добавления УНТ, суспензию вновь подвергают воздействию УЗ в течение 20 мин, после чего её наносят на поверхность СУЭ и высушивают под ИК-лампой. Немаловажным вопросом остаётся процесс снятия полученного модификатора с поверхности СУЭ, который практически не упоминается в литературе.

Ещё одним направлением в современном электрохимическом анализе является создание электрохимических сенсоров на основе молекулярно-импринтированных полимеров (МИП). Метод молекулярного импринтинга основан на получении органических или неорганических полимеров, способных распознавать молекулы, которые были использованы в качестве темплатов в процессе их синтеза. Молекулярное распознавание становится возможным за счёт наличия «молекулярных отпечатков» темплатов в полимерной матрице. Использование МИП в качестве модификаторов возможно как в результате проведения реакции электрополимеризации непосредственно на поверхности электрода, так и нанесения на поверхность электрода готового полимера [105].

Применение МИП в качестве электрохимических сенсоров как индивидуально [106], так и в комбинации с различными материалами: полипиррол+УНТ [107], МИП+УНТ+ИЖ+наночастицы Pt [108], позволяет снизить предел обнаружения Тартразина до 0,0005 мг/дм³.

Имеющиеся способы модификации, условия определения, линейные диапазоны концентраций и пределы обнаружения СК E102, E122, E124, E133 представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Электрохимические методы определения синтетических красителей в пищевых продуктах

Электрод	Модификатор	Метод	Краситель	pH	Линейный диапазон, мг/дм ³	Предел обнаружения, мг/дм ³	Объекты	Год	Ссылка
Ртутно-капающий	В присутствии цетилпиридиний бромида	ИВА	Тартразин	8,5	0-0,1	0,0033	Порошок для приготовления безалкогольного напитка	2012	79
	—————	ДИП	Кармуазин Понсо 4R	9,0	0,02-4,0 0,02-4,0	0,042 0,034	Безалкогольный напиток, конфеты	2005	109
		ЦВ	СБ	4,5	0,008-0,08	—	Безалкогольные напитки	2002	110
Алмазный	Допированный бором	ДИВ	Тартразин	2,0	0,05-3,02	0,034	Безалкогольные напитки, энергетические напитки	2012	111
Графитовый	УНТ	ЦВ	Тартразин	5,0	2-70 70-230	0,5	Безалкогольные напитки	2012	87
Углеродно-пастовый	УНТs - н.ч. Fe ₃ O ₄ – н.ч. SiO ₂	КВВ	Тартразин	6,0	0,27-53	0,021	Безалкогольные напитки, энергетические напитки	2016	96
	МНТ	ДИВ	СБ	2,0	0,004-17,4	0,007	Безалкогольные напитки	2011	89
		ДИВ	Тартразин Кармуазин	7,0	0,53-3,74 0,57-2,51	0,12 0,055	Безалкогольные напитки	2017	88
	Графен/мезопористый TiO ₂	КВВ	Тартразин	—	0,01-0,63	0,004	Конфеты, мороженое, напитки	2013	97

Продолжение таблицы 3

Электрод	Модификатор	Метод	Краситель	pH	Линейный диапазон, мг/дм ³	Предел обнаружения, мг/дм ³	Объекты	Год	Ссылка
Углеродно-пастовый	ТРГ + ИЖ (1-бутил, 3-метилимидазол гексафлюорофосфат)	КВВ	Тартразин Понсо 4R	6,0	0,005-1,07 0,006-3,02	0,002 0,001	Безалкогольные напитки	2014	112
		КВВ	Тартразин СБ	4,5	0,005-0,53 0,004-3,2	0,0018 0,0016	Безалкогольные напитки	2015	102
Углеродно-керамический	Графен + ИЖ (1-аллил-3-метилимидазол тетрафлюороборат)	ДИВ	Тартразин	3,0	0,053-10,69	0,043	Безалкогольные напитки	2015	101
Углеродный	Sb	ДИВ	Тартразин	4,0	0,53-2,7	0,16	Безалкогольные напитки, конфеты	2015	81
СУЭ	н.ч. Vi/хитозан	ДИВ	Тартразин	4,0	12,8-524	8,08	Таблетки, декоративные покрытия	2014	80
	МИП-полипиррол	КВВ	Тартразин	7,0	0,0005-0,005	0,0005	Вино	2014	106
	_____	ВАМ ЛП	Кармуазин	2,0	0,05-0,5	0,02	Безалкогольные напитки	2016	83
			Тартразин	2,0	0,05-0,5	0,01	Мармелад, конфеты, желе	2017	84
	Оксид графена / МНТ	ВАМ ЛП	Тартразин	5,0	0,048-4,27	0,0053	Безалкогольные напитки	2016	93
	ТРГ	ДИП	Тартразин	4,6	0,005-0,2	0,0015	Безалкогольные напитки	2014	92
	МИП - полипиррол/ УНТ	КВВ	Тартразин	7,0	0,0037-0,534	0,00053	Конфеты, мороженое	2014	107

Продолжение таблицы 3

Электрод	Модификатор	Метод	Краситель	pH	Линейный диапазон, мг/дм ³	Предел обнаружения, мг/дм ³	Объекты	Год	Ссылка
СУЭ	ИЖ /оксид графена/-МНТ	КВВ	Тартразин Понсо 4R	7,0	0,011-0,534 0,0006-0,604	0,0037 0,00048	Алкогольные напитки	2015	103
	ИЖ /оксид графена/-МНТ	ДИВ	СБ	2,0	0,0063-7,93	0,003	Алкогольные напитки	2015	104
	МИП/МНТ /ИЖ/н.ч. Pt	ДИВ	Тартразин	7,0	0,016-10,69	0,0043	Безалкогольные напитки	2014	108
	Графен/н.ч. Ni	КВВ	Тартразин	4,4	0,0033-0,33	0,00058	Конфеты, мороженое, Безалкогольные напитки	2013	98
	ИЖ/оксид графена/-УНТ	ДИВ	Тартразин	4,5	0,016-0,321	0,0027	Безалкогольные напитки	2015	113
	ИЖ/н.ч. Pd	ДИВ	Тартразин	3,0	0,0027-4,27	0,0027	Безалкогольные напитки	2016	114

Как видно из проведенного обзора литературы, на сегодняшний день для определения синтетических красителей в пищевых продуктах используется широкий спектр различных модификаторов. Однако стоит отметить некоторые нюансы их применения. Как уже было сказано, такие элементы, как Hg и Sb находят ограниченное применение в электрохимическом анализе пищевых продуктов. Несмотря на интенсивное использование в качестве модификаторов наночастиц металлов, нельзя забывать о затруднениях, связанных с нестабильностью их в нанокристаллическом состоянии. По мере уменьшения размеров частиц до нанометров, происходит увеличение их удельной поверхности. А это, в свою очередь, приводит к возрастанию активности и усилению процессов агрегации. Поэтому осаждение наночастиц, как правило, проводят в присутствии стабилизаторов (ПАВ). При получении наночастиц необходимо строго соблюдать всю последовательность эксперимента, т.к. малейшие изменения могут влиять на форму, размер, количество наночастиц, и, как следствие, на свойства электрохимического сенсора. Кроме того, применение наночастиц благородных металлов, таких как Au, Pt ограничивают применение модифицированных электродов в катодной области из-за низкого перенапряжения выделения водорода [115].

ИЖ с точки зрения «зеленой химии» являются хорошей альтернативой летучим органическим растворителям. Ввиду их ионной структуры можно предположить их отличную электропроводность. Но это не совсем так. Как правило, ИЖ обладают меньшей проводимостью, чем концентрированные водные растворы электролитов. Это связано с агрегацией ионов и их маленькой подвижностью из-за больших размеров. Поэтому электрохимические свойства ИЖ сильно зависят от заряда, размера, поляризации ионов и межмолекулярного взаимодействия на поверхности электрода, а также от температуры. Кроме того, из-за наличия галогенидов, воды, примесей, оставшихся в процессе синтеза ИЖ, наблюдается сужение рабочей области потенциалов. Поэтому применение ИЖ в качестве модификатора электродной поверхности затруднительно на этапе их

синтеза и очистки. [116]. А применение ИЖ в комбинации с углеродсодержащими материалами значительно усложняет процедуру приготовления модификатора и увеличивает время.

Современные подходы к созданию электрохимических сенсоров на основе МИП позволяют значительно снизить предел обнаружения красителей, вплоть до $0,0005 \text{ мг/дм}^3$. Нанесение полимера на электродную поверхность не представляет трудностей, т.к. может быть выполнено в процессе электрополимеризации из раствора полимера и молекулы-темплата. Однако необходимым условием успешного создания МИП является использование энантиомерно чистого темплата, т.е. использование только одного стереоизомера. Следует также отметить, что МИП может «распознавать» не только молекулу-шаблон, но и близкие по структуре соединения, к которым относятся красители. Кроме того, низкая плотность центров с молекулярными отпечатками, длительное время связывания темплата с МИП, а также невозможность полного удаления молекулы-темплата создает определенные трудности при модифицировании электродов такими полимерными материалами [117].

Как уже отмечалось, использование материалов на основе наноуглерода позволяет значительно увеличить электроактивную площадь поверхности электрода за счет их разветвленной структуры. Уникальные свойства наноуглеродных материалов, такие как высокая прочность, деформационная упругость, а также прекрасная электрическая проводимость делает их прекрасными электродными модификаторами [118]. Но стремление исследователей создать чувствительный, быстрый в приготовлении, а самое главное недорогой сенсор, заставляет искать все новые материалы для модификации электродов.

В связи с этим, привлекательными становятся доступные углеродные материалы типа графита, обладающие рядом свойств, присущих дорогостоящим наноматериалам, таким как УНТ, графен, оксид графена. Закономерным является появление модификаторов на основе графита, сажи, высокочистого углерода [119]. Частицы графита, смешанные с полимером и нанесенные на поверхность

электрода позволяют создать электрохимический сенсор с широким диапазоном рабочих потенциалов, чувствительный как к окислению, так и восстановлению органических молекул [120], а использование композитных УСЭ с обновляемой поверхностью позволяет преодолеть трудности, связанные с удалением модификатора с поверхности электрода [121].

ГЛАВА 2. АППАРАТУРА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1 Приборы, электроды, ячейки, посуда

Приборы. Для экспериментальных исследований использовали вольтамперометрический анализатор ГА-2 (ООО «НПП Томьаналит», г.Томск, Россия), подключенный к персональному компьютеру.

Анализатор ГА-2 позволяет проводить вольтамперометрический анализ проб биологических, пищевых, фармацевтических и др. объектов. На приборе можно осуществить четыре формы развертки поляризующего напряжения: постояннотокую, дифференциально-импульсную, ступенчатую и квадратно-волновую. Прибор имеет два режима съемки вольтамперограмм – простой и дифференциальный, при этом одновременно может осуществляться анализ трех проб. Перемешивание раствора осуществляется за счет вибрации электродов. Прибор оснащен системой подвода газообразного азота. Технические характеристики анализатора: чувствительность $5 \cdot 10^{-11}$ А, воспроизводимость аналитических сигналов 10-15%, время, затрачиваемое на проведение анализа трех подготовленных проб 5-30 мин.

Для удаления мешающего влияния растворенного кислорода осуществляли подачу газообразного азота с массовой долей кислорода не более 0,03% из баллона через силиконовый шланг, подключенный к прибору.

Спектрофотометрические исследования проводили с помощью спектрофотометра Agilent Technologies Cary 60-UV-Vis. Спектральный диапазон, в котором можно проводить измерения варьируется от 190 до 1100 нм, с максимальной скоростью сканирования 24000 нм/мин. Фотометрический диапазон равен 3,3 А. Точность установки длины волны составляет $\pm 0,5$ нм, воспроизводимость длины волны $\pm 0,1$ нм.

Проверку и подготовку приборов проводили в соответствии с техническим описанием и инструкцией по эксплуатации.

Для контроля и варьирования рН применяли лабораторный рН-метр-150-М (Россия), предназначенный для измерения активности ионов водорода, а также окислительно-восстановительных потенциалов и температуры растворов.

Взвешивание навесок стандартных веществ и анализируемых образцов проводили на аналитических весах общего назначения ВЛ-210 («Госметр», Россия) с погрешностью взвешивания $\pm 0,0002$ г.

Для получения дистиллированной воды применяли «Аквадистиллятор ДЭ-4».

Для центрифугирования образцов пищевых продуктов, содержащих в своем составе желатин, использовали центрифугу Centrifuge 5702 R (Eppendorf, Германия) со скоростью 4000 об/мин.

Электрохимические ячейки и электроды. В качестве электрохимической ячейки использовали кварцевые стаканчики объемом 20см^3 , которые устанавливали в специальное отверстие на платформе вольтамперометрического анализатора. В качестве индикаторного электрода использовали УСЭ с обновляемой поверхностью. Перед применением осуществляли срезание слоя поверхности электрода толщиной 0,3-0,5мм с помощью специального устройства для обновления поверхности УСЭ (ООО «НПП «Томьаналит», г.Томск, Россия). Для уменьшения ошибки эксперимента перед анализом индикаторный электрод подвергали предварительной поляризации в области потенциалов от +2 до -2 В с помощью циклической вольтамперометрии в течение 10мин. Электрод хранили на воздухе.

В качестве вспомогательного и электрода сравнения использовали хлоридсеребряные электроды. Они представляют собой полипропиленовый корпус с полупроницаемой пробкой из оксида алюминия, в который помещена спираль из серебряной проволоки, покрытой хлоридом серебра. Перед применением хлоридсеребряного электрода его корпус заполняют 1М раствором КСl. Готовые ХСЭ хранили в 1М растворе КСl, перед применением ополаскивали дистиллированной водой.

Посуда. В работе использовали стеклянную посуду: мерные колбы 25, 50, 100, 1000 см^3 , мерные пипетки вместимостью 1,0, 2,0, 5,0 и $10,0\text{ см}^3$, а также дозаторы Ленпипет с переменным объемом 1-10 мкл и 20-200 мкл с

погрешностью не более 5 % отн. Для каждого раствора использовали отдельную пипетку и сменный наконечник дозатора.

Чистоту посуды проверяли перед началом каждой серии опытов путем регистрации вольтамперограммы «холостого» раствора фонового электролита. Посуда и фоновый электролит считались чистыми при отсутствии пиков на циклических вольтамперограммах.

2.2 Реактивы

В работе использовали следующие реактивы и стандартные вещества:

- ледяная уксусная кислота, х.ч. (Реахим, Россия)
- борная кислота, х.ч. (Лабтех, Россия)
- ортофосфорная кислота, х.ч. (Реахим, Россия)
- Кармуазин, имп. (Вектон, Россия)
- Тартразин, имп. (Вектон, Россия)
- Понсо 4R, имп. (Вектон, Россия)
- Синий блестящий FCF, имп. (Вектон, Россия)
- Антоцианин, имп. (Вектон, Россия)
- калий хлористый, х.ч. (ОАО «Уралкалий», Россия)
- натрий гидроксид, х.ч. (Лабтех, Россия)
- сахароза, ч.д.а. (Вектон, Россия)
- глюкоза, ч.д.а. (Вектон, Россия)
- фруктоза, имп. (Лаверна-лаб, Россия)
- аскорбиновая кислота, ч.д.а. (Sigma-Aldrich, США)
- лимонная кислота, ч.д.а. (Лаверна-лаб, Россия)
- натрий бензоат, ч. (Вектон, Россия)
- калий сорбат, имп. (Вектон, Россия)
- графит микрокристаллический (<20µm, Sigma-Aldrich, США)
- полистирол (Sigma-Aldrich, США)
- 1,2-дихлорэтан (Sigma-Aldrich, США)

2.3 Объекты исследования

Для поиска аналитических сигналов СК и подбора условий их определения использовались модельные растворы красителей: Кармуазина, Тартразина, Понсо 4R и СБ.

В качестве объектов исследования использовались:

Безалкогольные напитки:

- «Приятный день» (витаминный микс. ООО ПО «Запсибкола», Новосибирск, Россия)
- «Приятный день» (тропический микс. ООО ПО «Запсибкола», Новосибирск, Россия)
- «Королевский пингвин» (Вишня. ООО «Объединенная водная компания», Ставропольский край, Россия)
- «Шампусенок» (Вишня, арбуз. ООО ПО «Запсибкола», Новосибирск, Россия)
- «Джолли Джокер» (Клюква. ООО "Ликёро-водочный завод "ОША", Омск, Россия)
- «Японская груша» (ЗАО «Ирбис», Новокузнецк, Россия)
- «Powerrade» (Ледяная буря. «ООО «Кока-Кола ЭйчБиСи Евразия», г. Орел, Россия)
- Тархун «экстра» (ООО «Триера-Аква», Алтайский край, Россия)
- Тархун «из Черноголовки» (ООО «ПК «Аквалайф», московская обл., Россия)
- Тархун «Юсил» (ООО «Аква-Вита», г.Юрга, Россия)
- Тархун «Калинкино» (ООО «Бавария», Кемеровская обл., Россия)

Сахаристые кондитерские изделия:

- оболочка драже "M&Ms", желтый, синий (ООО "Марс", Ступино-1, Россия)
- леденцы "Бон пари", лимон (ООО "Нестле Россия", Москва, Россия)
- драже "Лимонный фреш" (ОАО Пищекомбинат "Воткинский", Воткинск, Россия)

- карамель лимонная (ООО "Глобус-маркет", Ульяновск, Россия)
 - драже "Морской берег" (ИП «Маров», Бийск, Россия)
 - начинка конфет "Сибирская птичка" (ООО "Томский завод по производству шоколада", Томск, Россия)
 - карамель «Желейка» (Апельсин. ООО «Глобус-Маркет», г. Ульяновск, Россия)
- Мармелад, желе:*
- мармелад "Бонди", лимон (ЗАО "КДВ Павловский Посад", Павловский Посад, Россия)
 - мармелад "Чудо-ягода", лимон (ОАО "Рот Фронт", Москва, Россия)
 - мармелад многослойный жележный (ООО "Глория С", Санкт-Петербург, Россия)
 - мармелад жележно-формовой (ООО "Шоколадная страна", Бердск, Россия)
 - желе со вкусом земляники (ООО «Сибирский завод молочных продуктов», Новосибирская обл., Россия)

2.4 Приготовление растворов, модификатора

Приготовление фонового электролита:

Для приготовления кислой части буферного раствора Бриттона-Робинсона брали навеску 2,4732 г борной кислоты, 2,65 мл ортофосфорной кислоты и 5,69 мл уксусной кислоты, помещали все в мерную колбу вместимостью 1000см³, растворяли в небольшом количестве дистиллированной воды и доводили объем раствора до метки.

Для приготовления основной части буферного раствора Бриттона-Робинсона – 0,2М NaOH брали навеску 8 г NaOH, помещали в мерную колбу вместимостью 1000 см³, растворяли в небольшом количестве дистиллированной воды и доводили до метки.

Для создания необходимого значения pH, к кислой части буферной смеси постепенно добавляли 0,2М NaOH и регистрировали изменение pH с помощью pH-метра.

Приготовление стандартных растворов красителей:

Для приготовления стандартных растворов СК концентрацией 1000 мг/см³ брали навеску исследуемого красителя с учетом массовой доли основного красящего вещества, помещали в мерную колбу вместимостью 50 см³, доводили до метки дистиллированной водой. Растворы концентрацией 100 мг/см³, 10 мг/см³ готовили последующим разбавлением исходного раствора.

Подготовка анализируемых образцов:

Для определения содержания СК в пищевых объектах проводится подготовка образцов к анализу.

Негазированные напитки отфильтровывают через бумажный фильтр «белая лента» диаметром 11 см и размером пор 5-8 мкм.

Газированные напитки подвергают дегазации в ультразвуковой ванне Ultrasonic DADI DA-968 в течение 10 мин., затем отфильтровывают.

Сахаристые кондитерские изделия взвешивают в мерном стакане вместимостью 50 см³, растворяют на водяной бане в 30 см³ дистиллированной воды при температуре 50⁰С, раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 см³, охлаждают до комнатной температуры и доводят до метки дистиллированной водой, затем отфильтровывают.

Мармелад, желе взвешивают в мерном стакане вместимостью 50 см³, растворяют на водяной бане в 30 см³ дистиллированной воды при температуре 50⁰С, раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 см³, охлаждают до комнатной температуры и доводят до метки дистиллированной водой. Затем 10 см³ полученного раствора переносят в пробирки и проводят центрифугирование в течение 10 мин. при скорости 4000 об./мин. для отделения желирующих веществ. Надосадочную жидкость анализируют.

Приготовление модификатора:

На аналитических весах берут навеску микрокристаллического графита массой 0,09 г, полистирола массой 0,01 г, переносили в пробирку эппендорф, добавляли 0,5 см³ 1,2-дихлорэтана и интенсивно перемешивали с помощью

шейкера Elmy Sky line в течение 3 мин. для создания гомогенной суспензии. 1 мкл полученной суспензии наносили на поверхность индикаторного электрода.

2.5 Методика эксперимента

Спектрофотометрическое определение:

Для спектрофотометрического определения снимали спектры поглощения стандартных растворов красителей концентрацией 10 мг/дм³ для определения длины волны максимума поглощения. Далее при выбранной длине волны проводили измерение оптической плотности раствора стандартных красителей и подготовленных образцов.

Вольтамперометрическое определение:

В электрохимическую ячейку помещали 10 см³ фонового электролита буфера Бриттона-Робинсона, индикаторный УСЭ и два хлоридсеребряных электрода, применяемых в качестве вспомогательного и электрода сравнения. Подключали электроды к вольтамперометрическому анализатору ТА-2 и удаляли растворенный кислород с помощью газообразного азота в течение 10 мин. Далее не менее трех раз проводили регистрацию вольтамперограмм фонового электролита методом катодной постоянноточковой вольтамперометрии в режиме первой производной при следующих условиях: рабочий диапазон потенциалов от 0,5 до -1,0 В, время электролиза 10 с, потенциал электролиза 0,1 В, время успокоения 20 с, скорость сканирования потенциала 100 мВ/с.

После подтверждения доказательств чистоты фонового электролита в электрохимическую ячейку дозатором вносили определенный объем исследуемого раствора и проводили съемку вольтамперограмм анализируемого красителя.

2.6 Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов измерения является завершающей стадией химического анализа. Она позволяет оценить случайные, систематические погрешности, а также основные метрологические

характеристики метода анализа, такие как воспроизводимость, правильность и точность.

Согласно ГОСТ Р 5725-1-2002 и ГОСТ Р 5725-6-2002 прецизионностью называют степень близости независимых результатов измерений друг к другу, полученных в конкретных установленных условиях. Эта характеристика зависит только от случайных факторов и не связана с истинным или условно истинным значением измеряемой величины.

Степень близости среднего значения, полученного на основании серии результатов измерений, к истинному или принятому опорному значению, характеризуется правильностью. Показателем правильности обычно является значение систематической погрешности.

Точность – это общий термин, используемый в отношении как «правильности», так и «прецизионности» и выражает суммарное отклонение результата от эталонного (опорного) значения, вызванное как случайными, так и систематическими причинами.

Опорное значение - значение, которое служит в качестве согласованного, в качестве которого может быть принято:

- теоретическое или научно установленное значение;
- аттестованное значение СО;
- аттестованное значение смеси (АС);
- математическое ожидание измеряемой характеристики, т.е. среднее значение заданной совокупности результатов анализа.

Различные факторы, такие как время, оборудование, оператор, параметры окружающей среды и т.д. могут оказывать влияние на результаты анализа. В зависимости от влияющих факторов прецизионность включает:

- *прецизионность анализа в условиях повторяемости* - условия при которых результаты анализа получают по одной и той же методике в одной и той же лаборатории, одним и тем же оператором с использованием одного и того же оборудования, практически одновременно (параллельные определения);

- *прецизионность анализа в условиях воспроизводимости* - условия при которых результаты анализа получают по одной и той же методике в разных лабораториях, варьируя различными факторами (разное время, оператор, условия окружающей среды);

- *внутрилабораторную прецизионность анализа* - условия при которых результаты анализа получают по одной и той же методике в одной и той же лаборатории при вариации различных факторов (время, оператор, разные партии реактивов и т.д.).

Мерой оценки прецизионности является среднеквадратическое отклонение (СКО):

σ_r - СКО повторяемости;

σ_R - СКО воспроизводимости;

$\sigma_{Rл}$ - СКО внутрилабораторной прецизионности.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ОКИСЛЕНИЯ-ВОССТАНОВЛЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ НА МОДИФИЦИРОВАННОМ ЭЛЕКТРОДЕ

3.1 Характеристика модифицированного электрода

Рабочий электрод представляет собой полиэтиленовый корпус, заполненный смесью полиэтилена (70%) и углерода (30%). Причем токопроводящей составляющей является только углерод. Электроактивная площадь поверхности такого электрода невысока, её увеличение может быть достигнуто за счёт нанесения модификатора. Стандартным приёмом для оценки эффективности модификатора является использование в качестве эталона окислительно-восстановительной пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ [122]. На рисунке 8 представлены циклические вольтамперограммы окисления-восстановления $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ на электроде до модификации и после.

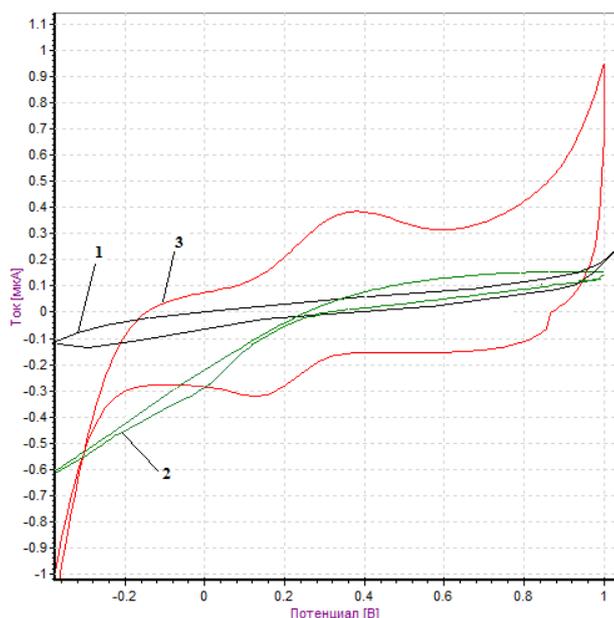


Рисунок 8 - Циклические вольтамперограммы $1 \cdot 10^{-4} \text{M } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ на немодифицированном (2) и модифицированном углеродными чернилами электроде (3) в $0,1 \text{M KCl}$, $W=60 \text{mV/c}$ (1) – фоновая кривая

Для расчета электроактивной площади поверхности применяли циклическую вольтамперометрию. Регистрировали значения тока окисления – восстановления $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ на электроде до модификации и после нее

по мере увеличения скорости развертки потенциала от 20 до 200 мВ/с. График зависимости I_p от $W^{1/2}$ носит прямолинейный характер, что указывает на обратимость протекания электрохимического процесса и возможность применения соответствующих уравнений для расчета электрохимических параметров (Рис. 9).

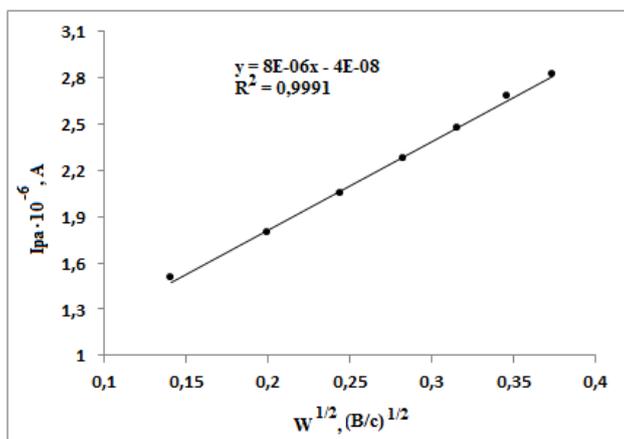


Рисунок 9 - Зависимость тока окисления $1 \cdot 10^{-4} M Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$ от $W^{1/2}$

Для расчета электроактивной площади поверхности применяли уравнение Рэндлса-Шевчика (1).

Уравнение Рэндлса-Шевчика:

$$I_p = \pm 2.69 \times 10^5 z^{3/2} AD^{1/2} CW^{1/2} \quad (1)$$

где: I_p - ток пика, А

z - число электронов ($n=1$)

A - площадь электроактивной поверхности, $см^2$

D - коэффициент диффузии ($7,60 \times 10^{-6} см^2/с$)

C - концентрация $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$ в растворе ($1 \cdot 10^{-4} M$).

Рассчитанная площадь поверхности немодифицированного электрода составляет $0,013 см^2$, в то время как после модификации в 4 раза больше - $0,053 см^2$.

Таким образом, на стандартной окислительно-восстановительной системе $Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}$ показана эффективность применения модификатора за счет увеличения электроактивной площади поверхности. Для дальнейших исследований использовали МЭ.

3.2. Исследование электрохимических свойств синтетических красителей на модифицированном электроде

Для исследования электрохимических свойств СК использовали УСЭ, модифицированный углеродными чернилами. Хлоридсеребряные электроды использовали в качестве вспомогательного и электрода сравнения. Измерения проводили с помощью циклической постоянноточковой вольтамперометрии в области потенциалов от 0,5 до -1,0 В в буфере Бриттона-Робинсона.

В качестве примера показана циклическая вольтамперограмма окисления-восстановления Кармуазина в буфере Бриттона-Робинсона при рН 2,0 (Рис. 10). Кармуазин проявляет электрохимическую активность в катодной области потенциалов, соответствующей восстановлению молекулы красителя.

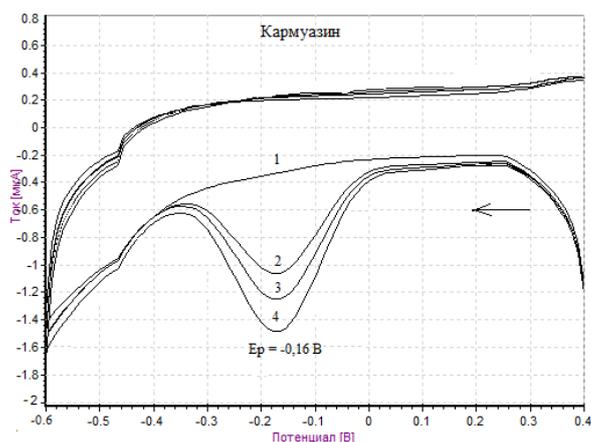


Рисунок 10 - Циклические вольтамперограммы электровосстановления кармуазина на МЭ в буферном растворе Бриттона–Робинсона (рН 2,0). *1* – фоновая кривая; $C_{\text{карм.}}$: 0,2 (2), 0,4 (3), 0,6 (4) мг/дм³; $W = 100$ мВ/с

Электрохимическое поведение Понсо 4R и Тартразина аналогично поведению Кармуазина ввиду схожести их структур (Табл. 4).

Таблица 4 - Потенциалы электровосстановления СК на МЭ в буферном растворе Бриттона–Робинсона (рН 2,0). $W = 100$ мВ/с

Краситель	Е _{рк} , В	Е _{ра} , В
Понсо 4R	-0,05	—
Кармуазин	-0,16	—
Тартразин	-0,23	—

Исходя из структурной формулы азокрасителей, двойная связь $-N=N-$ может подвергаться восстановлению. Было показано, что попадая в организм человека, азокрасители подвергаются воздействию фермента азоредуктазы, что приводит к их восстановлению до ароматических аминов [123]. Процесс электровосстановления азокрасителей на электроде также происходит с участием азо-связи, что может быть использовано для их аналитического определения.

В отличие от азокрасителей, СБ проявляет электрохимическую активность, как в катодной, так и в анодной области потенциалов. Циклическая вольтамперограмма СБ в буфере Бриттона-Робинсона при рН 7,0 показана на рис 11.

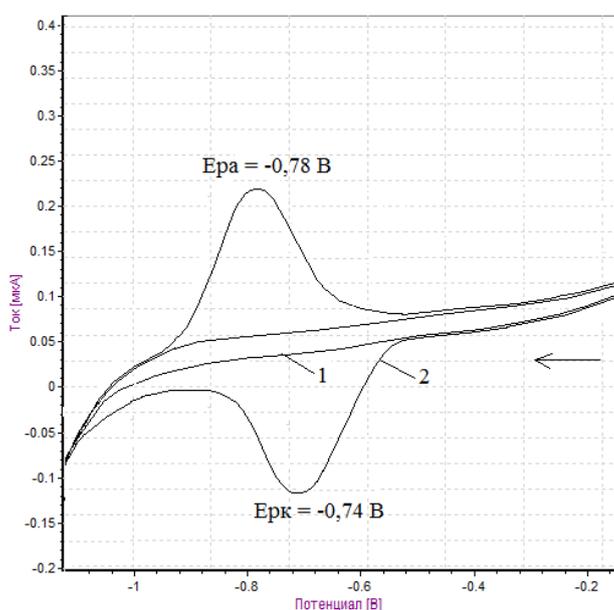


Рисунок 11 - Циклическая вольтамперограмма окисления-восстановления СБ на МЭ в буферном растворе Бриттона-Робинсона (рН 7,0). 1 – фоновая кривая; 2 – $C_{СБ}$: 0,5 мг/дм³; $W = 100$ мВ/с

СБ также может подвергаться процессам окисления-восстановления на поверхности электрода ввиду своей ароматической структуры. Полученные сигналы можно использовать для его количественного определения в объектах пищевой промышленности.

3.3 Влияние различных факторов на аналитические сигналы синтетических красителей

Для разработки методики количественного определения СК необходимо исследовать влияние различных факторов на электрохимический сигнал: рН, время и потенциал электролиза.

3.3.1. Влияние рН фонового электролита

Одним из наиболее важных факторов, оказывающих влияние на положение сигнала и его интенсивность, является кислотность среды. Для исследования влияния рН раствора на сигналы СК использовался буферный раствор Бриттона-Робинсона со значениями рН от 2,0 до 10,0.

Кислотность среды оказывает различное влияние на электрохимические сигналы красителей разных рядов. По мере увеличения рН фонового электролита в случае азосоединений наблюдается уменьшение тока электровосстановления и смещение потенциала пика в более электроотрицательную область, что указывает на участие протонов в электрохимической реакции (Рис. 12).

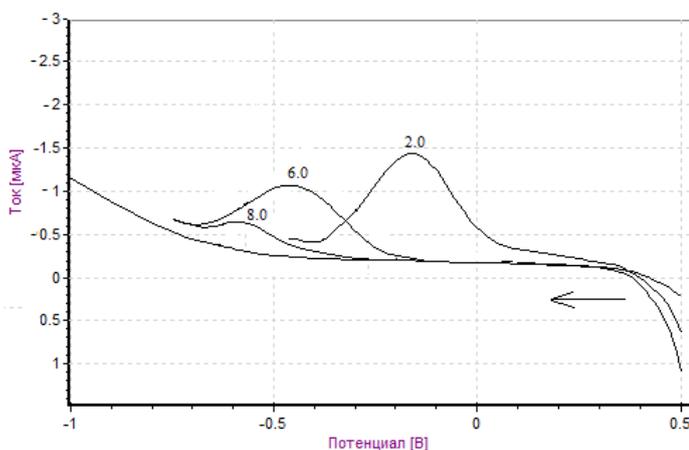


Рисунок 12 - Вольтамперограммы тока электровосстановления кармуазина на МЭ при разных значениях рН ($E = -0,16$ В при рН 2,0; $E = -0,39$ В при рН 6,0; $E = -0,52$ В при рН 9,0). $C_{\text{карм.}} = 0,5$ мг/дм³, $W = 100$ мВ/с

Электровосстановление азокрасителей напрямую зависит от концентрации ионов водорода. По мере уменьшения рН раствора происходит облегчение

процесса восстановления вследствие облегчения протонизации по азосвязи, и как следствие, наблюдается максимальный сигнал.

При этом зависимость E_p от pH носит линейный характер в диапазоне pH 2,0 – 8,0 (Рис. 13). В сильнощелочной среде при pH >8,0 сигнала азокрасителей на МЭ не наблюдается.

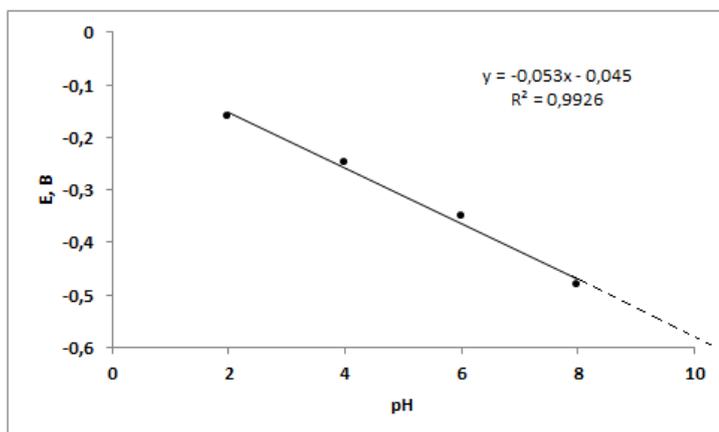


Рисунок 13 - Влияние pH раствора на потенциал электровосстановления кармуазина. $C_{\text{карм.}} = 0,5 \text{ мг/дм}^3$, $W = 100 \text{ мВ/с}$

По графику линейной зависимости E_p от pH можно определить значения pK_a азокрасителей (Табл. 5). Полученные значения хорошо согласуются с литературными данными [124].

Таблица 5 - Значения pK_a азокрасителей

Краситель	pK_a
Понсо 4R	11,03
Кармуазин	10,52
Тартразин	9,12

Что касается красителя трифенилметанового ряда, то, как и в случае азокрасителей, потенциалы пиков смещаются в более электроотрицательную область с увеличением pH до 7,0, после чего потенциал перестаёт зависеть от pH (Рис 14). Из полученной зависимости можно определить константу диссоциации СБ. Точка пересечения прямолинейного участка зависимости E_p от pH соответствует величине константы диссоциации СБ, равной 6,79. Данная

величина хорошо согласуется с рКа СБ из литературных данных, равная 6,58 [125].

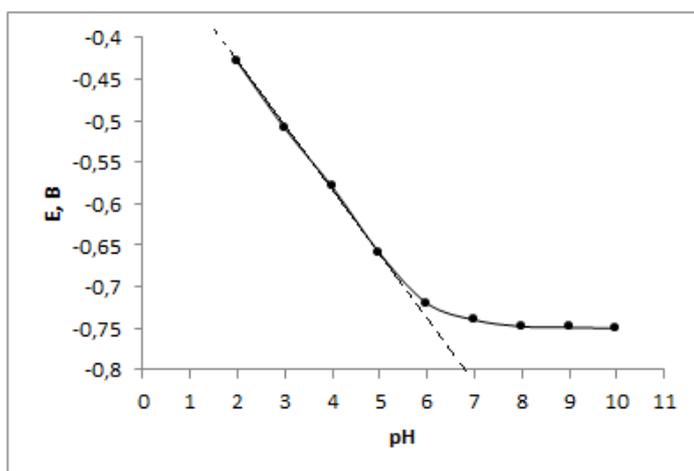


Рисунок 14 - Влияние рН фонового электролита на потенциал электровосстановления СБ

В отличие от азосоединений, по мере увеличения рН фонового электролита до рН 7,0 происходит увеличение как анодного, так и катодного токов (Рис. 15).

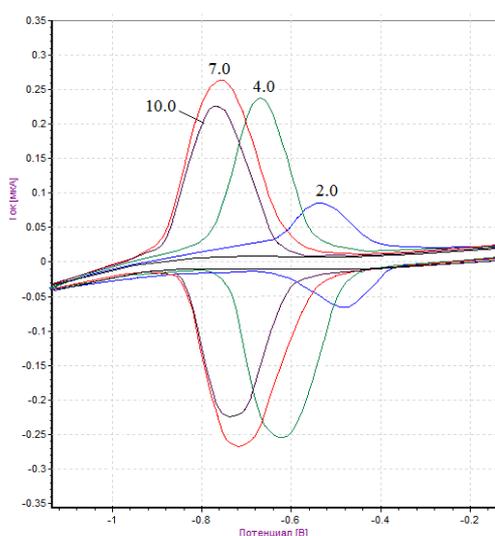


Рисунок 15 - Циклические вольтамперограммы окисления-восстановления красителя СБ на МЭ при разных значениях рН. $C_{СБ} = 0,5 \text{ мг/дм}^3$

Зависимость потенциалов пиков СБ от рН также свидетельствует об участии протонов в электрохимической реакции. В кислой среде невысокая интенсивность сигналов обусловлена тем, что при избытке протонов в фоновом электролите происходит химическая реакция электрофильного присоединения по двойной

связи центрального атома углерода [126]. Спад интенсивности сигналов в щелочной среде, возможно, связан с образованием карбинольного соединения по реакции нуклеофильного присоединения (Рис. 16). Поэтому в среде близкой к нейтральной наблюдаются электрохимические сигналы с максимальной интенсивностью.

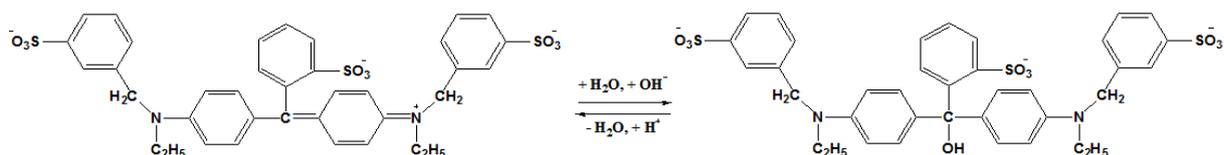


Рисунок 16 - Образование карбинольного соединения СБ в щелочной среде

Т.к. максимальные сигналы азокрасителей были получены в кислой среде, а трифенилметанового в нейтральной, то для разработки методики были выбраны рН 2,0 и 7,0 соответственно. С целью одновременного определения красителей разных структурных рядов, была выбрана катодная вольтамперометрия.

3.3.2. Влияние потенциала и времени электролиза

Потенциал и время электролиза играют немаловажную роль при подборе рабочих условий вольтамперометрического определения. Они должны способствовать наиболее полному выделению аналита без влияния посторонних веществ.

При выборе потенциала электролиза исследовали область значений от -1,0 В до 1,0 В методом постоянноточковой вольтамперометрии при содержании красителей в электрохимической ячейке 0,5 мг/дм³. Интенсивность сигнала всех исследуемых красителей увеличивается при переходе от отрицательной к положительной области. Из графика зависимости тока электровосстановления Кармуазина от потенциала электролиза видно, что после $E_{э}=0,1В$ зависимость выходит на предел (Рис. 17).

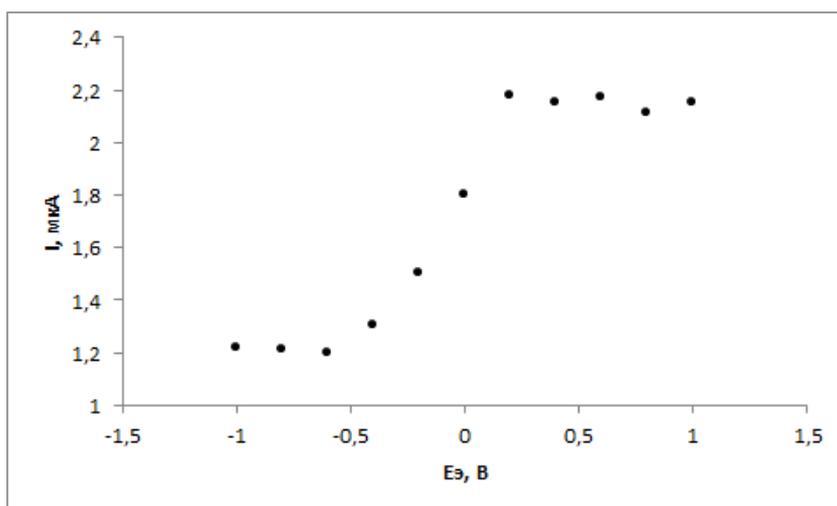


Рисунок 17 - Зависимость тока электровосстановления Кармуазина от потенциала электролиза в буфере Бриттона-Робинсона рН 2,0 на модифицированном электроде. $C_{\text{карм.}}=0,5 \text{ мг/дм}^3$

Для трифенилметанового красителя была получена аналогичная зависимость, предел которой достигается при $Eэ=0,0 \text{ В}$.

Для выбора времени электролиза исследовали область значений от 0 до 60 с. При увеличении времени электролиза до 10 с наблюдается рост интенсивности электрохимического сигнала всех анализируемых красителей, который при последующем увеличении времени изменяется мало (Рис. 18).

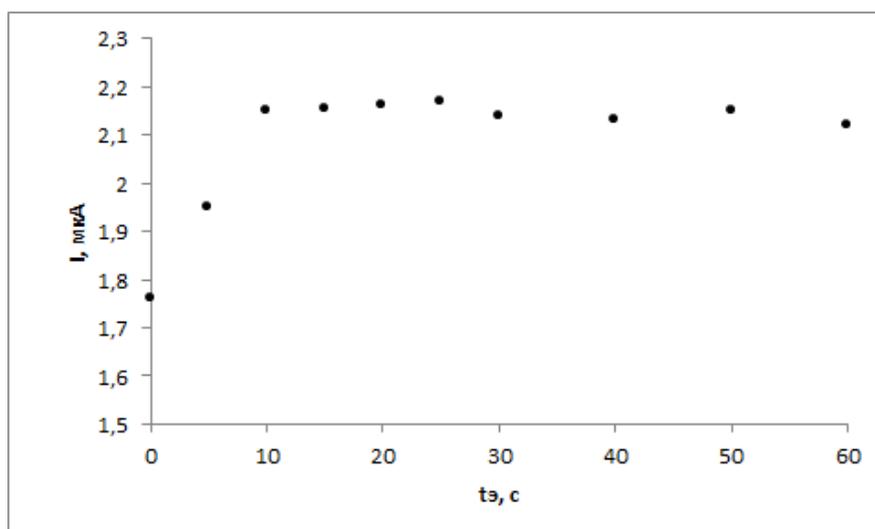


Рисунок 18 - Зависимость тока электровосстановления Кармуазина от времени электролиза в буфере Бриттона-Робинсона рН 2,0 на модифицированном электроде. $C_{\text{карм.}}=0,5 \text{ мг/дм}^3$

Таким образом, в данной главе на модельных растворах выбраны рабочие условия определения синтетических красителей на модифицированном углеродными чернилами УПЭ методом вольтамперометрии. В качестве фонового электролита предложено использовать универсальную буферную смесь Бриттона-Робинсона с рН 2,0 для определения азокрасителей и с рН 7,0 для определения трифенилметанового красителя. Съемку вольтамперограмм проводят в катодном постоянноточковом режиме с дифференцированием при скорости развертки 100 мВ/с. Потенциал электролиза соответствует 0,1 В и 0,0 В для азокрасителей и трифенилметанового красителя соответственно. Время электролиза соответствует 10 с.

3.4 Исследование механизмов окисления-восстановления синтетических красителей на модифицированном электроде

Исследование механизмов окисления-восстановления веществ необходимо для понимания процессов, происходящих на границе электрод-раствор. Электрохимическая реакция, как правило, состоит из нескольких последовательных стадий – электрохимических, связанных с переносом электронов, и химических, связанных с превращением промежуточных продуктов. Именно определение лимитирующей стадии процесса, и, как следствие, всего механизма в целом, является одной из основных задач электрохимических методов исследования.

3.4.1 Механизм окисления-восстановления азокрасителей

Для изучения механизма электровосстановления азокрасителей исследовали влияние скорости развертки потенциала на ток и потенциал их катодного сигнала в интервале от 20 до 200 мВ/с. Как видно из рисунка 19, с увеличением скорости развертки потенциала происходит увеличение тока пика Кармуазина и сдвиг потенциала пика в область более отрицательных значений.

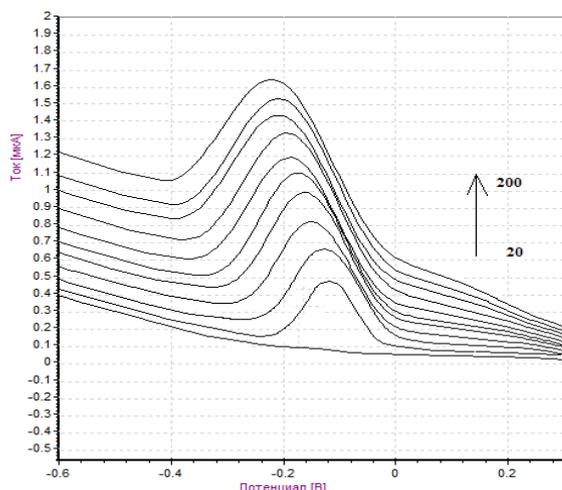


Рисунок 19 - Влияние скорости развертки на потенциал электровосстановления кармуазина в буфере Бриттона-Робинсона (рН 2,0). $C_{\text{карм.}} = 0,5 \text{ мг/дм}^3$, $W = 20\text{-}200 \text{ мВ/с}$

Экспоненциальный характер зависимости функции тока $I/W^{1/2}$ от скорости сканирования потенциала указывает на наличие сопряженной гомогенной химической реакции (Рис. 20А) [127], которая, однако, не является лимитирующей стадией процесса, о чем говорит прямолинейная зависимость I от $W^{1/2}$ (Рис. 20Б) [128].

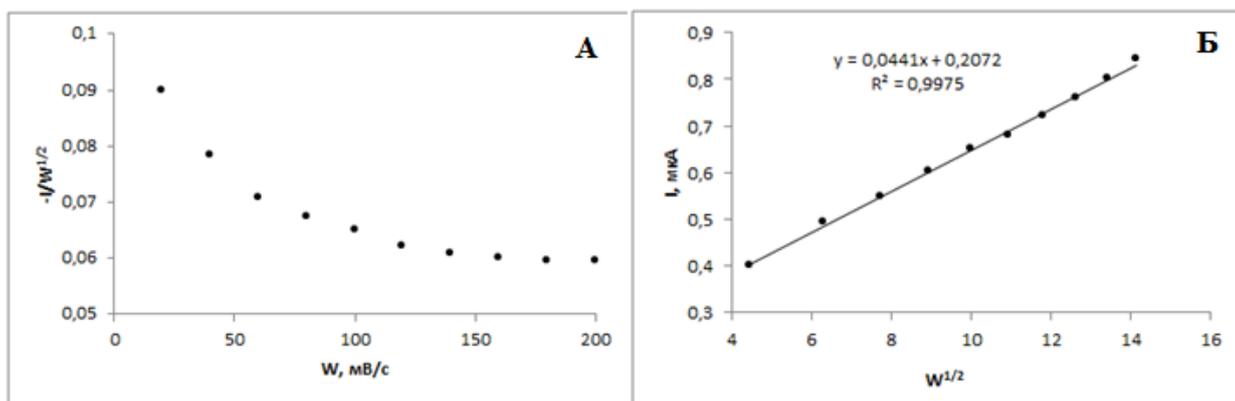


Рисунок 20 - Зависимость функции тока $I/W^{1/2}$ от скорости развертки потенциала W (А); Зависимость тока электровосстановления Кармуазина I от $W^{1/2}$ (Б)

На необратимый характер процесса указывает отсутствие анодного пика, смещение потенциала в сторону более отрицательных значений при увеличении скорости развертки, а также прямолинейная зависимость потенциала пика от $\lg W$

(Рис. 21) в соответствии с уравнением для потенциала пика необратимого процесса [129]:

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha n_{\alpha} F} \left[0.78 - \ln k_s + \lg \sqrt{D \frac{\alpha n_{\alpha} F W}{RT}} \right] \quad (2)$$

Где: E_p - потенциал пика, В

E^0 - стандартный потенциал, В

R - универсальная газовая постоянная, 8,31 Дж/(моль·К)

T - температура, К

F - постоянная Фарадея, Кл/моль

D - коэффициент диффузии, м²с⁻¹

W - скорость сканирования потенциала, В/с

k_s - гетерогенная константа скорости электродного процесса, см·с⁻¹

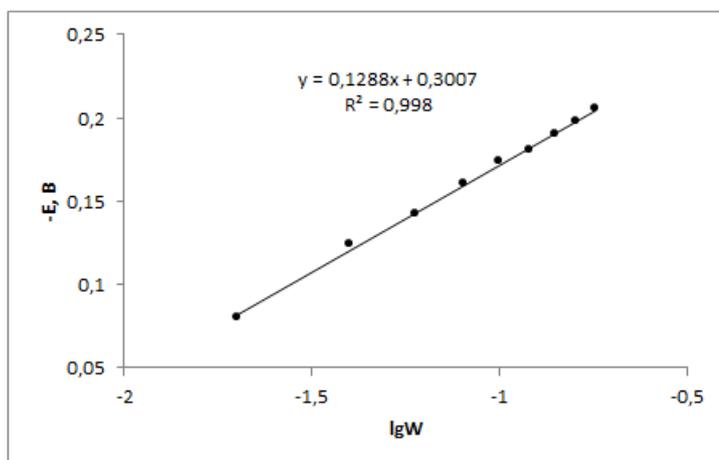


Рисунок 21 - Зависимость потенциала электровосстановления кармуазина от $\lg W$ в буфере Бриттона-Робинсона (рН 2,0). $C_{\text{карм.}} = 0,5$ мг/дм³, $W = 20-200$ мВ/с

По наклону зависимости E_p от $\lg W$ можно определить эффективный коэффициент переноса электронов по формуле:

$$\alpha n_{\alpha} = 2,303 \left(\frac{RT}{2BF} \right) \quad (3)$$

Где B – тангенс угла наклона прямой $E = B \lg W + A$ в координатах $E_p - \lg W$. Определенный эффективный коэффициент переноса составляет 0,46 – значение близкое к 0,5, что в соответствии с критериями Демьяновича и Лосева свидетельствует о том, что перенос первого электрона лимитирует скорость всего электрохимического процесса [130].

Число электронов необратимого процесса может быть определено по форме пика, характеризующейся разностью потенциалов между потенциалом пика и потенциалом, соответствующим половине высоты пика $E_{1/2}$. Для необратимого процесса эти две величины связаны выражением [128]:

$$|E_p - E_{1/2}| = \frac{47,7}{\alpha z} \text{ мВ} \quad (4)$$

где α - эффективный коэффициент переноса электронов,

z - число электронов.

В соответствии с разностью E_p и $E_{p/2}$, равных $-0,16\text{В}$ и $-0,11\text{В}$ соответственно, принимая коэффициент переноса электрона равный $0,5$, рассчитали количество электронов, равное $1,91$, т.е. близкое к 2 .

В соответствии с литературными источниками, механизм электровосстановления азосоединений достаточно хорошо изучен [131]. Однако существует два варианта протекания электродного процесса.

При изучении электрохимического поведения азобензена на ртутно-капающем электроде в ацетатном буферном растворе при рН $4,6$ было показано, что молекула азобензена восстанавливается сначала до гидразобензена при участии двух протонов и двух электронов, а затем при более отрицательных потенциалах наблюдается второй пик, соответствующий восстановлению гидразобензена до анилина. При этом общее число электронов всего процесса равно четырем [132].

Однако на электрохимическую реакцию восстановления азосоединений большое влияние оказывает природа заместителей и их положение по отношению к азо-группе. Так, если в структуре молекулы присутствуют электроноакцепторные группы: $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{CN}$, $-\text{COOH}$, то такое соединение может восстанавливаться до гидразосоединения. Введение в молекулу электронододорных групп, таких как $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, наоборот увеличивает основность азогруппы по сравнению с азобензеном, потенциал восстановления второй стадии смещается к более положительным значениям и происходит

сливание двух пиков в один. Весь процесс сводится к четырехэлектронному восстановлению до ароматических аминов [133].

Рассчитанное по форме вольтамперометрического пика число электронов, равное двум, может быть объяснено на основании теории Флоренса [134], согласно которой в ходе электрохимической реакции при участии двух протонов и двух электронов происходит образование нестабильного гидразосоединения, которое затем подвергается реакции диспропорционирования с образованием одного моля исходного азосоединения и ароматических аминов в соответствии с реакцией:

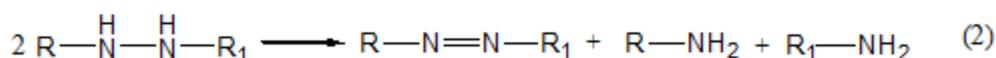


Рисунок 22 - Механизм электровосстановления азосоединений

3.4.2 Механизм окисления-восстановления трифенилметанового красителя Синего блестящего

В отличие от азокрасителей, СБ дает сигнал как в катодной, так и в анодной областях, соответствующих процессам восстановления и окисления молекулы красителя. Исходя из формы циклических вольтамперных кривых можно предположить, что процесс окисления-восстановления СБ носит обратимый или квазиобратимый характер.

Основными диагностическими критериями обратимости процесса являются [128]:

1. Расстояние между пиками ΔE_p

Для обратимого процесса $|E_{pa}| - |E_{pc}| = 0,058/z$ и не зависит от скорости изменения потенциала. В случае квазиобратимого процесса скорость изменения потенциала влияет на ΔE_p .

2. Зависимость тока пика от скорости развертки потенциала

Для обратимого и необратимого процесса I_p прямолинейно зависит от $W^{1/2}$. Квазиобратимый процесс не подчиняется линейной зависимости.

При увеличении скорости развертки потенциала от 20 до 200 мВ/с происходит увеличение расстояния между анодным и катодным пиками (Рис. 23). Причем при малых скоростях развертки наблюдается незначительное изменение ΔE_p , которое увеличивается с возрастанием скорости развертки.

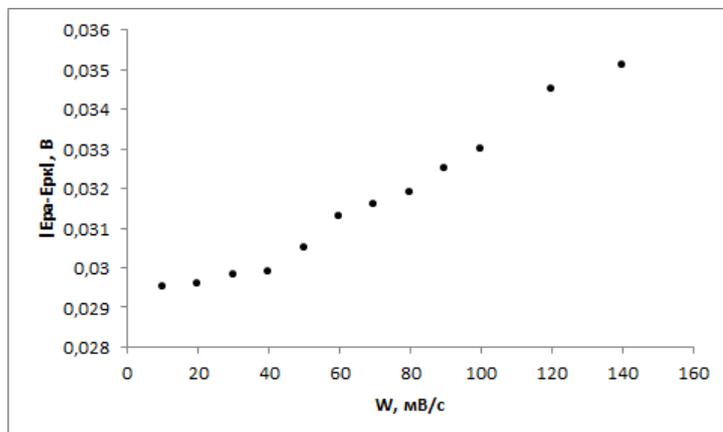


Рисунок 23 - Зависимость ΔE_p процесса окисления-восстановления СБ от скорости сканирования потенциала

Методом катодной вольтамперометрии получена зависимость тока электровосстановления СБ от квадратного корня из скорости развертки потенциала. Зависимость $I=f(W^{1/2})$ имеет нелинейный характер (Рис. 24).

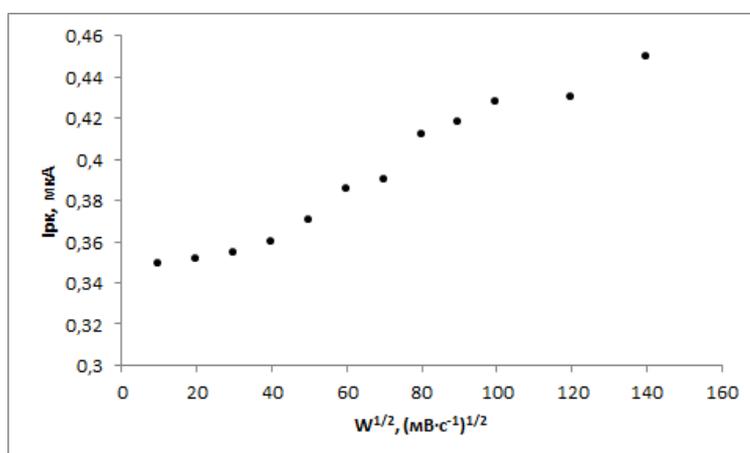


Рисунок 24 - Зависимость тока электровосстановления СБ от скорости сканирования потенциала в степени $\frac{1}{2}$ в буфере Бриттона-Робинсона рН 7,0. $C_{СБ}=0,5$ мг/дм³

Таким образом, оба критерия указывают на квазиобратимость электрохимического процесса.

Расчет числа электронов

Как известно, на обратимость электрохимического процесса большое влияние оказывает скорость изменения потенциала – чем она выше, тем больше процесс сдвигается в сторону необратимого. Поэтому при малых скоростях развертки потенциала можно приблизить квазиобратимый процесс к обратимому. Для электрохимически обратимого поведения характерна связь потенциалов катодного и анодного пиков, из которой может быть вычислено число электронов, принимающих участие в электрохимической реакции [128]:

$$\Delta E_p = 2,128 \frac{RT}{zF} = \frac{0,057}{z} \quad (5)$$

Для проведения эксперимента применяли циклическую постоянноточковую вольтамперометрию со скоростью развертки потенциала 5 мВ/с. Разность между потенциалами анодного и катодного токов составила 0,03В. Подставляя данное значение в формулу 5 нашли число электронов, участвующих в электрохимической реакции равное 2,05, т.е. близкое к 2.

Таким образом, учитывая квазиобратимость протекания процесса и участие в нем ионов водорода был предположен механизм окисления-восстановления красителя СБ, показанный на рисунке 25.

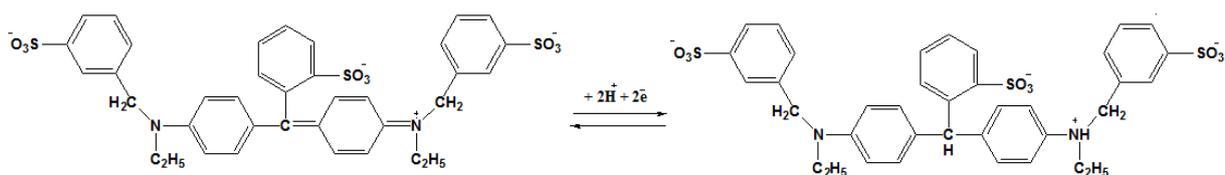


Рисунок 25 - предполагаемый механизм окисления-восстановления СБ на МЭ

3.5 Исследование адсорбционного характера электрохимического процесса

Как известно, электрохимические реакции многих органических соединений могут быть осложнены процессами адсорбции на поверхности электрода. Исследуемые молекулы красителей имеют достаточно большой

размер. Кроме того, как уже было показано в разделе 3.3.2, наблюдается изменение аналитического сигнала при увеличении времени накопления до 10с. В данном разделе рассматривается вопрос о возможном наличии адсорбции красителей на электродной поверхности.

О наличии или отсутствии адсорбционного вклада в общий электрохимический процесс можно судить, изучив зависимости тока от скорости сканирования потенциала. На наличие адсорбционной составляющей указывает:

1. Линейная зависимость тока пика I от скорости сканирования потенциала W [135].
2. Значение критерия Семерано $\geq 0,5$ (тангенс угла наклона линейной зависимости $\lg I$ от $\lg W$) [136].

Для исследуемых СК характерна нелинейная зависимость тока пика от скорости сканирования потенциала (Рис. 26А). Кроме того, критерий Семерано варьируется от 0,31 до 0,45 (Рис. 26Б). Несоблюдение обоих критериев свидетельствует об отсутствии адсорбции на поверхности электрода.

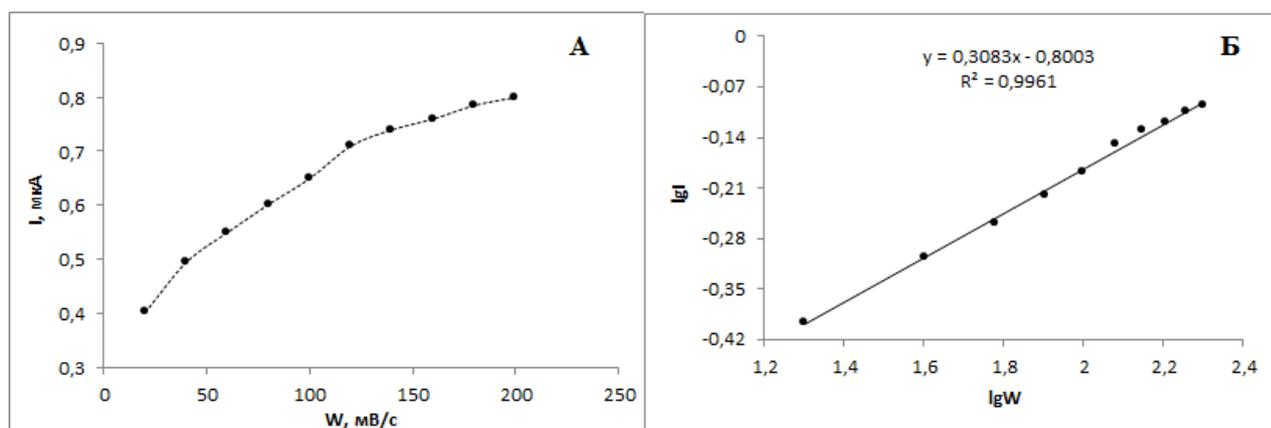


Рисунок 26 - А: Зависимость тока электровосстановления Кармуазина от скорости сканирования потенциала; Б: логарифмическая зависимость тока пика от скорости сканирования потенциала

Таким образом, на основании полученных результатов был сделан вывод о квазиобратимом характере предельного тока электровосстановления красителей и отсутствии адсорбционной составляющей.

ГЛАВА 4. ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ НА МОДИФИЦИРОВАННОМ ЭЛЕКТРОДЕ

Катодные пики восстановления красителей могут быть использованы как аналитические сигналы для их определения в пищевых продуктах. В данной главе исследована возможность определения как индивидуальных красителей, так и их смесей методом катодной вольтамперометрии. Для максимальной достоверности состав буферного раствора был приближен к составу реальных объектов путем создания модельных смесей. В качестве основных компонентов были выбраны три наиболее часто встречающихся вещества - сахароза, лимонная кислота и бензоат натрия. При создании модельных смесей ориентировались на их содержание в пищевых продуктах. Для создания модельной системы в электрохимическую ячейку, содержащую фоновый электролит, добавляли сахарозу, лимонную кислоту и бензоат натрия для создания их концентрации в ячейке 300, 90 и 30 мг/дм³ соответственно.

4.1 Определение индивидуальных синтетических красителей

Большинство пищевых продуктов содержат, как правило, один краситель. В данном разделе показана возможность определения индивидуальных СК на модифицированном электроде при подобранных рабочих условиях.

4.1.1 Определение азокрасителей

Как уже было показано, рабочими условиями при определении азокрасителей является применение катодной постоянноточковой вольтамперометрии в режиме первой производной, модифицированного электрода в качестве рабочего, а также хлоридсеребряных – в качестве вспомогательного и электрода сравнения. Буфер Бриттона-Робинсона с pH 2,0 использовали в качестве фонового электролита. Развертку потенциалов проводили от 0,3 до -0,7 В со скоростью 100 мВ/с. Предварительно осуществляли стадию накопления при потенциале 0,1 В и времени 10 с соответственно.

Все исследуемые азокрасители в данных условиях эксперимента дают четкие, хорошо воспроизводимые сигналы. На рисунке 27 представлены катодные вольтамперограммы электровосстановления кармуазина в зависимости от его концентрации в растворе, из которых видно, что увеличение интенсивности сигнала электровосстановления красителя происходит пропорционально увеличению его концентрации.

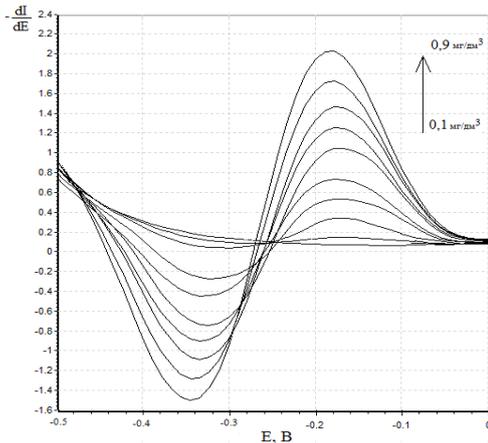


Рисунок 27 - Катодные вольтамперограммы электровосстановления кармуазина на МЭ в буфере Бриттона-Робинсона (рН 2,0) в зависимости от концентрации: $C_{\text{карм.}} = 0,1 - 0,9 \text{ мг/дм}^3$, $W = 100 \text{ мВ/с}$

Данная линейная зависимость соблюдается в интервале концентраций 0,02 – 1,07 мг/дм³ (Рис. 28).

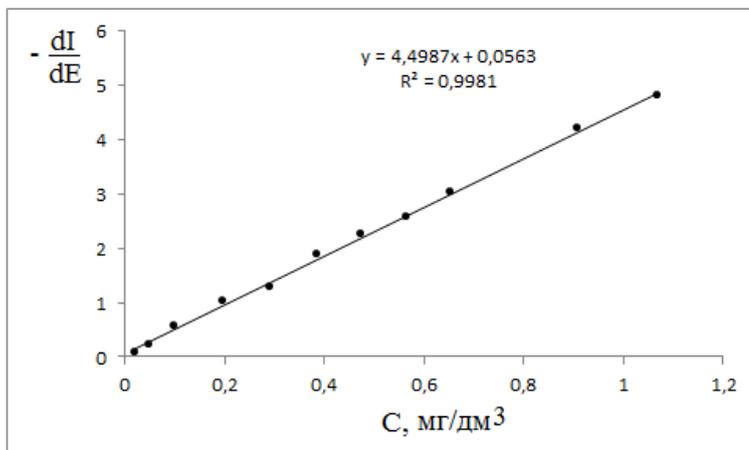


Рисунок 28 - Зависимость тока электровосстановления кармуазина в буфере Бриттона-Робинсона (рН 2,0) от концентрации: $C_{\text{карм.}} = 0,02 - 1,1 \text{ мг/дм}^3$, $W = 100 \text{ мВ/с}$

Аналогично были построены градуировочные характеристики для Понсо 4R и Тартразина. Параметры градуировочных характеристик индивидуального определения азокрасителей представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Параметры градуировочных характеристик индивидуального определения азокрасителей

Краситель	Линейный диапазон концентраций, мг/дм ³	Уравнение регрессии	Предел обнаружения, мг/дм ³
Кармуазин	0,02 – 1,07	$y = 4,4987x + 0,0563$ $R^2 = 0,998$	0,009
Понсо 4R	0,02 – 1,30	$y = 3,843x + 0,0949$ $R^2 = 0,995$	0,011
Тартразин	0,02 – 0,83	$y = 4,1498x + 0,0122$ $R^2 = 0,996$	0,010

4.1.2 Определение трифенилметанового красителя Синего блестящего

При определении красителя трифенилметанового ряда СБ применяли катодную постоянноточковую вольтамперометрию в режиме первой производной в диапазоне потенциалов от 0,0 до -0,7 В, модифицированный электрод в качестве рабочего и хлоридсеребряные – в качестве вспомогательного и электрода сравнения. Фоновым электролитом, служил буфер Бриттона-Робинсона с рН 7,0. Стадию накопления осуществляли при потенциале 0,0 В и времени 10 с соответственно.

При увеличении концентрации СБ в растворе, происходит пропорциональное увеличение тока электровосстановления красителя в интервале концентраций от 0,02 до 2,31 мг/дм³ с уравнением регрессии $y = 5,1394x - 0,0229$ ($R^2 = 0,9989$) и пределом обнаружения 0,008 мг/дм³ (Рис. 29).

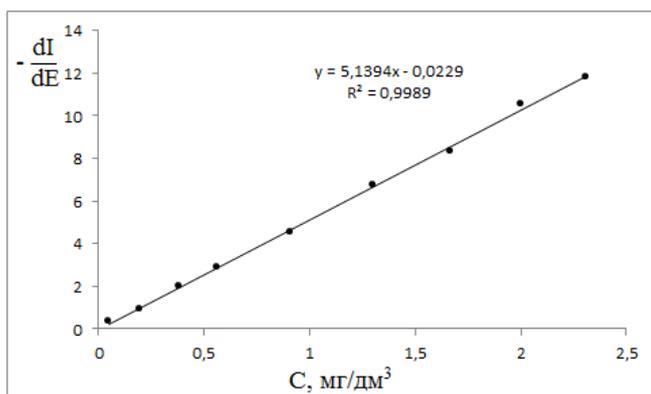


Рисунок 29 - Зависимость тока электровосстановления СБ в буфере Бриттона-Робинсона (рН 7,0) от концентрации: $C_{СБ} = 0,05 - 2,31$ мг/дм³, $W = 100$ мВ/с

Таким образом, в данной главе показана возможность определения СК на модифицированном электроде при условии, что пищевой продукт содержит не более одного красителя.

4.2 Определение смеси синтетических красителей на модифицированном электроде

Для придания различных оттенков пищевым продуктам производители используют красители разных цветов. Чаще всего можно встретить комбинацию красного и желтого, а также синего и желтого цветов для придания оранжевого и зеленого оттенков продуктам питания соответственно. В данной главе исследована возможность совместного электрохимического определения двух пар красителей: Понсо 4R и Тартразина, а также СБ и Тартразина. Данные комбинации цветов встречаются в конфетах, мармеладе, напитках.

4.2.1 Совместное определение Понсо 4R и Тартразина

Для оценки возможности совместного определения двух азокрасителей Понсо 4R и Тартразина применяли постояннотоктовую катодную вольтамперометрию в режиме первой производной в области потенциалов от 0,2 до -0,6 В. В качестве фонового электролита использовали буфер Бриттона-Робинсона с рН 2,0.

Электрохимическое восстановление Понсо 4R и Тартразина происходит при потенциале $-0,05$ В и $-0,23$ В соответственно, что позволяет проводить их одновременное определение (Рис. 30).

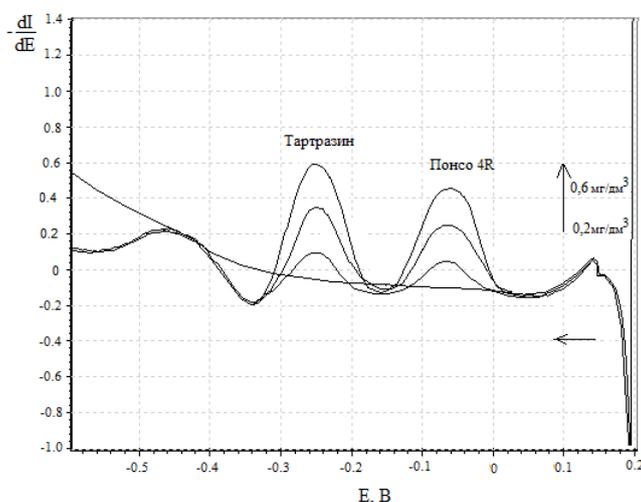


Рисунок 30 - Катодные вольтамперограммы электровосстановления Понсо 4R и Тартразина на МЭ в буфере Бриттона-Робинсона (рН 2,0) в зависимости от концентрации: $C = 0,2 - 0,6$ мг/дм³, $W = 100$ мВ/с

Для оценки взаимного влияния Понсо 4R и Тартразина регистрировали изменение тока электровосстановления от концентрации одного красителя в присутствии избытка другого. Для этого в электрохимическую ячейку, содержащую 1 мг/дм³ Тартразина, добавляли аликвоты Понсо 4R и регистрировали изменение интенсивности сигнала. Аналогичный эксперимент проводили для Тартразина в присутствии 1 мг/дм³ Понсо 4R.

Из рисунка 31 видно, что происходит уменьшение линейного диапазона определяемых концентраций для обоих красителей в присутствии избыточного содержания второго красителя.

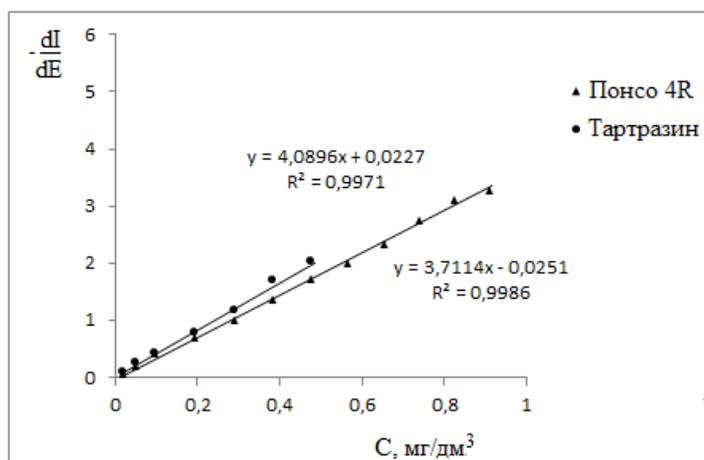


Рисунок 31 - градуировочные характеристики Понсо 4R и Тартразина в буфере Бриттона-Робинсона pH 2,0 при содержании второго красителя $C=1\text{мг/дм}^3$

Однако, несмотря на это, данного диапазона вполне достаточно для определения СК в пищевых продуктах. В таблице 7 показаны параметры градуировочных характеристик каждого красителя в присутствии избыточного содержания второго красителя.

Таблица 7 - Параметры градуировочных характеристик определения смеси Понсо 4R и Тартразина

Краситель	Линейный диапазон концентраций, мг/дм ³	Уравнение регрессии	Предел обнаружения, мг/дм ³
Понсо	0,02 – 0,91	$y = 3,7114x - 0,0251$ $R^2 = 0,9986$	0,011
Тартразин	0,02 – 0,57	$y = 4,0896x + 0,0227$ $R^2 = 0,9971$	0,010

4.2.2 Совместное определение Тартразина и Синего блестящего

Аналогично была рассмотрена возможность совместного определения красителей разных структурных рядов – Тартразина и СБ. Данная комбинация очень часто встречается для придания зеленого цвета напитку «Тархун», а также для окрашивания мармелада и желе в зеленый цвет.

В данном эксперименте также применяли постоянноточковую катодную вольтамперометрию в режиме первой производной в области потенциалов от 0,0 до -1,0 В. В качестве фонового электролита использовали буфер Бриттона-

Робинсона. Следует учитывать, что максимальный сигнал Тартразина наблюдается в кислой среде, а СБ – в нейтральной. Однако, как уже было показано в главе 3, азокрасители, в том числе Тартразин, не дают электрохимического сигнала в сильно щелочной среде при $\text{pH} > 8,0$, в отличие от СБ. В связи с этим, для определения СБ в присутствии Тартразина был выбран $\text{pH} 10,0$.

При проведении эксперимента в электрохимическую ячейку, содержащую фоновый электролит с $\text{pH} 2,0$, сахарозу, лимонную кислоту и бензоат натрия, добавляли СБ $C=1\text{мг/дм}^3$ и постепенно увеличивали концентрацию Тартразина в ячейке.

Как видно из рисунка 32, при $\text{pH} 2,0$ наблюдается четкий пик при потенциале $-0,23\text{ В}$, соответствующий электровосстановлению Тартразина, интенсивность которого увеличивается пропорционально концентрации красителя в растворе. При этом катодный сигнал СБ, наблюдаемый при потенциале $-0,51\text{ В}$ остается без изменений.

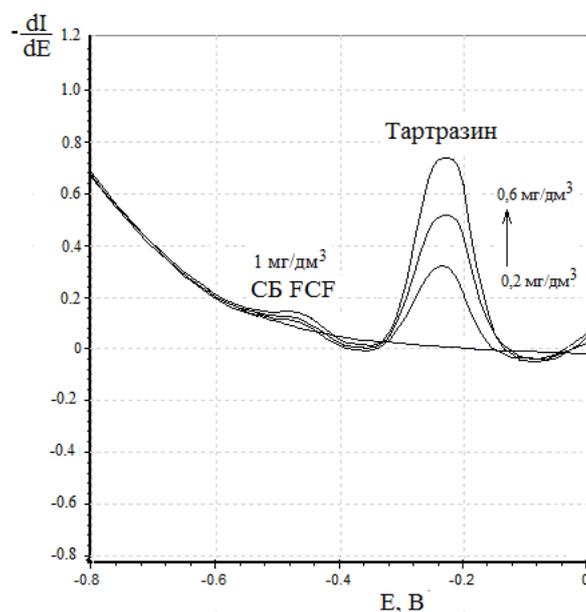


Рисунок 32 - Катодные вольтамперограммы электровосстановления Тартразина в зависимости от концентрации ($0,2 - 0,6\text{ мг/дм}^3$) в присутствии 1мг/дм^3 СБ на МЭ в буфере Бриттона-Робинсона ($\text{pH} 2,0$), $W = 100\text{ мВ/с}$

Как правило, в пищевых продуктах желтого красителя Тартразина содержится гораздо больше, чем синего. Поэтому регистрацию вольтамперограмм

электровосстановления СБ проводили в присутствии многократного избытка Тартразина. Для чего в электрохимическую ячейку, содержащую фоновый электролит с рН 10,0, сахарозу, лимонную кислоту и бензоат натрия, добавляли 30 мг/дм³ Тартразина и постепенно увеличивали концентрацию СБ. При этом на вольтамперограмме наблюдается четкий сигнал электровосстановления СБ, увеличивающийся пропорционально концентрации красителя в растворе и полное отсутствие сигнала Тартразина (Рис. 33).

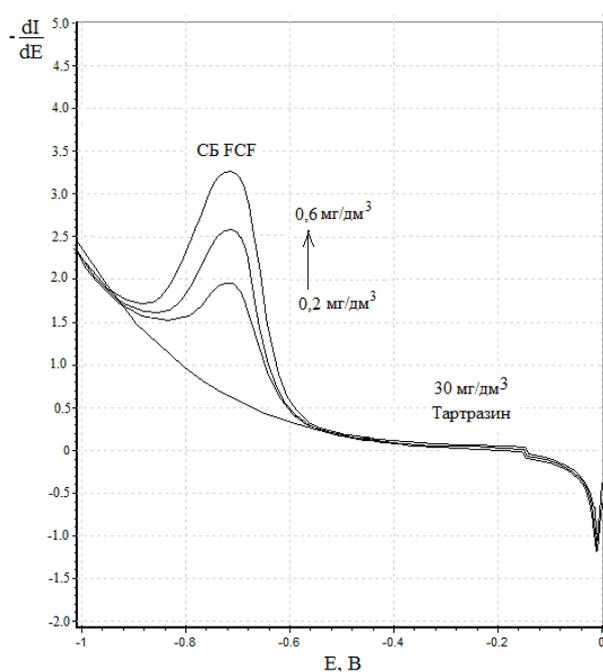


Рисунок 33 - Катодные вольтамперограммы электровосстановления СБ в зависимости от концентрации ($C = 0,2 - 0,6$ мг/дм³) в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина на МЭ в буфере Бриттона-Робинсона (рН 10,0), $W = 100$ мВ/с

Были построены градуировочные характеристики Тартразина и СБ при их совместном присутствии в фоновом электролите при рН 2,0 и рН 10,0 соответственно (Рис. 34).

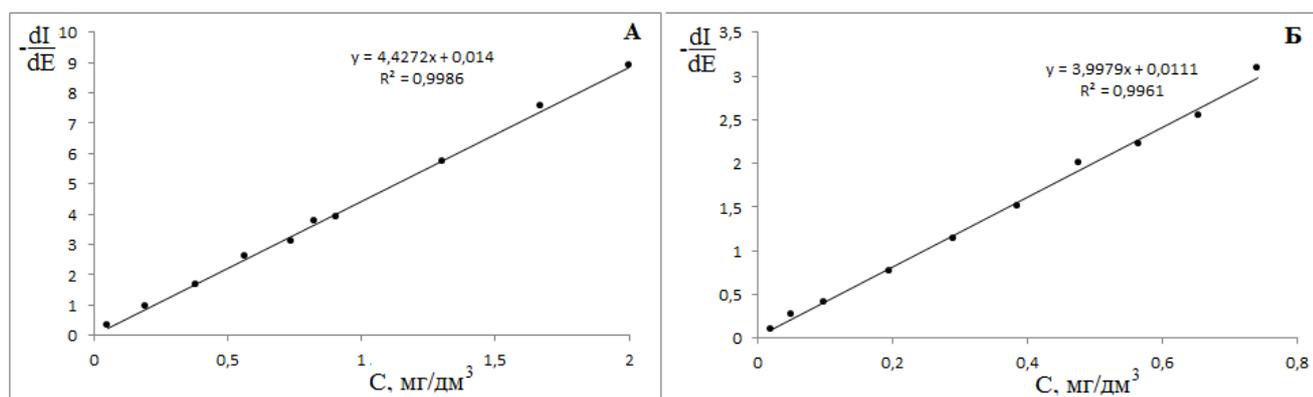


Рисунок 34 - Градуировочные характеристики СБ (А) и Тартразина (Б) в буфере Бриттона-Робинсона при рН 10,0 и 2,0 соответственно

Параметры градуировочных характеристик совместного определения СБ и Тартразина при представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Параметры градуировочных характеристик определения смеси СБ и Тартразина

Краситель	Линейный диапазон концентраций, mg/dm^3	Уравнение регрессии	Предел обнаружения, mg/dm^3
Тартразин	0,02 – 0,74	$y = 3,9979x + 0,0111$ $R^2 = 0,9961$	0,010
СБ	0,02 – 2,0	$y = 4,4272x + 0,014$ $R^2 = 0,9986$	0,009

Как видно из таблицы, благодаря подбору подходящего рН для определения каждого красителя в присутствии избытка другого, их взаимное влияние невелико и мало влияет на линейный диапазон и чувствительность определения.

4.3 Определение натуральных и синтетических красителей

Несмотря на некоторые ограничения использования натуральных красителей, таких как чувствительность к изменению рН, температуре и свету, они также находят применение в пищевом производстве. При этом иногда производители используют смесь натурального и СК, а в некоторых случаях имеет место фальсификация продуктов – когда под видом натуральных используют СК.

Согласно проекту стратегии повышения качества пищевой продукции в РФ до 2030 года, необходимость выявления некачественной продукции, в том числе фальсификата, является одной из приоритетных задач повышения уровня жизни населения [137]. В рамках стратегии очевидна необходимость разработки экспрессных методик, позволяющих отличить натуральный краситель от синтетического.

В данной работе в некоторых продуктах, выбранных для анализа, производителями заявлено применение натуральных красителей, таких как куркумин E 100, каротин E 160, сахарный колер E 150, кармин E 120, антоцианы E 163. При вольтамперометрическом анализе продуктов, содержащих перечисленные красители, электрохимические сигналы не были зафиксированы в исследуемой области потенциалов. Это связано с тем, что при таком способе пробоподготовки (водная экстракция) нерастворимые в воде куркумин и каротин не переходят в анализируемый раствор, а кармин, антоцианы и сахарный колер не проявляют электрохимической активности в данной области потенциалов.

В отличие от вольтамперометрии, при применении спектрофотометрического метода регистрируется спектр поглощения анализируемых растворов, содержащих кармин, антоцианы и сахарный колер. А при одновременном присутствии синтетического и натурального красителей одного цвета происходит перекрывание спектров поглощения, как например, в случае анализа смеси кармуазина и антоцианов (Рис. 35)

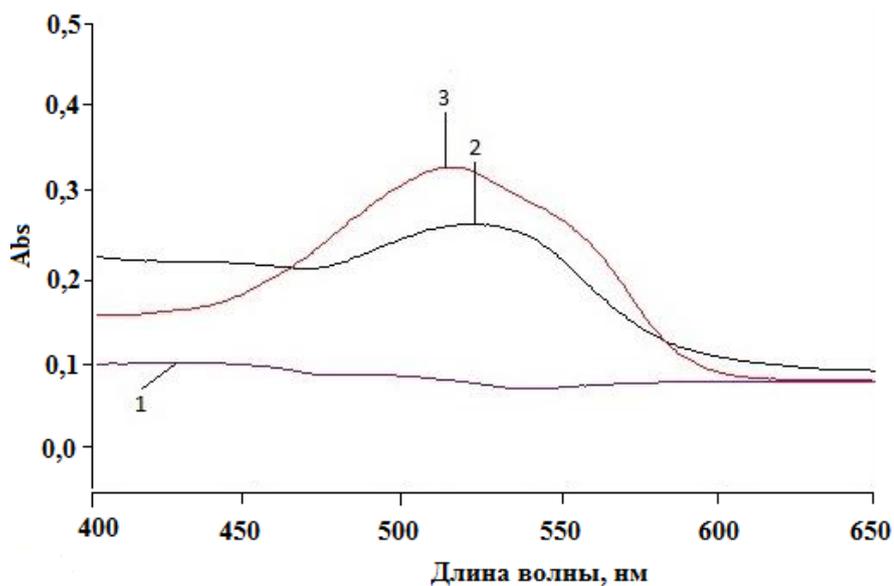


Рисунок 35 - Спектры поглощения: 1 – растворитель (H_2O), 2 – антоцианы, 3 – стандартный раствор кармуазина 5 мг/дм^3

Таким образом, если необходимо определить краситель какого происхождения (натурального или синтетического) содержится в пищевом продукте, то электрохимический метод является наиболее подходящим для данной цели и имеет явные преимущества по сравнению со спектрофотометрией.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

5.1. Исследование влияния сопутствующих компонентов пищевой матрицы на электрохимические сигналы синтетических красителей

Как правило, основной трудностью при определении СК является выявление и устранение компонентов пищевой матрицы, которые могут мешать определению. В данном разделе исследовалось влияние компонентов, наиболее часто встречающихся в составе анализируемых пищевых продуктов, на электрохимические сигналы СК. Концентрацию сопутствующих веществ рассчитывали исходя из их количественного содержания в продуктах.

5.1.1 Влияние подсластителей, консервантов

Исходя из того, что определение красителей проводили в безалкогольных напитках, мармеладе, конфетах, желе, драже изучили состав данных объектов. Каждый образец в своем составе в наибольшем количестве содержит сахарозу, глюкозу, фруктозу, аскорбиновую и лимонную кислоты, а также бензоат натрия и сорбат калия.

Оценку влияния сопутствующих компонентов на электрохимические сигналы СК проводили с помощью катодной вольтамперометрии в буфере Бриттона-Робинсона при рН 2,0 для азокрасителей и рН 7,0 для СБ. При проведении эксперимента в электрохимическую ячейку, содержащую 0,5 мг/дм³ красителя, добавляли избыток исследуемого органического соединения и регистрировали значение тока электровосстановления красителей до введения сопутствующих веществ и после. Принято считать, что если изменение тока не превышает 5% в присутствии мешающего вещества, то данный компонент не оказывает влияния на сигнал [138]. Результаты влияния мешающих веществ на сигнал электровосстановления кармуазина представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Влияние веществ различной природы на сигнал электровосстановления кармуазина $C=0,5 \text{ мг/дм}^3$ по t-критерию на МЭ.

$$t_{\text{табл.}}(P=0,95, n=4, f=3) = 3,18$$

И, мкА до добавления сопутствующих компонентов	Сопутствующий компонент	Соотношение концентрации кармуазина к конц. сопутств. комп, мг/дм ³	И, мкА после добавления сопутствующих компонентов	t _{эсп.}
2,25±0,09	Сахароза	1:1000	2,20±0,18	1,16
	Глюкоза	1:300	2,25±0,08	1,54
	Фруктоза	1:300	2,32±0,16	2,87
	Лимонная кислота	1:300	2,26±0,16	1,64
	Аскорбиновая кислота	1:300	2,18±0,13	2,12
	Бензоат натрия	1:100	2,21±0,11	2,34
	Сорбат калия	1:100	2,19±0,17	2,41

Аналогичные исследования были проведены для всех четырёх СК. Было показано, что 1000-кратный избыток сахарозы, 300-кратный избыток глюкозы, фруктозы, лимонной, аскорбиновой кислот и 100-кратный избыток бензоата натрия и сорбата калия не оказывают существенного влияния на электрохимические сигналы СК.

5.1.2 Влияние желирующих веществ

В таких пищевых продуктах, как мармелад и желе помимо консервантов и подсластителей в значительном количестве присутствует желатин, представляющий собой полипептидный полимер белковой природы [139]. Являясь пористым веществом с развитой поверхностью, желатин способен сорбировать красители из анализируемой матрицы, тем самым оказывая влияние на результат определения. Поэтому для продуктов, содержащих желатин, необходимо проведение более тщательной пробоподготовки для максимального извлечения красителей из пищевой матрицы.

Для изучения мешающего влияния желатина на электрохимическое определение красителей ориентировались на технологию изготовления мармелада, согласно которой содержание желатина в субстанции для его приготовления составляет 50 г/дм^3 [140]. Для создания модельных смесей брали навеску желатина массой $5,0 \text{ г}$, растворяли при небольшом нагревании в 50 мл дистиллированной воды, добавляли 5 мл раствора кармуазина $C=1000 \text{ мг/дм}^3$ и после охлаждения раствор доводили до метки дистиллированной водой. 10 мл полученного модельного раствора (раствор №1), содержащего 50 г/дм^3 желатина и 50 мг/дм^3 красителя, центрифугировали с помощью центрифуги Centrifuge 5702 R в течение 10 мин. при скорости 4000 об./мин. и проводили определение кармуазина в растворе с помощью катодной вольтамперометрии в режиме первой производной в буфере Бриттона-Робинсона при $\text{pH } 2,0$.

Согласно результатам анализа, полученным после центрифугирования, около 22% красителя остается сорбированными в отцентрифугированном желатине. В связи с этим, был сделан вывод о необходимости повторения процедуры экстракции красителя из желатина. Для этого к осажденной части желатина добавляли 10 мл дистиллированной воды, 1 мл $0,1 \text{ М}$ раствора HNO_3 , тщательно перемешивали при нагревании до 50°C и снова центрифугировали при тех же условиях. Аликвоту полученного раствора объемом 5 мл (раствор №2) добавляли к 5 мл раствора №1 и проводили определение кармуазина. После второй экстракции извлечение красителя составило 90% , что указывает на необходимость повторения процедуры экстракции.

Согласно таблице 10 проведение трех процедур экстракции и центрифугирования вполне достаточно для полного извлечения красителя из пищевой матрицы, содержащей в своем составе желатин.

Таблица 10 - Проверка правильности определения кармуазина в модельном растворе, содержащем 50 г/дм³ желатина методом «введено-найденно» (n=3, P=0,95)

№	Введено, мг/дм ³	Найдено, мг/дм ³		
		1 экстракция	2 экстракция	3 экстракция
1	50	39±3	45±4	50±4
2		40±4	47±4	49±3
3		38±3	44±3	48±4

Таким образом, в данном разделе на модельном растворе разработана процедура максимального извлечения кармуазина из матрицы, содержащей желатин. Аналогичные исследования были проведены для всех четырех СК, по результатам которых был сделан вывод о необходимости проведения процедуры экстракции красителей не менее трех раз.

5.2 Пробоподготовка пищевых продуктов

Пробоподготовка образцов осуществлялась в зависимости от вида пищевого продукта. В случае безалкогольных напитков она минимальна и заключалась в дегазации (если необходимо) и фильтровании напитка через бумажный фильтр.

При пробоподготовке леденцов и драже взвешивали не менее 5,0 г. образца, помещали в стакан вместимостью 100 см³, растворяли в 30 см³ дистиллированной воды при нагревании до 50⁰С. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры, переносили в мерную колбу вместимостью 50 см³ и доводили до метки дистиллированной водой. Далее раствор отфильтровывали через бумажный фильтр.

При пробоподготовке мармелада также взвешивали не менее 5,0 г. образца, помещали в стакан вместимостью 100 см³, растворяли в 30 см³ дистиллированной воды при нагревании до 50⁰С. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры, переносили в мерную колбу вместимостью 50 см³ и доводили до метки дистиллированной водой. После этого полученный раствор центрифугировали в течение 10 мин. при скорости 4000 об./мин. с помощью

центрифуги Centrifuge 5702 R. Отцентрифугированный раствор (№1) оставляли для анализа, к осадку, содержащему желатин, добавляли 10 мл дистиллированной воды, 1 мл 0,1 М раствора HNO_3 и после тщательного перемешивания повторяли центрифугирование. Процедуру повторяли 2 раза. Далее полученные после центрифугирования растворы смешивали и проводили определение СК.

Общая схема пробоподготовки представлена на рис. 36.

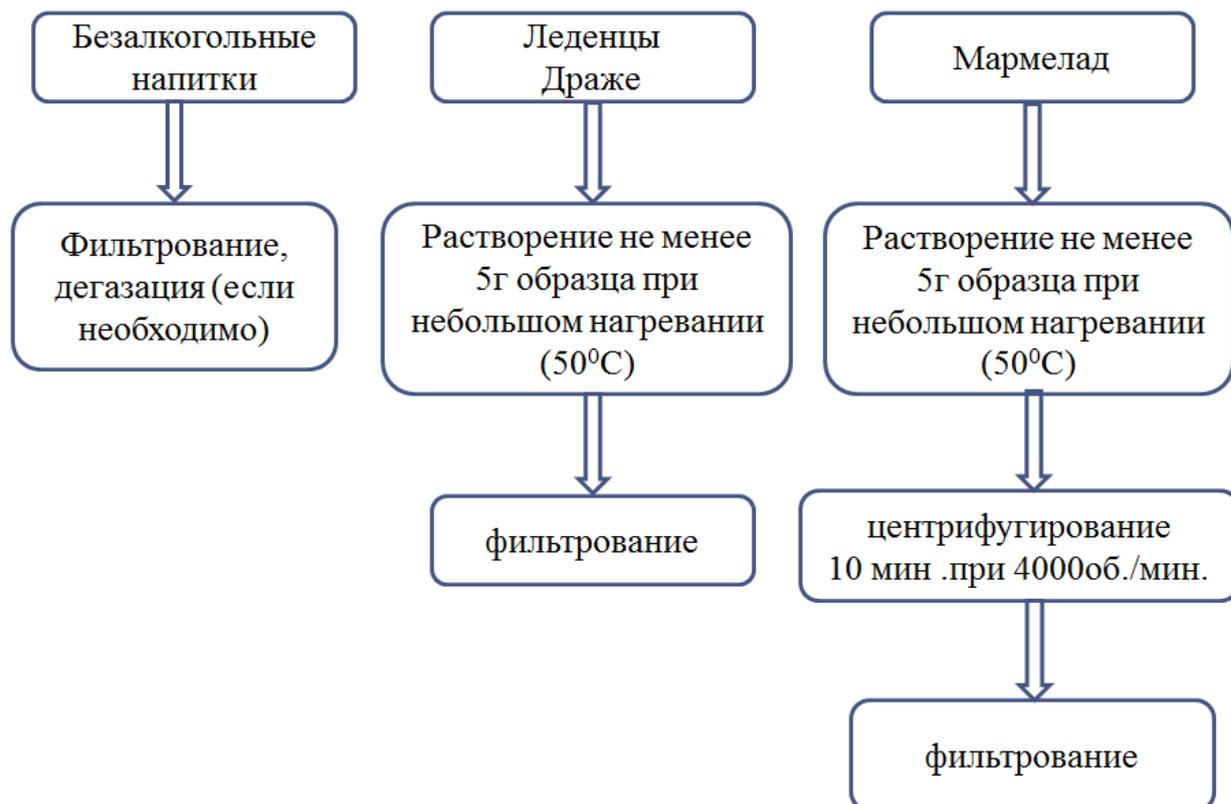


Рисунок 36 - Общая схема пробоподготовки пищевых продуктов для вольтамперометрического определения СК

5.3 Определение синтетических красителей в пищевых продуктах методом спектрофотометрии

Спектрофотометрическая методика определения СК в пищевых продуктах основана на их способности поглощать свет в видимой области спектра. Пробоподготовка образцов для спектрофотометрического определения проводилась аналогично пробоподготовке для вольтамперометрического определения СК. Снимали спектр анализируемого красителя в диапазоне длин волн 200-800 нм и регистрировали длину волны максимума поглощения. Спектр

поглощения Кармуазина и длины волн максимумов поглощения всех исследуемых красителей представлены на рисунке 37 и в таблице 11.

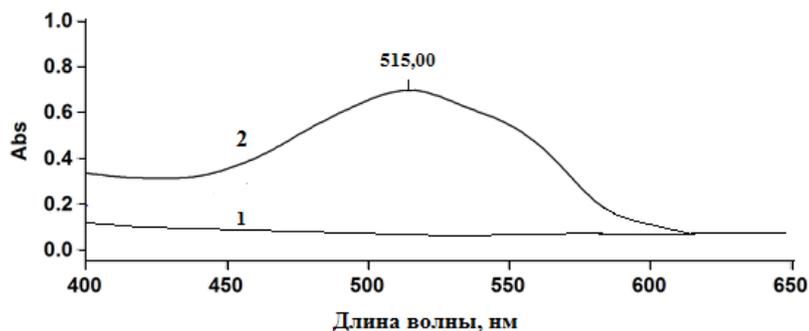


Рисунок 37 - Спектр поглощения Кармуазина: **1** – спектр растворителя (H_2O), **2** – стандартный раствор кармуазина $C = 10 \text{ мг/дм}^3$

Таблица 11 - Длины волн максимума поглощения СК

Краситель	λ_{max} , нм
Понсо 4R	505
Кармуазин	515
Тартразин	426
СБ	630

Для построения градуировочной зависимости готовили стандартные растворы каждого красителя с концентрациями $2,0 - 20,0 \text{ мг/дм}^3$ и измеряли интенсивность поглощения каждого раствора при длине волны максимума поглощения при времени интеграции 1 с, спектральной пропускной способности канала 2 нм, шаге сканирования 0,1 с на спектрофотометре Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis.

Параметры градуировочных характеристик для определения СК спектрофотометрическим методом представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Параметры градуировочных характеристик определения СК спектрофотометрическим методом

Краситель	Линейный диапазон концентраций, мг/дм^3	Уравнение регрессии
Понсо 4R	2,0-20,0	$A=0,0391C + 0.0827$ ($R=0,99950$)
Кармуазин	2,0-20,0	$A=0,04565C + 0.06457$ ($R=0,99970$)

Продолжение таблицы 12

Тартразин	2,0-20,0	$A=0,04247C + 0.09001$ ($R=0,99996$)
СБ	2,0-20,0	$A=0,14234C + 0.07346$ ($R=0,99904$)

5.4 Методика количественного определения Кармуазина в напитках

В электрохимическую кварцевую ячейку вносят 10 см³ буфера Бриттона-Робинсона рН 2,0 и пропусканием газообразного азота в течение 5 мин. удаляют из раствора растворенный кислород. Далее при перемешивании проводят стадию электролиза при $E_{э}=0,1$ В, $t_{э}=10$ с. После этого прекращают подачу газа, проводят стадию успокоения в течение 20с и регистрируют вольтамперограммы фонового электролита в диапазоне потенциалов от 0,3 до -0,5 В (отн. нас. х.с.э). По отсутствию пиков на вольтамперограмме судят о чистоте фонового электролита.

Затем в стаканчик с фоновым электролитом вносят аликвоту отфильтрованного безалкогольного напитка и в тех же условиях проводят регистрацию вольтамперграмм. При потенциале -0,16 В регистрируют пик электровосстановления кармуазина на МЭ в режиме первой производной. Содержание красителя в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику. Время анализа одного образца составляет не более 20 мин. с учетом всех стадий пробоподготовки.

Результаты определения Кармуазина в напитках вольтамперометрическим и спектрофотометрическим методами представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Результаты определения кармуазина (мг/дм³) в безалкогольных напитках вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6$, $p = 0,95$, $t_{табл.} = 2,57$

Напиток	I	II	т _{эсп.}	Допустимое содержание, мг/дм ³
«Королевский пингвин» (Вишня)	36,4±2,2	36,1±2,1	1,65	50
«Приятный день» (Витаминный микс)	12,2±1,1	13,6±1,1	2,08	
«Шампусенок» (Вишня, арбуз)	4,09±0,23	4,37±0,14	1,87	

5.5 Методика количественного определения Тартразина в драже, карамели, мармеладе

10 см³ буферного раствора Бриттона-Робинсона помещают в кварцевый стаканчик и проводят удаление растворенного кислорода в течение 5 мин. с помощью газообразного азота. Затем проводят стадию электролиза при $E_z=0,1$ В, $t_z=10$ с. После прекращения подачи азота проводят стадию успокоения в течение 20 мин и регистрируют вольтамперограммы фонового электролита. После подтверждения чистоты буферного раствора, в ячейку добавляют аликвоту подготовленного образца и регистрируют катодные вольтамперограммы Тартразина при $E = -0,23$ В в режиме первой производной. Содержание красителя в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику. С учетом пробоподготовки время анализа одного образца составляет не более 45 мин.

Результаты определения Тартразина вольтамперометрическим и спектрофотометрическим методами представлены в таблице 14.

Таблица 14 - Результаты определения Тартразина (мг/кг) в вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6$, $p = 0,95$, $t_{\text{табл.}} = 2,57$

Объект анализа	I	II	$t_{\text{эсп}}$	Допустимое содержание, мг/кг
Драже "Морской берег"	198 ± 9	203 ± 11	1,98	300
Драже "Лимонный фреш"	84 ± 6	86 ± 5	1,65	
Карамель "Лимонная"	55 ± 5	54 ± 5	1,73	
Мармелад "Желейно-формовой"	33 ± 3	34 ± 3	2,04	
Мармелад «Многослойный желейный»	49 ± 4	45 ± 3	2,12	
Начинка "Птичье молоко"	32 ± 3	30 ± 3	1,89	

5.6 Методика количественного определения Понсо 4R в напитках, желе

В кварцевый стаканчик вносят 10 см³ буферного раствора Бриттона-Робинсона pH 2,0, удаляют растворенный кислород продуванием через раствор газообразного азота в течение 5 мин., проводят электролиз при $E_{\text{э}}=0,1$ В, $t_{\text{э}}=10$ с, затем после отключения подачи газа проводят стадию успокоения 20с и проверяют чистоту фонового электролита по отсутствию пиков на вольтамперограммах в диапазоне потенциалов от 0,3 до -0,5 В.

Затем в ячейку с фоновым электролитом добавляют аликвоту подготовленного образца и в режиме первой производной регистрируют вольтамперограммы электровосстановления Понсо 4R при $E=-0,05$ В. Концентрацию красителя в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику. Время анализа одного образца составляет не более 45 мин с учетом всех стадий пробоподготовки.

Результаты определения Понсо 4R вольтамперометрическим и спектрофотометрическим методами представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Результаты определения Понсо 4R (мг/кг) в вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6$, $p = 0,95$, $t_{\text{табл.}} = 2,57$

Объект анализа	I	II	$t_{\text{экс}}$	Допустимое содержание, мг/кг
Напиток «Приятный день» (Тропический микс)	10,7±1,5	9,8±1,6	0,86	50
Напиток «Японская груша»	31±4	34±3	1,54	
Напиток «Джолли Джокер» (Клюква)	27±3	30±3	1,01	
Желе «Земляника»	25±3	23±3	1,21	

5.7 Методика количественного определения Синего блестящего в напитках, конфетах

При определении СБ в электрохимический стаканчик вносят 10 см³ буферного раствора Бриттона-Робинсона рН 7,0, удаляют растворенный кислород пропусканием через раствор газообразного азота. Далее после стадии электролиза в течение $t=10$ с при $E=0,0$ В, отключают газ и проводят успокоение раствора. После этого проводят проверку чистоты фонового электролита путем регистрации вольтамперограмм в диапазоне потенциалов от -0,2 до -1,0 В. Если на вольтамперограммах отсутствуют пики, то фоновый электролит можно считать чистым.

Далее в ячейку вносят аликвоту подготовленного образца и регистрируют ток электровосстановления СБ при $E= -0,74$ В в тех же условиях. Количественное содержание красителя в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику.

Результаты определения СБ вольтамперометрическим и спектрофотометрическим методами представлены в таблице 16.

Таблица 16 - Результаты определения СБ (мг/кг) в вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами.

$n = 6, p = 0,95, t_{\text{табл.}} = 2,57$

Объект анализа	I	II	$t_{\text{эксп}}$	Допустимое содержание, мг/кг
Напиток «Powerade» (ледяная буря)	5,6±0,7	6,1±0,9	0,84	100
Оболочка драже "M&Ms" (синий)	3,8±0,8	4,1±0,9	0,34	

5.8 Методика количественного определения смеси Понсо 4R и Татразина в конфетах, мармеладе

В кварцевый стаканчик вносят 10 см³ буферного раствора Бриттона-Робинсона рН 2,0, в течение 5 мин. удаляют растворенный в фоновом электролите кислород пропусканием через раствор газообразного азота. После проведения

электролиза при $E_э=0,1$ В, $t_э=10$ с проводят проверку чистоты фонового электролита путем регистрации вольтамперограммы буферного раствора в диапазоне потенциалов от 0,3 до -0,5 В.

Затем в ячейку с фоновым электролитом добавляют аликвоту подготовленного образца и в режиме первой производной регистрируют вольтамперограммы электровосстановления Понсо 4R и Тартразина при $E=-0,05$ В и $E=-0,23$ В соответственно. Концентрацию красителей в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику. Время анализа одного образца составляет не более 45 мин с учетом всех стадий пробоподготовки.

Результаты определения смеси Понсо 4R и Тартразина вольтамперометрическим методом представлены в таблице 17.

Таблица 17 - Результаты определения Тартразина и Понсо 4R (мг/кг) при их совместном присутствии вольтамперометрическим методом

Объект анализа	Тартразин	Понсо 4R	Допустимое содержание, мг/кг	
			Тартразин	Понсо 4R
Карамель "Апельсин" (оранж.)	42 ± 3	38 ± 3	300	50
Мармелад "Желейно-формовой" (оранж.)	36 ± 3	31 ± 3		
Мармелад "Многослойный" (оранж.)	43 ± 4	46 ± 4		
мармелад "Бонди"	Синтетических красителей не обнаружено			
леденцы "Бон пари"				
мармелад "Чудо-ягода"				
оболочка драже "M&Ms" (желт.)				

5.9 Методика количественного определения смеси Тартразина и Синего блестящего в напитках

В электрохимическую ячейку помещают 10 см³ буферного раствора Бриттона-Робинсона рН 2,0. Продуванием через раствор газообразного азота в течение 5 мин., удаляют растворенный кислород. Далее проводят электролиз при

$E_z=0,1$ В, $t_z=10$ с и снимают вольтамперограмму фонового электролита в диапазоне потенциалов от 0,3 до -0,5 В, который считается чистым при отсутствии посторонних пиков

Затем в ячейку, содержащую фоновый электролит, вносят аликвоту подготовленного образца и при $E=-0,23$ В регистрируют вольтамперограмму электровосстановления Тартразина в режиме первой производной.

После измерения концентрации Тартразина, приступают к количественному определению трифенилметанового красителя СБ. Для этого в другую электрохимическую ячейку вносят буферный раствор Бриттона-Робинсона рН 10,0 (10 см³), аналогично удаляют мешающее влияние растворенного кислорода и проверяют чистоту фона. После этого вносят аликвоту анализируемого объекта и регистрируют вольтамперограмму электровосстановления СБ в диапазоне потенциалов от -0,2 до -1,0 В.

Концентрацию красителей в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику. Время анализа одного образца составляет не более 30 мин.

Результаты определения смеси Тартразина и СБ в напитках вольтамперометрическим методом представлены в таблице 18.

Таблица 18 - Результаты определения Тартразина и СБ (мг/кг) при их совместном присутствии вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6$, $p = 0,95$, $t_{\text{табл.}} = 2,57$

Объект анализа	Тартразин			СБ			Допустимое содержание, мг/кг	
	I	II	$t_{\text{эксп}}$	I	II	$t_{\text{эксп.}}$	Тартразин	СБ
Тархун «Экстра»	26±3	28±3	0,99	2,6±0,4	2,3±0,4	0,87	100	100
Тархун «из черноголовки»	31±3	35±3	1,93	2,1±0,6	2,5±0,7	1,44		
Тархун «Юсил»	28±3	26±3	0,87	1,9±0,3	2,1±0,3	0,79		
Тархун «Калинкино»	36±4	35±3	0,77	3,3±0,4	3,5±0,6	0,76		

ГЛАВА 6. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СМЕСИ ТАРТРАЗИНА И СИНЕГО БЛЕСТЯЩЕГО В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

6.1 Разработка методики вольтамперометрического определения синтетических красителей Тартразина и Синего блестящего в пищевых продуктах при их совместном присутствии

Электроаналитические методы занимают достойное место среди других инструментальных методов анализа органических соединений. Обладая высокой чувствительностью, селективностью, доступностью, эта группа методов находит все большее применение для экспрессной оценки качества и безопасности пищевых продуктов. Современной тенденцией является создание электрохимических сенсоров на основе модифицированных электродов для количественного определения различных компонентов пищевой матрицы, в том числе синтетических красителей.

Полученные пики восстановления Тартразина и СБ могут быть использованы в качестве аналитических сигналов для разработки методики их определения при одновременном присутствии.

Для разработки методики выбраны катодные сигналы красителей при потенциалах электровосстановления $-0,23$ В и $-0,74$ В для Тартразина и СБ соответственно, где зависимость тока от концентрации исследуемых красителей носит линейный характер. Линейный диапазон сохраняется в интервале концентраций от $0,02$ мг/дм³ до $0,74$ мг/дм³ для Тартразина и от $0,02$ мг/дм³ до $2,0$ мг/дм³ до для СБ. Данные диапазоны концентраций и пределы обнаружения Тартразина и СБ на уровне $0,010$ мг/дм³ и $0,009$ мг/дм³ соответственно достаточны для определения смеси красителей в пищевых продуктах. Уравнения регрессии полученных градуировочных характеристик для Тартразина и СБ: $y = 3,9979x + 0,0111$ ($R^2 = 0,9961$) и $y = 4,4272x + 0,014$ ($R^2 = 0,9986$), где I-ток электровосстановления красителя, мкА; С – концентрация красителя, мг/дм³.

Необходимо оценить правильность (адекватность) описания процесса данной моделью (в виде уравнения регрессии). Рассмотрим оценку адекватности на примере Тартразина. Для этого построим таблицу зависимости тока восстановления Тартразина от его концентрации (Табл. 19).

Таблица 19 - Зависимость высоты тока электровосстановления Татразина в зависимости от его концентрации в растворе

№	C, мг/дм ³	I _{1i} , мкА	I _{2i} , мкА	I _{3i} , мкА	I _{ср} , мкА	(I _i - I _{ср})
1	0,02	0,061	0,095	0,22	0,13	0,014
2	0,1	0,216	0,697	0,82	0,58	0,204
3	0,29	0,98	1,015	1,245	1,08	0,0414
4	0,48	1,56	2,12	1,68	1,79	0,174
5	0,65	2,01	2,36	2,11	2,16	0,065
6	0,74	3,14	2,55	3,94	3,21	0,973
						Σ=1,472

Оценим дисперсию воспроизводимости, используя данные параллельных определений каждого независимого опыта по формуле:

$$S_{\text{вос}}^2 = \frac{\sum(I_i - I_{\text{ср}})^2}{N(m - 1)} = \frac{1,472}{6(3 - 1)} = 0,123$$

Где N – число экспериментальных точек

n – число параллельных определений

Далее оценим дисперсию адекватности по расчетам, произведенным в таблице 20, где I^* - значения токов, рассчитанные по уравнению регрессии $y = 3,9979x + 0,0111$.

Таблица 20 - Оценка адекватности модели

№	С, мг/дм ³	I _{ср} , мкА	I*, мкА	(I* - I _{ср}), мкА
1	0,02	0,13	0,091058	0,0012
2	0,1	0,58	0,41089	0,028
3	0,29	1,08	1,170491	0,008
4	0,48	1,79	1,930092	0,021
5	0,65	2,16	2,609735	0,20
6	0,74	3,21	2,969546	0,058
				Σ=0,318

Далее оцениваем дисперсию адекватности по формуле:

$$S_{ад}^2 = \frac{n \sum (I^* - I_{ср})^2}{N - k} = \frac{3 * 0.318}{6 - 1} = \frac{0,954}{5} = 0.191$$

Где n – число параллельных опытов

N – число экспериментальных точек

k – число независимых переменных

Находим экспериментальное значение критерия Фишера:

$$F = \frac{S_{ад}^2}{S_{вос}^2} = \frac{0,191}{0,123} = 1,55$$

Находим $F_{табл.}$ для числа степеней свободы:

$$f_1 = n - k = 6 - 1 = 5$$

$$f_2 = n(N - 1) = 6(3 - 1) = 12$$

$$F_{табл.} = 3,9$$

Экспериментальное значение критерия Фишера меньше табличного:

1,55 < 3,9, следовательно модель адекватно описывает процесс

Правильность методики определения Тартразина в присутствии избытка СБ в модельных средах оценивалась методом «введено-найдено» (Табл. 21).

Таблица 21 - Результаты количественного определения Тартразина в присутствии 1 мг/дм³ СБ в модельных средах (P=0,95, n=3)

Введено, мг/дм ³	Найдено, мг/дм ³	ε, %
0,02	0,026	30
0,1	0,13	20
0,29	0,24	17
0,48	0,53	13
0,65	0,59	9
0,74	0,79	7

Аналогично рассчитывали дисперсию адекватности модели, описывающей процесс определения СБ в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина.

Проведя оценку дисперсии воспроизводимости и адекватности, находим экспериментальное значение критерия Фишера, равное 1,07. Данное значение меньше табличного **1,07 < 3,9**, следовательно, модель адекватно описывает процесс.

Правильность методики определения СБ в присутствии избытка Тартразина в модельных средах также оценивалась методом «введено-найденно» (Табл. 22).

Таблица 22 - Результаты количественного определения СБ в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина в модельных средах (P=0,95, n=3)

Введено, мг/дм ³	Найдено, мг/дм ³	ε, %
0,05	0,039	22
0,2	0,24	20
0,57	0,63	11
0,83	0,76	8
1,3	1,39	7
2	1,89	6

Можно сделать вывод, что данные, полученные по предложенному методу удовлетворительны и позволяют использовать полученные аналитические сигналы Тартразина и СБ в присутствии избыточного содержания второго красителя для разработки методики их количественного определения в пищевых продуктах.

6.2 Методика проведения измерений количественного содержания Тартразина и Синего блестящего в пищевых продуктах

После предварительной пробоподготовки пищевых продуктов, описанной в главе 6, приступают к количественному определению красителей.

Методика определения смеси красителей заключается в съемке вольтамперограмм электровосстановления Тартразина и СБ при разных рН – 2,0 и 10,0 соответственно, на УСЭ, модифицированном углеродными чернилами.

Экспериментальные исследования проводили на вольтамперометрическом анализаторе ТА-2 в трёхэлектродной ячейке, состоящей из рабочего модифицированного электрода, хлоридсеребряного вспомогательного и электрода сравнения при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с. В качестве фонового электролита использовали буфер Бриттона-Робинсона. Для определения Тартразина в присутствии СБ, использовали буфер с рН 2,0. Для определения СБ в присутствии Тартразина - с рН 10,0. Регистрацию вольтамперограмм проводили в постоянноточковом режиме с дифференцированием в области потенциалов от 0,0 до -1,0 В. Время электролиза обоих красителей составляет 10 с. Потенциал электролиза Тартразина и СБ составляют 0,1 и 0,0 В соответственно. Время успокоения 20 с. Перед определением каждого красителя в течение 5 мин удаляют растворенный кислород путем пропускания через фоновый электролит газообразного азота.

Расчет концентрации красителей в анализируемом растворе проводят по градуировочному графику. Для его построения готовят серию стандартных растворов красителей и регистрируют высоту тока электровосстановления в одинаковых условиях. При этом градуировочный график для определения Тартразина строят в присутствии 1 мг/дм³ СБ, в свою очередь для СБ – в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина. Строят графики зависимости высоты тока электровосстановления от концентрации красителей.

При определении концентрации красителя в анализируемом растворе по высоте тока его электровосстановления по графику находят соответствующее ему значение концентрации.

Аликвоту анализируемого раствора подбирают таким образом, чтобы концентрация исследуемого красителя соответствовала примерно середине градуировочного графика.

6.3 Подготовка вольтамперометрической методики определения смеси Тартразина и Синего блестящего к метрологической аттестации

При подготовке методики к метрологической аттестации необходимо оценить следующие метрологические характеристики методики:

1. Показатель повторяемости, представляющий собой СКО результатов, полученных в условиях повторяемости;
2. Показатель внутрилабораторной прецизионности, представляющий собой СКО результатов, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности (разное время, разные операторы, разные приборы);
3. Показатель точности методики, представляющий собой аддитивную сумму характеристик случайной и систематической погрешности.

Алгоритм расчета метрологических характеристик приведен в приложении 1.

Обобщенные результаты показателей качества методики определения Тартразина в присутствии СБ представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Значение показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении Тартразина в присутствии 1 мг/дм³ СБ (P=0,95, n=2, l=15)

$C, \text{ мг/дм}^3$	$\sigma_r^*, \%$	$\sigma_{R_L}^*, \%$	$\pm\Delta^*c, \%$	$\pm\Delta^*, \%$
0,02	9	10	17	32
0,1	8	8	14	26
0,29	4	5	12	18
0,48	4	4	11	15
0,65	4	4	5	10
0,74	3	4	5	9

Из данных таблицы можно сделать вывод, что при определении Тартразина в присутствии 1 мг/дм³ СБ вольтамперометрическим методом показатель

точности не превышает 32%, показатели повторяемости и воспроизводимости 9 и 10 %, соответственно.

При рассмотрении численных значений качественных показателей методики можно заметить, что идет возрастание значений показателя повторяемости (σ_r^*), воспроизводимости (σ_{RL}^*), точности результатов измерения ($\pm\Delta^*$) при возрастании концентрации Тартразина в ячейке (Рис. 38).

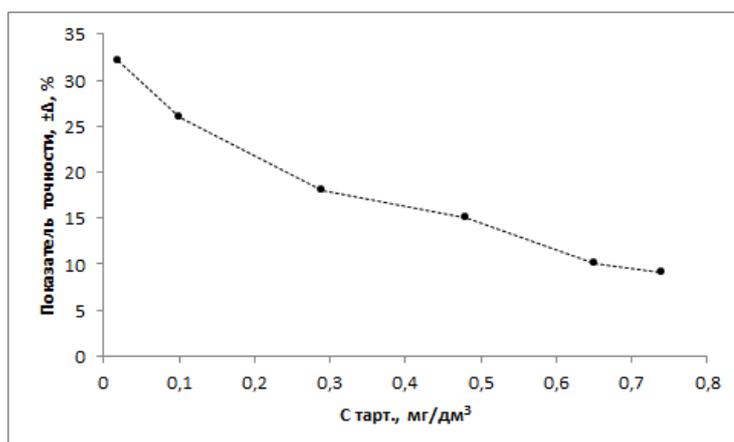


Рисунок 38 - Изменение показателя точности вольтамперометрической методики определения Тартразина в зависимости от концентрации в присутствии 1 мг/дм³ СБ

Изменение качественных характеристик МВИ не носит линейный характер, в таком случае интервал оценки, разбиваем на диапазоны и каждому диапазону приписываем количественные характеристики (Табл. 24).

Таблица 24 - Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности ($p = 0,95$, $n = 2$, $l = 15$)

Диапазон измерений, мг/дм ³	Показатели прецизионности (относительные значения)		Показатель точности (границы относительной погрешности при $P = 0,95$), $\pm\Delta$, %
	Показатель повторяемости, σ_r^* , %	Показатель воспроизводимости σ_{RL}^* , %	
0,02-0,29	9	10	32
0,29-0,65	4	5	18
0,65-0,74	4	4	10

Аналогичным образом были рассчитаны метрологические характеристики методики для определения СБ в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина (Табл. 25). В

таблице представлены обобщенные относительные характеристики для нескольких диапазонов определяемых концентраций.

Таблица 25 - Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении СБ в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина ($p = 0,95$, $n = 2$, $l = 15$)

Диапазон измерений, мг/дм ³	Показатели прецизионности (относительные значения)		Показатель точности (границы относительной погрешности при $P = 0,95$), $\pm\Delta$, %
	Показатель повторяемости, σ^* , %	Показатель воспроизводимости σ_{RL}^* , %	
0,02-0,5	8	9	27
0,5-1,0	6	7	16
1,0-2,0	3	4	8

Указанные выше показатели качества результатов анализа являются установленными характеристиками погрешности для совокупности результатов анализа, полученных при соблюдении требований методики при ее реализации в отдельной лаборатории. Таким образом, были установлены рабочие условия для количественного определения содержания Тартразина в продукции пищевой промышленности в присутствии 1 мг/дм³ СБ, а также СБ в присутствии 1 мг/дм³ Тартразина. Найдены диапазоны линейных зависимостей аналитических сигналов красителей от их концентрации, проверены гипотезы линейности градуировочных зависимостей, оценена адекватность моделей по критерию Фишера. Проведена оценка правильности методики методом «введено-найдено». Установлены основные метрологические характеристики разрабатываемой методики количественного определения содержания Тартразина и СБ в продукции пищевой промышленности (показатель точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ

Электрохимические методы, обладая рядом таких достоинств, как простота, доступность, экспрессность, чувствительность, все чаще применяются для анализа большого количества как неорганических, так и органических веществ, в том числе СК. Для увеличения чувствительности метода широкое применение получила модификация поверхности электрода. На сегодняшний день существует большое разнообразие модификаторов, применяемых для увеличения электропроводности и площади электроактивной поверхности электродов для определения СК в пищевых продуктах. Однако процедура приготовления большинства из них трудоемка и длительна. К тому же, возникает вопрос о пассивации электродной поверхности в процессе проведения анализа и регенерации электрода между определениями. В этом отношении электрод с обновляемой поверхностью позволяет избежать этих трудностей, а его модифицирование с помощью полимерной пасты, состоящей из графита и полистирола, позволяет в несколько раз повысить чувствительность определения по сравнению с немодифицированным электродом, а также значительно уменьшить время на приготовление модификатора и проведение анализа.

Эффективность модификатора оценивали с помощью стандартной окислительно-восстановительной пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Рассчитанная по уравнению Рэндлса-Шевчика электроактивная площадь поверхности МЭ оказалась в 4 раза выше по сравнению с немодифицированным электродом, что позволило увеличить интенсивность электрохимических сигналов и увеличить чувствительность определения.

Одной из основных задач при разработке методики является изучение различных факторов, влияющих на аналитический сигнал и подбор рабочих условий определения. Первым этапом данной работы являлось исследование электрохимических свойств СК, выбор условий получения четкого, воспроизводимого сигнала путем варьирования рН раствора фонового электролита, времени и потенциала электролиза.

В результате проведенных исследований показано различное влияние кислотности среды на электрохимические сигналы красителей разных структурных рядов. Так, протонирование азогруппы, являющейся основным акцептором протонов и электронов в структуре азокрасителей, происходит тем легче, чем больше протонов содержится в фоновом электролите. Поэтому очевидным является выбор буфера Бриттона-Робинсона с рН 2,0 в качестве фонового электролита для определения азокрасителей.

Совершенно другие закономерности наблюдаются для процесса электровосстановления/окисления красителя трифенилметанового ряда СБ. Показано, что электрохимические сигналы красителя также зависят от рН фонового электролита. Однако необходимо учитывать, что при понижении рН протекает реакция электрофильного присоединения по двойной связи центрального атома углерода, а при его повышении возможно образование карбинольного соединения по реакции нуклеофильного присоединения, в связи с чем в кислой и щелочной средах наблюдается уменьшение интенсивности электрохимических сигналов. В связи с тем, что максимальный сигнал СБ наблюдается в нейтральной среде, для его определения был выбран буфер Бриттона-Робинсона с рН 7,0.

После выбора рН раствора фонового электролита оценивали влияние таких параметров, как потенциал и время электролиза. При изменении потенциала электролиза от -1 до 1 В для всех красителей наблюдалось увеличение интенсивности сигнала до 0,1 В для азокрасителей и до 0,0 В для трифенилметанового красителя. Максимальная интенсивность сигналов всех исследуемых СК наблюдалась при проведении электролиза в течение 10 с. Дальнейшее увеличение потенциала и времени не оказывало существенного влияния на сигналы.

Дальнейшим этапом исследования было изучение влияния скорости развертки потенциала на электрохимические сигналы красителей для понимания процессов, происходящих на поверхности электрода и описания предполагаемого механизма электродной реакции. По отсутствию анодного пика на циклической

вольтамперограмме, смещению потенциала электровосстановления в отрицательную область при увеличении скорости развертки, а также по линейной зависимости потенциала пика от $I_g W$, был предположен необратимый характер электровосстановления азокрасителей, включающий образование нестабильного гидразосоединения и последующую реакцию диспропорционирования с образованием ароматических аминов.

В отличие от азосоединений, в случае красителя трифенилметанового ряда наблюдаются как катодный, так и анодный сигналы, по форме и расположению которых можно предположить протекание квазиобратимого процесса. При исследовании предположительного механизма окисления-восстановления СБ ориентировались на выполнение основных диагностических критериев обратимости процесса, таких как расстояние между анодным и катодным пиками (ΔE_p) и зависимость тока пика (I_p) от скорости развертки потенциала (W). Вывод о квазиобратимости электродной реакции был сделан на основании того, что с увеличением W происходит увеличение ΔE_p , а также не наблюдается прямолинейной зависимости I_p от $W^{1/2}$. Все эти признаки указывают на квазиобратимость наблюдаемого процесса. Как известно, при малых скоростях W можно приблизить такой процесс к обратимому, что и было сделано для расчета числа электронов. Учитывая рассчитанное число электронов, равное двум и участие протонов в электрохимической реакции, был предположен механизм квазиобратимого окисления-восстановления СБ, протекающий с участием двух протонов и двух электронов.

После установления механизмов электродных реакций при выбранных рабочих условиях оценивали возможность количественного определения, как индивидуальных красителей, так и двух смесей красителей разных цветов, что часто используется производителями для придания различных оттенков конфетам, желе, мармеладу, напиткам и т.д. Построены градуировочные характеристики, определены линейные диапазоны концентраций и пределы обнаружения для определения индивидуальных азокрасителей в кислой, а трифенилметанового красителя в нейтральной среде.

Что касается определения их смеси, то в случае двух представителей азокрасителей Понсо 4R и Тартразина, наблюдается некоторое уменьшение линейного диапазона определяемых концентраций и незначительное увеличение предела обнаружения каждого из них в присутствии избытка второго красителя. Однако этого вполне достаточно для определения Понсо 4R и Тартразина при их совместном присутствии в продуктах питания.

В случае определения смеси Тартразина и СБ использован факт отсутствия электрохимической активности Тартразина в сильнощелочной среде, в отличие от СБ. Поэтому целесообразным является определение Тартразина в присутствии СБ при pH 2,0, а затем определение СБ в присутствии Тартразина при pH 10,0. При подобранных условиях оба красителя оказывают незначительное влияние друг на друга.

Для определения СК в реальных объектах оценено влияние сопутствующих компонентов пищевой матрицы на электрохимические сигналы красителей. Было показано, что 1000-кратный избыток сахарозы, 300-кратный избыток глюкозы, фруктозы, лимонной, аскорбиновой кислот и 100-кратный избыток бензоата натрия и сорбата калия не оказывают существенного влияния на электрохимические сигналы СК.

Используя полученные результаты, проведено определение различных СК в ряде пищевых продуктов, включающий напитки, конфеты, мармелад, желе. В качестве метода сравнения использовали спектрофотометрический метод, рекомендуемый ГОСТ РФ для определения СК в объектах пищевой промышленности. Во всех образцах, где содержание СК заявлено производителями, не было обнаружено превышение их допустимого содержания.

Заключительным этапом являлась разработка методики вольтамперометрического определения смеси Тартразина и СБ в пищевых продуктах, а также подготовка методики к метрологической аттестации, т.е. расчет всех метрологических характеристик.

ВЫВОДЫ

1. Изучены физико-химические закономерности окисления-восстановления азокрасителей и красителя трифенилметанового ряда на модифицированном углеродными чернилами УСЭ. Показано, что процесс электровосстановления азокрасителей в кислой среде протекает с участием двух протонов, двух электронов и носит необратимый характер, включающий себя образование нестабильного гидразосоединения и последующее образование ароматических аминов в результате реакции диспропорционирования. Для процесса электровосстановления СБ наблюдается квазиобратимый процесс, также протекающий с участием двух протонов и двух электронов, интенсивность которого зависит от химической реакции электрофильного присоединения по двойной связи центрального атома углерода в кислой среде и образования карбинольного соединения по реакции нуклеофильного присоединения в щелочной.

2. Проведена оценка мешающего влияния сопутствующих компонентов пищевой матрицы на электрохимические сигналы СК. Показано, что многократный избыток сахарозы, фруктозы, лимонной, аскорбиновой кислот, а также бензоата натрия и сорбата калия не оказывают существенного влияния на аналитические сигналы СК.

3. Показана возможность вольтамперометрического определения двух смесей красителей Понсо 4R и Тартразина, а также СБ и Тартразина.

4. Подобраны рабочие условия вольтамперометрического определения как индивидуальных красителей Кармуазина, Понсо 4R, Тартразина, СБ, так и двух смесей красителей разных цветов, проведено сравнительное определение содержания СК в пищевых продуктах вольтамперометрическим и спектрофотометрическим методами.

5. Разработана методика вольтамперометрического определения смеси красителей разных структурных рядов, основанная на изменении рН фонового электролита от 2,0 до 10,0 для определения Тартразина и СБ соответственно.

Проведена оценка основных метрологических показателей разработанной методики.

Список литературы

1. Carocho, M. Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives / M. Carocho, M. F. Barreiro, P. Morales, I. Ferreira // *Compr. Rev. Food Sci. F.* – 2014. – Vol.13. - pp. 377-399. DOI: 10.1111/1541-4337.12065.
2. Sharma, V. A Global Perspective on the History, Use, and Identification of Synthetic Food Dyes / V. Sharma, H. T. McKone, P. G. Markow // *J. Chem. Educ.* – 2011. - Vol. 88. - No. 1. - pp. 24-28. DOI: 10.1021/ed100545v.
3. Venkataraman, K. The chemistry of synthetic dyes. / K. Venkataraman. - Academic Press: New York, 2012. – Vol. 4. - 548 p.
4. Waring, D. R. The chemistry and application of dyes / D. R. Waring, G. Hallas. – Springer Science & Business Media, 2013. - 413p.
5. Смирнов, Е. В. Пищевые красители. Справочник / Е. В. Смирнов. - СПб: Изд. «Профессия», 2009. - 352с.
6. ГОСТ Р 52481-2005 Красители пищевые. Термины и определения. - М.: Стандартинформ, 2006. - 11 с.
7. Zollinger, H. Color chemistry: synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments / H. Zollinger. - Wiley-VCH, Weinheim, 2003. - 623 p.
8. Codex Alimentarius: General standard for food additives. - Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2011. - 332 p.
9. Simov, D. Electronic spectra and π -electronic structure of some hydroxyazo dyes / D. Simov, St. Stojanov // *J. Mol. Struct.* – 1973. – Vol. 19. - pp. 255-274. [https://doi.org/10.1016/0022-2860\(73\)85269-X](https://doi.org/10.1016/0022-2860(73)85269-X).
10. Bafana, A. Azo dyes: past, present and the future / A. Bafana, S. S. Devi, T. Chakrabarti // *Environ. Rev.* - 2011. – Vol. 19. – pp. 350–370. <https://doi.org/10.1139/a11-018>
11. Болотов, В. М. Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение / В. М. Болотов, А. П. Нечаев, Л. А. Сарафанова. - СПб.: ГИОРД, 2008. – 240с.

12. Kiernan, J. A. Classification and naming of dyes, stains and fluorochromes / J. A. Kiernan // *Biotech. Histochem.* – 2001. – Vol. 76. – pp. 261-278. <http://dx.doi.org/10.1080/bih.76.5-6.261.278>.
13. Thetford, D. Triphenylmethane and related dyes. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* / D. Thetford. - John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, 2000. - 19 p. DOI: 10.1002/0471238961.2018091620080520.a01.
14. Chung, K. T. Azo dyes and human health: A review / K. T. Chung // *J. Environ. Sci. Health, Part C.* – 2016. – Vol. 34. – No 4. – pp. 233-261. <http://dx.doi.org/10.1080/10590501.2016.1236602>.
15. Brüscheiler, B. J. Identification of non-regulated aromatic amines of toxicological concern which can be cleaved from azo dyes used in clothing textiles / B. J. Brüscheiler, S. Küng, D. Bürgi, L. Mural, E. Nyfeler // *Regul. Toxicol. Pharm.* – 2014. – Vol. 69. – pp. 263-272. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.04.011>.
16. Amchova, P. Health safety issues of synthetic food colorants / P. Amchova, H. Kotolova, J. Ruda-Kucerova // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 73. – pp. 914-922. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>.
17. Oplatowska-Stachowiak, M. Food colors: Existing and emerging food safety concerns / M. Oplatowska-Stachowiak, C. T. Elliott // *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* – 2017. – Vol. 57. – No 3. – pp. 524-548. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2014.889652>.
18. Basu, A. Binding of carmoisine, a food colorant, with hemoglobin: Spectroscopic and calorimetric studies / A. Basu, G. S. Kumar // *Food Res. Int.* – 2015. – Vol. 72. – pp. 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.015>.
19. Kus, E. Genotoxic and cytotoxic effects of sunset yellow and brilliant blue, colorant food additives, on human blood lymphocytes / E. Kus, H. E. Eroglu // *Pakistan J. Pharm. Sci.* – 2015. – Vol. 28. – No 1. – pp. 227-230.
20. EFSA panel on Food Additives and Nutrition Sources added to Food. Scientific Opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food Additive on request

- from the European Commission // EFSA J. – 2009. - Vol. 7 - No 11:1328. – 39 p. 10.2903/j.efsa.2009.1328.
21. EFSA panel on Food Additives and Nutrition Sources added to Food. Refined exposure assessment for Azorubine/Carmoisine (E 122) as a food additive on request the European Commission // EFSA J. – 2015. – Vol. 13. – No 3:4072. – 35 p. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4072.
 22. EFSA panel on Food Additives and Nutrition Sources added to Food. Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Blue FCF (E 133) as a food additive // EFSA J. – 2010. – Vol. 8. – No 11:1853. – 36 p. doi: 10.2903/j.efsa.2010.1853.
 23. EFSA panel on Food Additives and Nutrition Sources added to Food. Scientific Opinion on the re-evaluation Tartrazine (E 102) // EFSA J. – 2009. – Vol. 7. – No 11:1331. - 52p. DOI: 10.2903/j.efsa.2009.1331.
 24. СанПиН 2.3.2.1293-03 Гигиенические требования по применению пищевых добавок. - М.: Минздрав России, 2003. - 416с.
 25. ГОСТ Р 52470-2005 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в алкогольной продукции. – М.: Стандартинформ, 2006. - 23с.
 26. ГОСТ Р 52671-2006 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в карамели. – М.: Стандартинформ, 2006. - 20с.
 27. ГОСТ Р 52825-2007 Продукты пищевые. Метод определения наличия синтетических красителей в пряностях. – М.: Стандартинформ, 2008. - 10с.
 28. Karanikolopoulos, G. Determination of synthetic food colorants in fish products by an HPLC-DAD method / G. Karanikolopoulos, A. Gerakis, K. Papadopoulou, I. Mastrantoni // Food Chem. – 2015. – Vol. 177. – pp. 197-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.026>.
 29. Li, X. Q. Identification and determination of 34 water-soluble synthetic dyes in foodstuff by high performance liquid chromatography – diode array detection – ion trap time-of-flight tandem mass spectrometry / X. Q. Li, Q. H. Zhang, K. Ma,

- H. M. Li, Z. Guo // *Food Chem.* – 2015. – Vol. 182. – pp. 316-326.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.019>.
30. Hajimahmoodi, M. Determination of eight synthetic dyes in foodstuffs by green liquid chromatography / M. Hajimahmoodi, M. Afsharimanesh, G. Moghaddam, N. Sadeghi, M. R. Oveisi, B. Jannat, E. Pirhadi, F. Z. Mazdeh, H. Kanan // *Food Addit. Contam.: Part A.* - 2013. - Vol. 30. - No 5. – pp. 780–785.
<http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2013.774465>.
31. de Andrade, F. I. Determination of synthetic food dyes in commercial soft drinks by TLC and ion-pair HPLC / F. I. de Andrade, F. I. Guedes, M. I. F. Vieira, F. N. Pereira Mendes, P. A. S. Rodrigues, C. S. Costa Maia, M. M. Marques Avila, L. de Matos Ribeiro // *Food Chem.* - 2014. – Vol. 157. - pp. 193–198.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.100>.
32. 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 / X. H. Chen, Y. G. Zhao, H. Y. Shen, L. X. Zhou, S. D. Pan, M. C. Jin // *J. Chromatogr. A.* – 2014. – Vol. 1346. – pp. 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.060>.
33. Kong, C. Chitosan-based adsorption and freeze deproteinization: Improved extraction and purification of synthetic colorants from protein-rich food samples / C. Kong, E. K. Fodjo, D. Li, Y. Cai, D. Huang, Y. Wang, X. Shen // *Food Chem.* – 2015. – Vol. 188. – pp. 240-247.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.115>.
34. Xie, L. Application of functionalized magnetic nanoparticles in sample preparation / L. Xie, R. Jiang, F. Zhu, H. Liu, G. Ouyang // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2014. – Vol. 406. – pp. 377–399. DOI 10.1007/s00216-013-7302-6.
35. Wu, H. Automated Magnetic Solid-Phase Extraction for Synthetic Food Colorant Determination / H. Wu, N. Gao, L. Zhang, Y. Li, Y. Shi, L. Du // *Food Anal. Methods.* – 2016. – Vol. 9. – pp. 614–623. DOI 10.1007/s12161-015-0219-2.
36. Jangju, A. Application of zein-modified magnetite nanoparticles in dispersive magnetic micro-solid-phase extraction of synthetic food dyes in foodstuffs /

- A. Jangi, K. Farhadi, M. Hatami, S. Amani, F. Esmali, A. Moshkabadi, F. Hajilari // *J. Sep. Sci.* – 2017. – Vol. 40. – No 6. – pp. 1343-1352. DOI: 10.1002/jssc.201600856.
37. Wang, X. Selective separation and determination of the synthetic colorants in beverages by magnetic solid-phase dispersion extraction based on a Fe₃O₄/reduced graphene oxide nanocomposite followed by high-performance liquid chromatography with diode array detection / X. Wang, N. Chen, Q. Han, Z. Yang, J. Wu, C. Xue, J. Hong, X. Zhou, H. Jiang // *J. Sep. Sci.* – 2015. – Vol. 38. – pp. 2167–2173. DOI: 10.1002/jssc.201500014.
38. Chai, W. Preparation of polydopamine-coated magnetic nanoparticles for dispersive solid-phase extraction of water-soluble synthetic colorants in beverage samples with HPLC analysis / W. Chai, H. Wang, Y. Zhang, G. Ding // *Talanta.* – 2016. – Vol. 149. – pp. 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.026>.
39. Rodríguez, J. A. Application of an Activated Carbon-Based Support for Magnetic Solid Phase Extraction Followed by Spectrophotometric Determination of Tartrazine in Commercial Beverages / J. A. Rodríguez, K. A. Escamilla-Lara, A. Guevara-Lara, J. M. Miranda, M. E. Páez-Hernández // *Int. J. Anal. Chem.* – 2015. – Vol. 2015. – pp. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/291827>.
40. Zou, T. Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors / T. Zou, P. He, A. Yasen, Z. Li // *Food Chem.* – 2013. – Vol. 138. – pp. 1742–1748. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.084>.
41. Harp, B. P. Determination of Seven Certified Color Additives in Food Products Using Liquid Chromatography / B. P. Harp, E. Miranda-Bermudez, J. N. Barrows // *J. Agric. Food. Chem.* – 2013. – Vol. 61. – No 15. – pp. 3726-3736. DOI: 10.1021/jf400029y.
42. Bonan, S. Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector / S. Bonan, G. Fedrizzi, S. Menotta, C. Elisabetta // *Dyes Pigm.* – 2013. – Vol. 99. – pp. 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.03.029>.

43. Ruiz-Aceituno, L. Use of ionic liquids in analytical sample preparation of organic compounds from food and environmental samples / L. Ruiz-Aceituno, M. L. Sanz, L. Ramos // *Tr. Anal. Chem.* – 2013. – Vol. 43. – pp. 121-145. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.006>.
44. Wu, H. A rapid shaking-based ionic liquid dispersive liquid phase microextraction for the simultaneous determination of six synthetic food colourants in soft drinks, sugar- and gelatin-based confectionery by high-performance liquid chromatography / H. Wu, G. Guo, L. Du, H. Tian, C. Hao, Z. Wang, J. Wang // *Food Chem.* – 2013. – Vol. 141. – pp. 182–186. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.015>.
45. 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 / O. Sha, X. Zhu, Y. Feng, W. Ma // *Food Chem.* – 2015. – Vol. 174. – pp. 380–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.068>.
46. Sha, O. Simultaneous ionic liquid aqueous two-phase extraction and spectrophotometric determination of amaranth and brilliant blue in food samples / O. Sha, X. Zhu // *J. Anal. Chem.* – 2015. – Vol. 70. – No 5. – pp. 558-565. <https://doi.org/10.1134/S1061934815050123>.
47. Heydari, R. Simultaneous determination of Tropaeolin O and brilliant blue in food samples after cloud point extraction / R. Heydari, F. Bastami, M. Hosseini, M. Alimoradi // *Iran. Chem. Commun.* – 2017. – Vol. 5. – pp. 242-251.
48. Heidarizadi, E. Simultaneous spectrophotometric determination of synthetic dyes in food samples after cloud point extraction using multiple response optimizations / E. Heidarizadi, R. Tabaraki // *Talanta.* – 2016. – Vol. 148. – pp. 237–246. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.075>.
49. Шестопалова, Н. Б. Системы нПАВ-Н₂О-электролиты в мицеллярной экстракции и фотометрическом определении синтетических пищевых красителей: дисс. на соискание ученой степени кандидата химических наук: 02.00.02 / Шестопалова Наталья Борисовна. – Саратов, 2014. – 203 с.

50. Sahraei, R. A nanosilver-based spectrophotometry method for sensitive determination of tartrazine in food samples / R. Sahraei, A. Farmany, S. S. Mortazavi // *Food Chem.* 2013. – Vol. 138. – pp. 1239–1242. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.029>.
51. Saleh, M. S. Oxidation and Complexation-Based Spectrophotometric Methods for Sensitive Determination of Tartrazine E102 in Some Commercial Food Samples / M. S. Saleh, E. Y. Hashem, N. O. A. Al-Salahi // *Comput. Chem.* – 2016. – Vol. 4. – pp. 51-64. DOI: 10.4236/cc.2016.42005.
52. Pourreza, N. Simultaneous cloud point extraction and spectrophotometric determination of carmoisine and brilliant blue FCF in food samples / N. Pourreza, M. Ghomi // *Talanta.* – 2011. – Vol. 84. – No 1. – pp. 240-243. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.12.043>.
53. Saad, A. Determination of tartrazine and sunset yellow in foodstuffs by derivative spectrophotometric method / A. Saad, S. Nazira, A. Rasha // *Asian J. Chem.* – 2011. – Vol. 23. – Vol. 4. – pp. 1825-1828.
54. Antakli, S. Simultaneous determination of Tartrazine and Carmoisine in Foodstuffs by Spectrophotometric method / S. Antakli, L. Nejem, W. A. Ahmad // *Int. J. Acad. Sci. Res.* - 2016. – Vol. 4. – No 4. – pp. 83-96.
55. Turak, F. Four Derivative Spectrophotometric Methods for the Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R in Drinks and Comparison with High Performance Liquid Chromatography / F. Turak, M. Dinç, Ö .Dülger, M. U. Özgür // *Int. J. Anal. Chem.* - 2014. - Vol. 2014. - pp. 1-11. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/650465>.
56. Llamas, N. E. Second order advantage in the determination of amaranth, sunset yellow FCF and tartrazine by UV–vis and multivariate curve resolution-alternating least squares / N. E. Llamas, M. Garrido, M. S. Di Nezio, B. S. Fernández Band // *Anal. Chim. Acta.* – 2009. – Vol. 655. – pp. 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.001>.

57. Ni, Y. Simultaneous kinetic spectrophotometric analysis of five synthetic food colorants with the aid of chemometrics / Y. Ni, Y. Wang, S. Kokot // *Talanta*. – 2009. – Vol. 78. – pp. 432–441. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.11.035>.
58. Kucharska, M. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes / M. Kucharska, J. Grabka // *Talanta*. – 2010. – Vol. 80. – pp. 1045–1051. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.032>.
59. Чибисова, М. В. Определение синтетических красителей в пищевых продуктах методами тонкослойной хроматографии, УФ- и ИК-спектроскопии / М. В. Чибисова, В. Г. Березкин // *Сорбц. и хроматогр. проц.* - 2011. - Т. 11. - Вып. 2. - С. 219-227.
60. Хальзова, С. А. Определение синтетических красителей методом ТСХ / С. А. Хальзова, А. Н. Зяблов, В. Ф. Селеменев // *Сорбц. и хроматогр. проц.* - 2014. - Т. 14. - Вып. 3. - С. 544-547.
61. Kong, C. Chitosan-based adsorption and freeze deproteinization: Improved extraction and purification of synthetic colorants from protein-rich food samples / C. Kong, E. Kouadio Fodjo, D. Li, Y. Cai, D. Huang, Y. Wang, X. Shen // *Food Chem.* – 2015. – Vol. 188. – pp. 240–247. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.115>.
62. Wu, H. Automated Magnetic Solid-Phase Extraction for Synthetic Food Colorant Determination / H. Wu, N. Gao, L. Zhang, Y. Li, Y. Shi, L. Du // *Food Anal. Methods*. – 2016. – Vol. 9. – pp. 614–623. DOI 10.1007/s12161-015-0219-2.
63. Mazdeh, F. Z. Determination of 8 synthetic food dyes by solid phase extraction and reversed-phase high performance liquid chromatography / F. Z. Mazdeh, A. R. Khorrami, Z. Moradi-Khatoonabadi, F. E. Aftabdari, M. R. Shams Ardekani, G. Moghaddam, M. Hajimahmoodi // *Trop. J. Pharm. Res.* – 2016. – Vol. 15. – No 1. – pp. 173-181. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v15i1.24>.
64. Zhang, Y. Simultaneous determination of seven synthetic colorants in wine by dispersive micro-solid-phase extraction coupled with reversed-phase high performance liquid chromatography / Y. Zhang, H. Zhou, Y. Wang, X. Wu,

- Y. Zhao // *J. Chromatogr. Sci.* – 2015. – Vol. 53. - pp. 210–218. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmu042>.
65. Pagáčiková, D. Determination of synthetic colors in meat products using high performance liquid chromatography with photodiode array detector / D. Pagáčiková, J. Lehotay // *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.* - 2015. – Vol. 38. - pp. 579–583. <http://dx.doi.org/10.1080/10826076.2014.922473>.
66. Zou, T. Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with photodiode array and tandem mass detectors / T. Zou, P. He, A. Yassen, Z. Li // *Food Chem.* - 2013. – Vol. 138. - pp. 1742–1748. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.084>.
67. Rovina, K. A Review of Extraction and Analytical Methods for the Determination of Tartrazine (E 102) in Foodstuffs / K. Rovina, S. Siddiquee, S. M. Shaarani // *Crit. Rev. Anal. Chem.* – 2017. - Vol. 47. - No 4. - pp. 309-324. <http://dx.doi.org/10.1080/10408347.2017.1287558>.
68. Pirok, B. J. Characterization of synthetic dyes by comprehensive two-dimensional liquid chromatography combining ion-exchange chromatography and fast ion-pair reversed-phase chromatography / B. J. Pirok, J. Knip, M. R. van Bommel, P. J. Schoenmakers // *J. Chromatogr. A.* – 2016. – Vol. 1436. – pp. 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.070>.
69. Luo, X. Novel molecularly imprinted polymer using 1-(α -methyl acrylate)-3-methylimidazolium bromide as functional monomer for simultaneous extraction and determination of water-soluble acid dyes in wastewater and soft drink by solid phase extraction and high performance liquid chromatography / X. Luo, Y. Zhan, X. Tu, Y. Huang, S. Luo, L. Yan // *J. Chromatogr. A.* – 2011. - Vol. 1218. – No 8. – pp. 1115-1121. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.12.081>.
70. Kuhn, R. Capillary electrophoresis: principles and practice / R. Kuhn, S. Hoffstetter-Kuhn. – Springer Science & Business Media, 2013. - 374p.
71. Pérez-Urquiza, M. Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis / M. Pérez-Urquiza, J. L. Beltrán // *J. Chromatogr. A.* – 2000. – Vol. 898. – No 2. – pp. 271-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00841-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00841-4).

72. Ryvolová, M. Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection / M. Ryvolová, P. Táborský, P. Vrábel, P. Krásenský, J. Preisler // *J. Chromatogr. A.* – 2007. – Vol. 1141. – No 2. – pp. 206-211. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.018>.
73. Fraige, K. Analytical Assessment of a Home Made Capillary Electrophoresis Equipment with Linear Charge Coupled Device for Visible Light Absorption Detection in the Determination of Food Dyes / K. Fraige, N. A. Assuncao, R. de Souza Pinto, E. Carrilho // *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.* – 2009. – Vol. 32. – No 13. – pp. 1862-1878. <http://dx.doi.org/10.1080/10826070903091571>.
74. Dossi, N. A capillary electrophoresis microsystem for the rapid in-channel amperometric detection of synthetic dyes in food / N. Dossi, R. Toniolo, A. Pizzariello, S. Susmel, F. Perennes, G. Bontempelli // *J. Electroanal. Chem.* – 2007. – Vol. 601. – No 1–2. – pp. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2006.10.019>.
75. Park, M. Highly sensitive wavelength-dependent nonaqueous capillary electrophoresis for simultaneous screening of various synthetic organic dyes / M. Park, S. H. Bahng, N. Woo, S. H. Kang // *Talanta.* - 2016. - Vol. 152. - pp. 236-243. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.02.009>.
76. 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 / F. J. Liu, C. T. Liu, W. Li, A. N. Tang // *Talanta.* – 2015. – Vol. 132. – pp. 366–372. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.09.014>.
77. Otles, S. *Handbook of food analysis instruments* / S. Otles. – CRC Press, Taylor and Francis group, 2016. - 532 p.
78. 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 / A. G. Fogg, K. S. Yoo // *Analyst.* – 1979. - Vol. 104. - pp. 723-729. DOI: 10.1039/AN9790400723.

79. Gómez, M. Adsorptive stripping voltammetric determination of Tartrazine and Sunset Yellow in Gelatins and Soft drink powder in the presence of Cetylpyridinium Bromide / M. Gómez, V. Arancibia, C. Rojas, E. Nagles // *Int. J. Electrochem. Sci.* – 2012. – Vol. 7. - 7493-7505.
80. Asadpour-Zeynali, K. Electrochemical modification of Glassy-Carbon electrode by bismuth-chitosan nanosheets for electrocatalytic reduction and determination of Tartrazine / K. Asadpour-Zeynali, M. Aleshi // *Portugal. Electrochim. Acta.* – 2014. – Vol. 32. – No 6. – pp. 369-379. DOI: 10.4152/pea.201406369.
81. Rodriguez, J. A. Determination of Allura Red and Tartrazine in Food Samples by Sequential Injection Analysis Combined with Voltammetric Detection at Antimony Film Electrode / J. A. Rodriguez, M. G. Juarez, C. A. Galan-Vidal, J. M. Miranda, E. Barrado // *Electroanalysis.* – 2015. – Vol. 27. – pp. 2329 – 2334. DOI: 10.1002/elan.201500295.
82. Scholz, F. *Electroanalytical methods* / F. Scholz. -Vol. 1. - Berlin-Heidelberg: Springer, 2010. - 347 p.
83. Липских, О. И. Определение кармуазина в безалкогольных напитках методом вольтамперометрии / О. И. Липских, Е. И. Короткова, Е. В. Дорожко, К. В. Дерина, О. А. Воронова // *Зав. лаб.* – 2016. – Т. 82. - № 6. - С. 22-26.
84. Lipskikh, O. I. Voltammetric determination of Tartrazine in food / O. I. Lipskikh, A. A. Nikolaeva, E. I. Korotkova // *J. Anal. Chem.* – 2017. - V. 72. - No 4. - pp. 396-401. DOI: 10.1134/S10 619348170 400 62.
85. Su, D. S. Nanocarbons for the Development of Advanced Catalysts / D. S. Su, S. Perathoner, G. Centi // *Chem. Rev.* – 2013. – Vol. 113. - pp. 5782–5816. DOI: 10.1021/cr300367d.
86. Yang, C. Recent trends in carbon nanomaterial-based electrochemical sensors for biomolecules: A review / C. Yang, M. E. Denno, P. Pyakurel, B. J. Venton // *Anal. Chim. Acta.* – 2015. – Vol. 887. – pp. 17-37. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.05.049>.
87. Song, Y. Z. Electrochemical Reduction of Tartrazine at Multi-Walled Carbon Nanotube-Modified Pyrolytic Graphite Electrode / Y. Z. Song, J. M. Xu, J. S. Lv,

- H. Zhong, Y. Ye, J. M. Xie // *Rus. J. Phys. Chem. A.* – 2012. - Vol. 86. - No 2. - pp. 303–310. DOI: 10.1134/S0036024412020306.
88. Sierra-Rosales, P. Electrochemical determination of food colorants in soft drinks using MWCNT-modified GCEs / P. Sierra-Rosales, C. Toledo-Neira, J. A. Squella // *Sens. Actuators B.* – 2017. – Vol. 240. – pp. 1257–1264. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.08.135>.
89. Ghoreishi, S. M. Simultaneous voltammetric determination of brilliant blue and Tartrazine in real samples at the surface of multi-walled carbon nanotube paste electrode / S. M. Ghoreishi, M. Behpour, M. Golestaneh // *Anal. Methods.* – 2011. – Vol. 3. – pp. 2842-2847. DOI: 10.1039/C1AY05327B.
90. Young, R. J. The mechanics of graphene nanocomposites: A review / R. J. Young, I. A. Kinloch, L. Gong, K. S. Novoselov // *Compos. Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 72. – pp. 1459–1476. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2012.05.005>.
91. Xu, K. Electrochemical double layer near polar reduced graphene oxide electrode: Insights from molecular dynamic study / K. Xu, J. Xiao, C. Chen, H. Wan, L. Miao, J. Jiang // *Electrochim. Acta.* – 2015. – Vol. 166. – pp. 142-149. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.03.101>.
92. Song, X. One-step solvent exfoliation of graphite to produce a highly-sensitive electrochemical sensor for Tartrazine / X. Song, Z. Shi, X. Tan, S. Zhang, G. Liu, K. Wu // *Sens. Actuators B.* – 2014. – Vol. 197. – pp. 104–108. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.02.064>.
93. Qiu, X. An enhanced electrochemical platform based on graphene oxide and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite for sensitive determination of Sunset Yellow and Tartrazine / X. Qiu, L. Lu, J. Leng, Y. Yu, W. Wang, M. Jiang, L. Bai // *Food Chem.* – 2016. – Vol. 190. – pp. 889–895. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.045>.
94. Yang, N. Nanocarbon Electrochemistry and Electroanalysis: Current Status and Future Perspectives / N. Yang, G. M. Swain, X. Jiang // *Electroanalysis.* – 2016. - Vol. 28. - No 1. - pp. 27-34. DOI: 10.1002/elan.201500577.

95. Campbell, F. W. The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review / F. W. Campbell, R. G. Compton // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2010. – Vol. 396. - pp. 241–259. DOI 10.1007/s00216-009-3063-7.
96. Arvand, M. Simultaneous Voltammetric Determination of Synthetic Colorants in Foods Using a Magnetic Core–Shell $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2/\text{MWCNTs}$ Nanocomposite Modified Carbon Paste Electrode / M. Arvand, Y. Parhizi, S. H. Mirfathi // *Food Anal. Methods.* – 2016. – Vol. 9. – pp. 863–875. DOI 10.1007/s12161-015-0253-0.
97. Gan, T. Electrochemical sensor based on graphene and mesoporous TiO_2 for the simultaneous determination of trace colourants in food / T. Gan, J. Sun, W. Meng, L. Song, Y. Zhang // *Food Chem.* – 2013. – Vol. 141. – pp. 3731–3737. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.084>.
98. Gan, T. Graphene decorated with nickel nanoparticles as a sensitive substrate for simultaneous determination of Synset Yellow and Tartrazine in food samples / T. Gan, J. Sun, Q. Wu, Q. Jing, S. Yu // *Electroanalysis.* – 2013. – Vol. 25. - No 6. – pp. 1505 – 1512. DOI: 10.1002/elan.201300008.
99. Olivier-Bourbigou, H. Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications / H. Olivier-Bourbigou, L. Magna, D. Morvan // *Appl. Catal. A: General.* – 2010. – Vol. 373. – pp. 1–56. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2009.10.008>.
100. Opallo, M. A review on electrodes modified with ionic liquids / M. Opallo, A. Lesniewski // *J. Electroanal. Chem.* – 2011. – Vol. 656. – pp. 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.01.008>.
101. Majidi, M. R. Formation of graphene nanoplatelet-like structures on carbon–ceramic electrode surface: application for simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine in some food samples / M. R. Majidi, M. H. Pournaghi-Azar, R. F. Bajeh Baj, A. Naseri // *Ionics.* – 2015. – Vol. 21. – pp. 863–875. DOI 10.1007/s11581-014-1223-z.
102. Wang, W. Electrochemical Determination of Brilliant Blue and Tartrazine Based on an Ionic Liquid-Modified Expanded Graphite Paste Electrode / W. Wang,

- Y. Chen, J. Zhang, X. Wang, Z. Chen // *J. AOAC Int.* – 2015. - Vol. 98. - No 3. – pp. 817-821. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.14-232>.
103. Wang, M. A Facile Method Used for Simultaneous Determination of Ponceau 4R, Allura Red and Tartrazine in Alcoholic Beverages / M. Wang, J. Zhao // *J. Electrochem. Soc.* – 2015. – Vol. 162. – No 6. - pp. 321-327. doi: 10.1149/2.0111506jes.
104. Wang, M. Development of a facile sensor for the determination of Brilliant Blue FCF in beverages / M. Wang, M. Yang, Q. Sun, Y. Gao, J. Zhao // *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* - 2015. - Vol. 95. - No 11. – pp. 969–979. <http://dx.doi.org/10.1080/03067319.2015.1077521>.
105. Sellergren, B. Molecularly imprinted polymers. Supramolecular chemistry: from molecules to nanomaterials / B. Sellergren, A. J. Hall. - John Wiley & Sons, Ltd. Hoboken, 2012. - 354 p. DOI: 10.1002/9780470661345.smc137.
106. Jiang, S. A Novel Molecularly Imprinted Sensor for Direct Tartrazine Detection / S. Jiang, J. Xu, P. Xu, L. Liu, Y. Chen, C. Qiao, S. Yang, Z. Sha, J. Zhang // *Anal. Lett.* – 2014. – Vol. 47. – pp. 323–330. <http://dx.doi.org/10.1080/00032719.2013.834442>.
107. Wang, M. Sensitively Simultaneous Determination of Sunset Yellow and Tartrazine in Foods Based on Polypyrrole Modified Oxidized Single-Walled Carbon Nanotubes / M. Wang, Y. Gao, Q. Sun, J. Zhao // *J. Electrochem. Soc.* – 2014. – Vol. 161. – No 14. – pp. 297-304. doi: 10.1149/2.0081414jes.
108. Zhao, L. Electrochemical determination of tartrazine using a molecularly imprinted polymer – multiwalled carbon nanotubes - ionic liquid supported Pt nanoparticles composite film coated electrode / L. Zhao, B. Zeng, F. Zhao // *Electrochim. Acta.* – 2014. – Vol. 146. – pp. 611–617. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.08.108>.
109. Chanlon, S. Determination of Carmoisine, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by Differential Pulse Polarography / S. Chanlon, L. Joly-Pottuz, M. Chatelut, O. Vittori, J. L. Cretier // *J. Food Comp. Anal.* – 2005. – Vol. 18. – pp. 503–515. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.05.005>.

110. Florian, M. Determination of Brilliant blue FCF in the presence and absence of erythrosine and quinolone yellow food colours by cathodic stripping voltammetry / M. Florian, H. Yamanaka, P. A. Carneiro, M. V. Boldrin Zanoni // *Food Addit. Contam.* – 2002. – Vol. 19. – No. 9. – pp. 803-809. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030210146855>.
111. Medeiros, R. A. Simultaneous voltammetric determination of synthetic colorants in food using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode / R. A. Medeiros, B. C. Lourencao, R. C. Rocha-Filho, O. Fatibello-Filho // *Talanta.* – 2012. – Vol. 97. – pp. 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.033>.
112. Zhang, J. An Electrochemical Sensor for Simultaneous Determination of Ponceau 4R and Tartrazine Based on an Ionic Liquid Modified Expanded Graphite Paste Electrode / J. Zhang, X. Wang, S. Zhang, W. Wang, M. Hojo, Z. Chen // *J. Electrochem. Soc.* – 2014. – Vol. 161. – No 9. – pp. 453-457. doi: 10.1149/2.0271409jes.
113. Yang, Y. J. CTAB functionalized graphene oxide/multiwalled carbon nanotube composite modified electrode for the simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine / Y. J. Yang, W. Li // *Rus. J. Electrochem.* – 2015. - Vol. 51. - No 3. - pp. 218–226. DOI: 10.1134/S1023193515030118.
114. Yu, L. A Novel Electrochemical Sensor Based on Poly (Diallyldimethylammonium Chloride)-Dispersed Graphene Supported Palladium Nanoparticles for Simultaneous Determination of Sunset Yellow and Tartrazine in Soft Drinks / L. Yu, H. Zheng, M. Shi, S. Jing, L. Qu // *Food Anal. Methods.* – 2017. – Vol. 10. – pp. 200-209. DOI 10.1007/s12161-016-0569-4.
115. Wang, J. *Analytical electrochemistry* / J. Wang. - 3^d edition. - John Wiley & Sons, Hoboken, 2006. - 272p.
116. Liu, H. Ionic liquids in surface electrochemistry / H. Liu, Y. Liu, J. Li // *Phys. Chem. Chem. Phys.* - 2010. – Vol. 12. - pp. 1685–1697. DOI: 10.1039/B921469K.
117. Yáñez-Sedeño, P. Electrochemical sensors based on magnetic molecularly imprinted polymers: A review / P. Yáñez-Sedeño, S. Campuzano, J. M. Pingarrón

- // *Anal. Chim. Acta.* – 2017. – Vol. 960. – pp. 1-17.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.003>.
118. Yang, N. *Nanocarbon Electrochemistry and Electroanalysis: Current Status and Future Perspectives* / N. Yang, G. M. Swain, X. Jiang // *Electroanalysis.* – 2016. – Vol. 28. – pp. 27 – 34. DOI: 10.1002/elan.201500577.
119. Dinesh, B. Water based homogenous carbon ink modified electrode as an efficient sensor system for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid / B. Dinesh, R. Saraswathi, A. S. Kumar // *Electrochim. Acta.* – 2017. – Vol. 233. – pp. 92–104. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.02.139>.
120. Khaskheli, A. R. Differential pulse voltammetric determination of paracetamol in tablet and urine samples at a micro-crystalline natural graphite–polystyrene composite film modified electrode / A. R. Khaskheli Fischer, J. Barek, V. Vyskočil, M. I. Bhangar // *Electrochim. Acta.* – 2013. – Vol. 101. – pp. 238-242. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.09.102>.
121. Носкова, Г. Н. Твердые углеродсодержащие композитные электроды для определения элементов вольтамперометрическими методами: автореф. дисс. на соискание ученой степени доктора химических наук: 02.00.02 / Носкова Галина Николаевна. – Томск, 2012. - 43с.
122. Silva, L. P. A new sensor architecture based on carbon Printex 6L to the electrochemical determination of ranitidine / L. P. Silva, F. C. Vicentini, B. C. Lourencao, G. G. Oliveira, M. R. V. Lanza, O. Fatibello-Filho // *J Solid State Electrochem.* – 2016. – Vol. 20. – pp. 2395–2402. DOI 10.1007/s10008-016-3143-5.
123. Feng, J. Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota / J. Feng, C. E. Cerniglia, H. Chen // *Front. Biosci.* – 2012. – Vol. 4. – pp. 568-586. DOI: 10.2741/400
124. Beatriz, M. Synthetic colorants. *Handbook of Food Analysis* / M. Beatriz, A. Glória, C. Fernandes. - 3rd Edition-Two Volume Set. – CRC Press, 2015. – pp. 105-132.

125. Hernández-Hernández, K. A. Removal of Brilliant Blue FCF from Aqueous Solutions Using an Unmodified and Iron-Modified Bentonite and the Thermodynamic Parameters of the Process / K. A. Hernández-Hernández, M. Solache-Ríos, M. C. Díaz-Nava // *Water Air Soil Pollut.* – 2013. – Vol. 224. – p. 1562. DOI 10.1007/s11270-013-1562-9.
126. Chen, S. M. Thangamuthu R. Electrochemical Preparation of Brilliant-Blue-Modified Poly(diallyldimethylammonium Chloride) and Nafion-Coated Glassy Carbon Electrodes and Their Electrocatalytic Behavior Towards Oxygen and L-Cysteine / S. M. Chen, J. Y. Chen // *Electroanalysis.* – 2008. – Vol. 20. - No 14. – pp. 1565 – 1573. DOI: 10.1002/elan.200804213.
127. Nicholson, R. S. Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems / R. S. Nicholson, I. Shain // *Anal. Chem.* - 1964. - Vol. 36. – No 4. - p. 706. DOI: 10.1021/ac60210a007.
128. Compton, R. Understanding voltammetry / R. Compton, C. Banks. - London: Imperial college press, 2011. - 429 p.
129. Шольц, Ф. Электроаналитические методы / Ф. Шольц. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2006. - 328 с.
130. Колпакова, Н. А. Моделирование кинетики электрохимических реакций: Учеб пособие / Н. А. Колпакова. - ТПУ. Томск, 2010. - 202с.
131. Sadler, J. L. Electrochemical reduction of aromatic azo compounds / J. L. Sadler, A. J. Bard // *J. Am. Chem. Soc.* – 1968. - Vol. 90. - No 8. - pp. 1979-1989. DOI: 10.1021/ja01010a010.
132. Xu, G. Surface reduction study of monoazodyes by Adsorptive Square Wave Voltammetry / G. Xu, J. J. O’Dea, J. G. Osteryoung // *Dyes Pigments.* – 1996. - Vol. 30. - No 3. - pp. 201-223. [https://doi.org/10.1016/0143-7208\(95\)00074-7](https://doi.org/10.1016/0143-7208(95)00074-7).
133. Hart, J. P. Polarographic behavior and analysis of some azo dyes of biological significance/ J. P. Hart // *Analyst.* – 1980. - Vol. 105. - pp. 929-938. DOI: 10.1039/AN9800500929.

134. Florence, T. M. Polarography of aromatic azo compounds / T. M. Florence // Aust. J. Chem. – 1965. – Vol. 18. – pp. 609-618. <https://doi.org/10.1071/CH9650609>.
135. Bamford, C. H. Electrode kinetics: Principles and methodology / C. H. Bamford, R. G. Compton. – Elsevier, 1986. – V. 26. - 449p.
136. Гейровский, Я. Основы полярографии/ Я. Гейровский, Я.Кута. – М.: Мир, 1965. – 560 с.
137. Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года: распоряжение Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 г. № 1364-р.
138. Wang, J. Highly sensitive electrochemical determination of Sunset Yellow based on gold nanoparticles/graphene electrode / J. Wang, B. Yang, H. Wang, P. Yang, Y. Du // Anal. Chim. Acta. - 2015. - Vol. 893. - pp. 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.08.042>.
139. Djagny, K. B. Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries / K. B. Djagny, Z. Wang, S. Xu // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2001. – Vol. 41. – No 6. – pp. 481-492. <http://dx.doi.org/10.1080/20014091091904>.
140. ГОСТ 6442-2014 Мармелад. Общие технические условия. - М.: Стандартинформ, 2015. - 12с.

Оценка показателей прецизионности (повторяемости и воспроизводимости) методики анализа

1. Оценка показателя повторяемости

Проводят следующие расчеты для определения показателя повторяемости. Для каждой серии рассчитывается среднее арифметическое результатов единичного анализа:

$$X_l = \frac{\sum X_{l,N}}{N}, \text{ где } N - \text{ число параллельных определений.}$$

Затем рассчитывается выборочная дисперсия для каждой строки (серии):

$$S_l^2 = \frac{\sum (X_{l,n} - X_l)^2}{N - 1}$$

По критерию Кохрена проверяют, можно ли пренебречь разбросом между сериями. Для всех дисперсий выбирается наибольшее значение S_{max}^2 , находят сумму всех дисперсий $\sum S_l^2$.

Находят расчетные значения критерия Кохрена:

$$G_{\text{расч}} = \frac{S_{max}^2}{\sum S_l^2}$$

Сравнивают расчетное значение с табличным значением критерия Кохрена для числа степеней свободы $v=N-1$ и $f=1$ (1 - количество дисперсий, участвующих в расчетах) для $P=0,95$. Если $G_{\text{расч}} > G_{\text{табл}}$, то соответствующее значение S_{max}^2 исключают из дальнейших расчетов и процедуру повторяют до следующего по значению S_{max}^2 и т.д. до тех пор, пока $G_{\text{расч}}$ не станет меньше или равно $G_{\text{табл}}$. Неисключенные из расчетов S_l^2 считают однородными и по ним оценивают средние квадратические отклонения (СКО), по которым можно установить одно значение показателя повторяемости для результатов, полученных по методике в конкретной лаборатории:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum S_l^2}{L'}}$$

где L' - количество серий, которое осталось после проверки серий на однородность. Это значение СКО повторяемости $\sigma^*_{\Gamma} = S_{\Gamma}$ есть первая, полученная в лаборатории характеристика.

2. Оценка показателя внутрилабораторной прецизионности

Проводят расчет для оценивания второй характеристики, то есть для показателя внутрилабораторной прецизионности. Для этого рассчитывают общее среднее арифметическое значение по сериям:

$$X = \frac{\sum X_l}{L'}$$

Рассчитывают СКО в условиях промежуточной прецизионности:

$$S_{Rл} = \sqrt{\frac{\sum (X_{l,n} - X_l)^2}{L' - 1}}$$

$\sigma^*_{R} = S_{Rл}$ есть значение показателя промежуточной прецизионности результатов, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности.

3. Оценка систематической погрешности методики

Проводят оценивание систематической погрешности лаборатории при реализации методики.

Для этого рассчитывают Θ - разность общего среднего значения в лаборатории и аттестованного значения образца (аттестованный раствор).

$$\Theta = X - C$$

Далее проверяют его значимость по критерию Стьюдента. Для этого рассчитывают $t_{\text{расч}}$ и сравнивают t табл.

$$t_{\text{расч}} = \frac{|\Theta|}{\sqrt{\frac{S_{Rл}^2}{L'} + \frac{\Lambda_0^2}{3}}}$$

$\frac{S_{Rл}^2}{L'}$ - дисперсия общего среднего результата

Λ_0 - погрешность аттестованного значения раствора

Полученное значение трасч сравнивают с $t_{\text{табл}}$ при числе степеней свободы $f=L'-1$ для доверительной вероятности $P=0,95$.

Если $t_{\text{расч.}} < t_{\text{табл.}}$ значит систематическая погрешность Θ не значима на фоне случайного разброса, и в этом случае ее принимают равной нулю и оценку систематической погрешности проводят по формуле:

$$\Delta_{\text{в,с}}^* = \Delta_{\text{н,с}}^* = |\Delta_{\text{с}}^*| = 1,96 \cdot \sqrt{\frac{S_{\text{РЛ}}^2}{L'} + \frac{\Lambda_0^2}{3}} = 1,96 \cdot \sigma_{\text{с}}^*$$

Где $\sigma_{\text{с}}^*$ - среднеквадратичное отклонение не исключенной систематической погрешности лаборатории.

Если $t_{\text{расч.}} > t_{\text{табл.}}$, то оценка систематической погрешности значима на фоне случайного разброса и ее надо учитывать при дальнейших расчетах:

$$\Delta_{\text{с(в,н)}}^* = \Theta \pm 1,96 \cdot \sqrt{\frac{S_{\text{РЛ}}^2}{L'} + \frac{\Lambda_0^2}{3}} = \Theta \pm 1,96 \cdot \sigma_{\text{с}}^*$$

Рассчитав верхнюю и нижнюю границы систематической погрешности, выбирают максимальное по модулю значение $|\Delta_{\text{max}}^*| = |\Delta_{\text{с,н}}^*, \Delta_{\text{с,в}}^*| = \Delta_{\text{с}}^*$ и тогда можно записать:

$$\pm \Delta_{\text{с}}^* = \Theta + 1,96 \cdot \sigma_{\text{с}}^*$$

4. Оценка характеристики погрешности

Вычисляют последнюю величину, которая характеризует погрешность. Рассчитывают границы, в которых погрешность любого из совокупности результатов измерений, полученных при реализации методики, находится с принятой $P=0,95$. Дисперсия погрешности формируется за счет дисперсий случайной и систематической погрешности.

Характеристику погрешности рассчитывают по формуле

$$\Delta_{\text{в}}^* = \Delta_{\text{н}}^* = |\Delta^*| = \Theta + 1,96 \cdot \sqrt{(\sigma_{\text{РЛ}}^*)^2 + (\sigma_{\text{с}}^*)^2}$$

Оценка метрологических показателей вольтамперметрической методики показана на примере определения Тартразина в присутствии 1 мг/дм³ СБ. Для расчета была выбрана прямолинейная область градуировочного графика (Рис. 1).

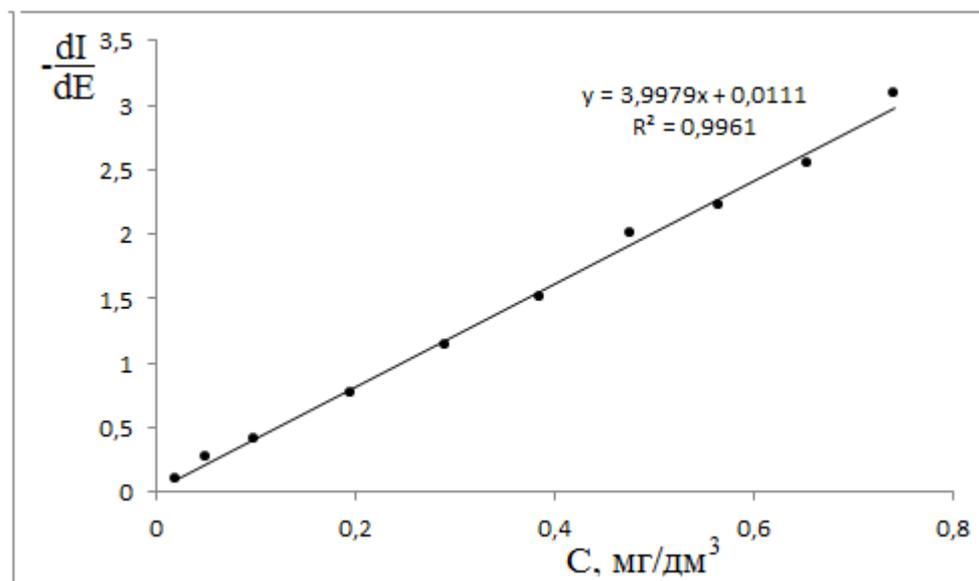


Рис. 1 – График зависимости высоты тока электровосстановления Тартразина от его концентрации в электрохимической ячейке в присутствии 1 мг/дм³ СБ.

1. Содержание Тартразина 0,02 мг/дм³

Повторяемость:

С станд. р-ра Тартразина, мг/дм ³	Погрешность станд. р-ра Δm, мг/дм ³	Номер серии, l=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S ²
			1	2		
0,02	0,00088	1	0,021	0,023	0,022	0,000002
		2	0,022	0,024	0,023	0,000002
		3	0,02	0,025	0,0225	0,0000125
		4	0,021	0,025	0,023	0,000008
		5	0,019	0,023	0,021	0,000008
		6	0,022	0,023	0,0225	5E-07
		7	0,02	0,021	0,0205	5E-07
		8	0,022	0,022	0,022	0
		9	0,023	0,024	0,0235	5E-07
		10	0,018	0,023	0,0205	0,0000125
		11	0,02	0,022	0,021	0,000002
		12	0,024	0,021	0,0225	0,0000045
		13	0,02	0,023	0,0215	0,0000045
		14	0,021	0,024	0,0225	0,0000045
		15	0,019	0,022	0,0205	0,0000045

S^2_{\max}	$\sum S^2$	Грасч	Гтабл	СКО повторяемости $\sigma_r^* = S_r$
0,0000125	0,0000665	0,0188	0,471	0,0021

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,0219
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}^* = S_{Rл}$	0,0022

Оценивание систематической погрешности:

Θ^*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{\text{расч.}}$	$t_{\text{табл.}}$
0,0019	2,511	2,093

Т.к. $t_{\text{расч.}} > t_{\text{табл.}}$, значит систематическая погрешность Θ^* значима на фоне случайного разброса и её нужно учитывать в дальнейших расчетах.

Рассчитываем верхнюю и нижнюю границы, в которых находится неисключенная систематическая погрешность и выбираем максимальное по модулю значение:

$\Delta c(\text{н}) = \Theta - 1,96 \cdot \sigma c$	$\Delta c(\text{в}) = \Theta + 1,96 \cdot \sigma c$	$\pm \Delta^* c$
0,000416894	0,003383106	0,003383106

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta_{\text{в}}^* = \Delta_{\text{н}}^* = \Delta^* = 0,0064$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием Тартразина $0,02 \text{ мг/дм}^3$ по 30 результатам анализов:

σ_r^* , мг/дм ³	σ_r^* , %	$\sigma_{Rл}^*$, мг/дм ³	$\sigma_{Rл}^*$, %	$\pm \Delta^* c$, мг/дм ³	$\pm \Delta^* c$, %	$\pm \Delta^*$, мг/дм ³	$\pm \Delta^*$, %
0,0021	9	0,0022	10	0,0034	17	0,0064	32

2. Содержание Тартразина 0,1 мг/дм³

Повторяемость:

С станд. р-ра Тартразина, мг/дм ³	Погрешность станд. р-ра Δm , мг/дм ³	Номер серии, $l=15$	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2
			1	2		
0,1	0,0044	1	0,11	0,14	0,125	0,00045
		2	0,13	0,132	0,131	0,000002
		3	0,096	0,102	0,099	1,8E-05
		4	0,095	0,1	0,0975	0,0000125
		5	0,106	0,099	0,1025	2,45E-05
		6	0,101	0,096	0,0985	0,0000125
		7	0,116	0,105	0,1105	6,05E-05
		8	0,089	0,108	0,0985	0,0001805
		9	0,092	0,092	0,092	0
		10	0,123	0,111	0,117	0,000072
		11	0,134	0,124	0,129	5E-05
		12	0,12	0,106	0,113	0,000098
		13	0,1	0,112	0,106	0,000072
		14	0,096	0,095	0,0955	5E-07
		15	0,104	0,097	0,1005	2,45E-05

S^2_{max}	$\sum S^2$	Грасч	Гтабл	СКО повторяемости $\sigma_r^* = S_r$
0,00045	0,0011	0,417	0,471	0,0085

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,108
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{R,l}^* = S_{R,l}$	0,0088

Оценивание систематической погрешности:

Θ^*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч.}$	$t_{табл.}$
0,0019	2,268	2,093

Т.к. $t_{расч.} > t_{табл.}$, значит систематическая погрешность Θ^* значима на фоне случайного разброса и её нужно учитывать в дальнейших расчетах.

Рассчитываем верхнюю и нижнюю границы, в которых находится неисключенная систематическая погрешность и выбираем максимальное по модулю значение:

$\Delta c(n) = 0 - 1,96 * \sigma c$	$\Delta c(v) = 0 + 1,96 * \sigma c$	$\pm \Delta * c$
0,001045041	0,014354959	0,014354959

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta v^* = \Delta n^* = \Delta^* = 0,026$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием Тартразина 0,02 мг/дм³ по 30 результатам анализов:

σ_r^* , мг/дм ³	σ_r^* , %	$\sigma_{RЛ}^*$, мг/дм ³	$\sigma_{RЛ}^*$, %	$\pm \Delta^* c$, мг/дм ³	$\pm \Delta^* c$, %	$\pm \Delta^*$, мг/дм ³	$\pm \Delta^*$, %
0,0085	8	0,0088	8	0,014	14	0,026	26

3. Содержание Тартразина 0,29 мг/дм³

Повторяемость:

С станд. р-ра Тартразина, мг/дм ³	Погрешность станд. р-ра Δm , мг/дм ³	Номер серии, l=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S ²
			1	2		
0,29	0,013	1	0,302	0,316	0,309	9,8E-05
		2	0,298	0,312	0,305	9,8E-05
		3	0,328	0,334	0,331	0,000018
		4	0,322	0,296	0,309	0,000338
		5	0,311	0,303	0,307	3,2E-05
		6	0,302	0,318	0,31	0,000128
		7	0,314	0,31	0,312	8E-06
		8	0,316	0,286	0,301	0,00045
		9	0,297	0,301	0,299	8E-06
		10	0,314	0,325	0,3195	6,05E-05
		11	0,295	0,291	0,293	8E-06
		12	0,322	0,286	0,304	0,000648
		13	0,316	0,326	0,321	5E-05
		14	0,28	0,32	0,3	0,0008
		15	0,31	0,32	0,315	5E-05

S^2_{\max}	$\sum S^2$	Г _{расч}	Г _{табл}	СКО повторяемости $\sigma_r^* = S_r$
0,0008	0,0028	0,286	0,471	0,014

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,31
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{RЛ}^* = S_{RЛ}$	0,015

Оценивание систематической погрешности:

Θ^*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{\text{расч.}}$	$t_{\text{табл.}}$
0,0019	2,32	2,093

Т.к. $t_{\text{расч.}} > t_{\text{табл.}}$, значит систематическая погрешность Θ^* значима на фоне случайного разброса и её нужно учитывать в дальнейших расчетах.

Рассчитываем верхнюю и нижнюю границы, в которых находится неисключенная систематическая погрешность и выбираем максимальное по модулю значение:

$\Delta c(n) = \Theta - 1,96 * \sigma c$	$\Delta c(v) = \Theta + 1,96 * \sigma c$	$\pm \Delta^* c$
0,0029	0,035	0,035

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta v^* = \Delta n^* = \Delta^* = 0,051$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием Тартразина 0,02 мг/дм³ по 30 результатам анализов:

σ_r^* , мг/дм ³	σ_r^* , %	$\sigma_{RЛ}^*$, мг/дм ³	$\sigma_{RЛ}^*$, %	$\pm \Delta^* c$, мг/дм ³	$\pm \Delta^* c$, %	$\pm \Delta^*$, мг/дм ³	$\pm \Delta^*$, %
0,014	4	0,015	5	0,035	12	0,051	18

4. Содержание Тартразина 0,48 мг/дм³

Повторяемость:

С станд. р-ра Тартразина, мг/дм ³	Погрешность в станд. р-ра Δm , мг/дм ³	Номер серии, $l=15$	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2
			1	2		
0,48	0,021	1	0,521	0,506	0,5135	0,0001125
		2	0,495	0,522	0,5085	0,0003645
		3	0,489	0,494	0,4915	0,0000125
		4	0,514	0,518	0,516	8E-06
		5	0,513	0,486	0,4995	0,0003645
		6	0,496	0,534	0,515	0,000722
		7	0,521	0,526	0,5235	0,0000125
		8	0,519	0,52	0,5195	5E-07
		9	0,487	0,497	0,492	5E-05
		10	0,467	0,524	0,4955	0,0016245
		11	0,523	0,511	0,517	7,2E-05
		12	0,508	0,493	0,5005	0,0001125
		13	0,511	0,545	0,528	0,000578
		14	0,465	0,538	0,5015	0,0026645
		15	0,516	0,492	0,504	0,000288

S^2_{max}	$\sum S^2$	Грасч	Гтабл	СКО повторяемости $\sigma_r^*=S_r$
0,0027	0,0069	0,381	0,471	0,021

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,508
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}^*=S_{Rл}$	0,022

Оценивание систематической погрешности:

Θ^*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч.}$	$t_{табл.}$
0,028	2,11	2,093

Т.к. $t_{расч.} > t_{табл.}$, значит систематическая погрешность Θ^* значима на фоне случайного разброса и её нужно учитывать в дальнейших расчетах.

Рассчитываем верхнюю и нижнюю границы, в которых находится неисключенная систематическая погрешность и выбираем максимальное по модулю значение:

$\Delta c(n) = 0 - 1,96 * \sigma c$	$\Delta c(v) = 0 + 1,96 * \sigma c$	$\pm \Delta * c$
0,002	0,055	0,055

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta v^* = \Delta n^* = \Delta^* = 0,079$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием Тартразина 0,02 мг/дм³ по 30 результатам анализов:

σ_r^* , мг/дм ³	σ_r^* , %	$\sigma_{R.L}^*$, мг/дм ³	$\sigma_{R.L}^*$, %	$\pm \Delta^* c$, мг/дм ³	$\pm \Delta^* c$, %	$\pm \Delta^*$, мг/дм ³	$\pm \Delta^*$, %
0,021	4	0,022	4	0,055	11	0,079	15

5. Содержание Тартразина 0,65 мг/дм³

Повторяемость:

С станд. р-ра Тартразина, мг/дм ³	Погрешность станд. р-ра Δm , мг/дм ³	Номер серии, l=15	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2
			1	2		
0,65	0,028	1	0,656	0,654	0,655	0,000002
		2	0,658	0,638	0,648	0,0002
		3	0,627	0,692	0,6595	0,0021125
		4	0,673	0,679	0,676	0,000018
		5	0,74	0,64	0,69	0,005
		6	0,672	0,654	0,663	0,000162
		7	0,658	0,662	0,66	8E-06
		8	0,612	0,647	0,6295	0,0006125
		9	0,68	0,63	0,655	0,00125
		10	0,682	0,654	0,668	0,000392
		11	0,619	0,603	0,611	0,000128
		12	0,641	0,675	0,658	0,000578
		13	0,689	0,638	0,6635	0,0013005
		14	0,664	0,653	0,6585	6,05E-05
		15	0,621	0,613	0,617	3,2E-05

S^2_{\max}	$\sum S^2$	Грасч	Гтабл	СКО повторяемости $\sigma_r^* = S_r$
0,005	0,012	0,422	0,471	0,028

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,654
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rл}^* = S_{Rл}$	0,029

Оценивание систематической погрешности:

Θ^*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{\text{расч.}}$	$t_{\text{табл.}}$
0,004	0,229	2,093

Т.к. $t_{\text{расч.}} < t_{\text{табл.}}$, значит систематическая погрешность Θ^* незначима на фоне случайного разброса и её можно принять равной нулю.

Границы, в которых с принятой вероятностью 0,95 находится неисключенная погрешность лаборатории:

$\pm \Delta^* c$
0,035

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta_{В}^* = \Delta_{Н}^* = \Delta^* = 0,067$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием Тартразина 0,02 мг/дм³ по 30 результатам анализов:

σ_r^* , мг/дм ³	σ_r^* , %	$\sigma_{Rл}^*$, мг/дм ³	$\sigma_{Rл}^*$, %	$\pm \Delta^* c$, мг/дм ³	$\pm \Delta^* c$, %	$\pm \Delta^*$, мг/дм ³	$\pm \Delta^*$, %
0,028	4	0,029	4	0,035	5	0,067	10

6. Содержание Тартразина 0,74 мг/дм³

Повторяемость:

С станд. р-ра Тартразина, мг/дм ³	Погрешность станд. р-ра Δm , мг/дм ³	Номер серии, $l=15$	Результаты параллельного определения		Результат измерения (среднее арифметическое)	Выборочная дисперсия результатов параллельных определений, S^2
			1	2		
0,74	0,032	1	0,746	0,768	0,757	0,000242
		2	0,753	0,744	0,7485	4,05E-05
		3	0,739	0,722	0,7305	0,0001445
		4	0,754	0,765	0,7595	6,05E-05
		5	0,713	0,69	0,7015	0,0002645
		6	0,81	0,71	0,76	0,005
		7	0,782	0,82	0,801	0,000722
		8	0,776	0,841	0,8085	0,0021125
		9	0,754	0,758	0,756	8E-06
		10	0,78	0,84	0,81	0,0018
		11	0,717	0,72	0,7185	4,5E-06
		12	0,81	0,86	0,835	0,00125
		13	0,751	0,731	0,741	0,0002
		14	0,739	0,743	0,741	8E-06
		15	0,68	0,707	0,6935	0,0003645

S^2_{max}	$\sum S^2$	Грасч	Гтабл	СКО повторяемости $\sigma_r^*=S_r$
0,005	0,012	0,404	0,471	0,029

Внутрилабораторная прецизионность:

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	0,759
СКО в условиях промежуточной прецизионности $\sigma_{Rl}^*=S_{Rl}$	0,030

Оценивание систематической погрешности:

Θ^*	Значимость по критерию Стьюдента	
	$t_{расч.}$	$t_{табл.}$
0,019	0,944	2,093

Т.к. $t_{расч.} < t_{табл.}$, значит систематическая погрешность Θ^* незначима на фоне случайного разброса и её можно принять равной нулю.

Границы, в которых с принятой вероятностью 0,95 находится неисключенная погрешность лаборатории:

$\pm\Delta^*c$
0,039

Рассчитываем характеристику погрешности как сумму дисперсий случайной и систематической погрешностей:

$$\Delta_{B}^* = \Delta_{H}^* = \Delta^* = 0,070$$

Обобщаем результаты, полученные в лаборатории для диапазона концентраций с содержанием Тартразина 0,02 мг/дм³ по 30 результатам анализов:

σ_r^* , мг/дм ³	σ_r^* , %	$\sigma_{R_L}^*$, мг/дм ³	$\sigma_{R_L}^*$, %	$\pm\Delta^*c$, мг/дм ³	$\pm\Delta^*c$, %	$\pm\Delta^*$, мг/дм ³	$\pm\Delta^*$, %
0,029	3	0,030	4	0,039	5	0,070	9

Обобщаем полученные данные для всего диапазона концентраций:

C , мг/дм ³	σ_r^* , %	$\sigma_{R_L}^*$, %	$\pm\Delta^*c$, %	$\pm\Delta^*$, %
0,02	9	10	17	32
0,1	8	8	14	26
0,29	4	5	12	18
0,48	4	4	11	15
0,65	4	4	5	10
0,74	3	4	5	9

Из данных таблицы можно сделать вывод, что при определении Тартразина в присутствии 2 мг/дм³ СБ вольтамперометрическим методом показатель точности не превышает 32%, показатели повторяемости и воспроизводимости 9 и 10 %, соответственно.

При рассмотрении численных значений качественных показателей методики можно заметить, что идет возрастание значений показателя повторяемости (σ_r^*), воспроизводимости ($\sigma_{R_L}^*$), точности результатов измерения ($\pm\Delta^*c$) при возрастании концентрации Тартразина в ячейке (Таблица 2).

C , мг/дм ³	σ_r^* , мг/дм ³	$\sigma_{R_L}^*$, мг/дм ³	$\pm\Delta^*c$, мг/дм ³	$\pm\Delta^*$, мг/дм ³
0,02	0,0021	0,0022	0,0034	0,0064
0,1	0,0085	0,0088	0,014	0,026
0,29	0,014	0,015	0,035	0,051

0,48	0,021	0,022	0,055	0,079
0,65	0,028	0,029	0,035	0,067
0,74	0,029	0,030	0,039	0,070

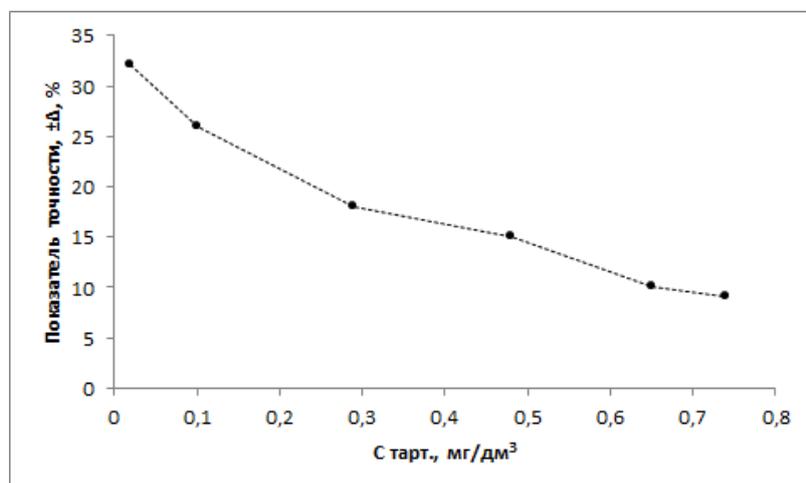


Рис. 7.2 – Изменение показателя точности вольтамперометрической методики определения Тартразина в зависимости от концентрации в присутствии 1 мг/дм³ СБ.

Изменение качественных характеристик МВИ не носит линейный характер, в таком случае интервал оценки, разбиваем на диапазоны и каждому диапазону приписываем количественные характеристики (табл.).

Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении Тартразина в присутствии 1 мг/дм³ СБ ($p = 0.95$, $n = 2$, $l = 15$)

Диапазон измерений, мг/дм ³	Показатели прецизионности (относительные значения)		Показатель точности (границы относительной погрешности при $P = 0.95$), ±Δ, %
	Показатель повторяемости, σ_r^* , %	Показатель воспроизводимости σ_{RL}^* , %	
0,02-0,29	9	10	32
0,29-0,65	4	5	18
0,65-0,74	4	4	10

По приведенному выше алгоритму были рассчитаны метрологические характеристики методики для определения СБ в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина. В таблице представлены обобщенные относительные характеристики для нескольких диапазонов определяемых концентраций.

Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении СБ в присутствии 30 мг/дм³ Тартразина ($p = 0.95$, $n = 2$, $l = 15$)

Диапазон измерений, мг/дм ³	Показатели прецизионности (относительные значения)		Показатель точности (границы относительной погрешности при $P = 0.95$), $\pm\Delta$, %
	Показатель повторяемости, σ_r^* , %	Показатель воспроизводимости σ_{RL}^* , %	
0,02-0,5	8	9	27
0,5-1,0	6	7	16
1,0-2,0	3	4	8

Указанные выше показатели качества результатов анализа являются установленными характеристиками погрешности для совокупности результатов анализа, полученных при соблюдении требований методики при ее реализации в отдельной лаборатории. Таким образом, были установлены рабочие условия для количественного определения содержания Тартразина в продукции пищевой промышленности в присутствии 1 мг/дм³ СБ, а также СБ в присутствии 1 мг/дм³ Тартразина. Найдены диапазоны линейных зависимостей аналитических сигналов красителей от их концентрации, проверены гипотезы линейности градуировочных зависимостей, оценена адекватность моделей по критерию Фишера. Проведена оценка правильности методики методом «введено-найденно». Установлены основные метрологические характеристики разрабатываемой методики количественного определения содержания Тартразина и СБ в продукции пищевой промышленности (показатель точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности).