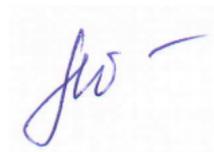


На правах рукописи



Липских Ольга Ивановна

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

02.00.02 – аналитическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск-2017

Работа выполнена на кафедре физической и аналитической химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, доцент,
Короткова Елена Ивановна

Официальные оппоненты: Будников Герман Константинович
доктор химических наук, профессор,
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова, кафедра аналитической химии, профессор

Шелковников Владимир Витальевич
кандидат химических наук, доцент,
Национальный исследовательский Томский государственный университет, кафедра аналитической химии, доцент

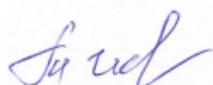
Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Защита состоится «06» декабря 2017 г. в 16.30 на заседании диссертационного совета Д 212.269.04 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, г. Томск пр. Ленина, 43а, 2-й корпус ТПУ, Малая химическая аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в Научно–технической библиотеке ФГАОУ ВО НИ ТПУ по адресу: 634034, г. Томск, ул. Белинского, 53а и на сайте <http://portal.tpu.ru/council/911/worklist>

Автореферат разослан « » октября 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 212.269.04



Т.М. Гиндуллина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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. 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, СБ), так и двух смесей красителей разных цветов (Тартразина и Понсо 4R, Тартразина и СБ) на МЭ в продукции пищевой промышленности. Установлены метрологические характеристики методики определения смеси Тартразина и СБ, применяемых 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, СБ)
- 2.** Физико-химические закономерности протекания реакции окисления-восстановления СК (Кармуазин, Тартразин, Понсо 4R, СБ) на МЭ
- 3.** Влияние сопутствующих компонентов пищевой матрицы на аналитические сигналы СК (Кармуазин, Тартразин, Понсо 4R, СБ)
- 4.** Вольтамперометрические методики определения индивидуальных красителей Тартразина, Кармуазина, Понсо 4R, СБ, а также смеси двух СК разных цветов Тартразина и Понсо 4R, Тартразина и СБ.

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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** отражена актуальность исследования, сформулированы цели и задачи. В **первой главе** представлен обзор литературы по физико-химическим свойствам, нормативам применения СК, методам их выделения из пищевой матрицы при определении с помощью хроматографии, капиллярного электрофореза и спектрофотометрии. Также представлены современные электрохимические методики и модификаторы электродной поверхности для определения СК в продуктах пищевой промышленности. На основании проведенного литературного обзора сформулированы цели и задачи исследования. Во **второй** главе приводится описание методики

проведения эксперимента, аппаратуры, а также способа приготовления модификатора и растворов. **Третья** глава посвящена исследованию физико-химических закономерностей окисления-восстановления СК на модифицированном электроде. Показано влияние различных факторов (рН, время и потенциал электролиза, скорость развертки потенциала) на электрохимические сигналы красителей, предложены механизмы электродных реакций. В **четвертой** главе исследована возможность определения, как индивидуальных красителей, так и их смесей. Показана возможность определения Тартразина и Понсо 4R, а также Тартразина и СБ на МЭ при их совместном присутствии. **Пятая** глава посвящена разработке методик количественного определения Кармуазина, Понсо 4R, Тартразина, СБ, а также смеси Тартразина и Понсо 4R, Тартразина и СБ в продуктах пищевой промышленности. Проведена оценка мешающего влияния компонентов пищевой матрицы. В **шестой** главе представлены метрологические характеристики вольтамперометрической методики определения смеси Тартразина и СБ в пищевых продуктах. В разделе **обсуждение результатов** проведен анализ полученных данных. В **заключении** сделаны выводы.

Результаты и обсуждение.

В работе предлагается использовать УСЭ с обновляемой поверхностью для вольтамперометрического определения СК в пищевых продуктах. Для увеличения площади электроактивной поверхности и электрической проводимости проводили модификацию поверхности УСЭ с помощью токопроводящей полимерной пасты – углеродных чернил. Её готовили смешиванием графита (0,09г) и полистирола (0,01г) в среде 1,2-дихлорэтана. 1 мкл полученной суспензии наносили на поверхность УСЭ и сразу после испарения растворителя использовали в работе. 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 повысить чувствительность определения.

Исследование электрохимических свойств синтетических красителей на модифицированном электроде.

При разработке методики важным этапом является поиск аналитического сигнала, а также изучение влияния на него различных факторов. Исследовали влияние рН, времени и потенциала электролиза, скорости развертки потенциалов на электрохимические сигналы СК.

Азокрасители. Для исследования электрохимических свойств азокрасителей использовали МЭ в качестве рабочего, хлоридсеребряные электроды - 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.

Азокрасители проявляют электрохимическую активность в катодной области потенциалов, соответствующей восстановлению молекул красителей. В качестве примера приведена циклическая вольтамперограмма окисления-восстановления Кармуазина в буфере Бриттона-Робинсона при рН 2,0 (Рис. 1).

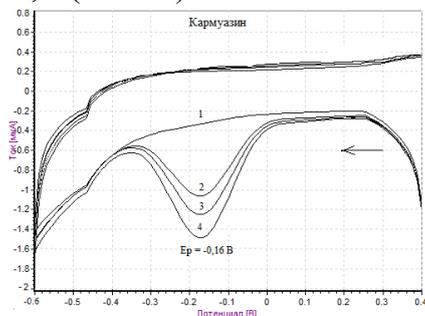


Рис. 1 – Циклические вольтамперограммы электровосстановления кармуазина на МЭ в буферном растворе Бриттона–Робинсона (рН 2.0). 1 – фоновая кривая; $c_{\text{карм}}$: 0,2 (2), 0,4 (3), 0,6 (4) мг/дм³; $W = 100$ мВ/с.

Электрохимическое поведение Понсо 4R и Тартразина аналогично поведению Кармуазина ввиду схожести их структур (Табл. 1).

Таблица 1. Потенциалы электровосстановления азокрасителей на МЭ в буферном растворе Бриттона–Робинсона (рН 2,0). $W = 100$ мВ/с.

| Краситель | Е _{рк} , В | Е _{ра} , В |
|------------------|---------------------|---------------------|
| Понсо 4R (E124) | -0,05 | – |
| Кармуазин (E122) | -0,16 | – |
| Тартразин (E102) | -0,23 | – |

Выбор рН. Большое влияние на сигнал оказывает рН раствора фонового электролита. По мере увеличения рН в случае азосоединений наблюдается уменьшение тока электровосстановления и смещение потенциала пика в более электроотрицательную область, что указывает на участие протонов в электрохимической реакции (Рис. 2).

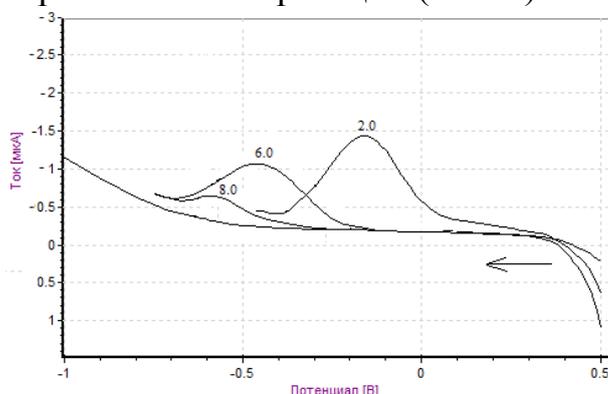


Рис. 2 – Вольтамперограммы тока электровосстановления кармуазина на МЭ при разных значениях рН ($E = -0,16$ В при рН 2,0; $E = -0,39$ В при рН 6,0; $E = -0,52$ В при рН 9,0). $C_{\text{карм}} = 0,5$ мг/дм³, $W = 100$ мВ/с.

Электровосстановление азокрасителей напрямую зависит от концентрации ионов водорода. По мере уменьшения рН раствора происходит облегчение процесса восстановления вследствие легкости протонизации азосвязи, и как следствие, наблюдается максимальный сигнал. В сильнощелочной среде при рН >8,0 сигнала азокрасителей на МЭ не наблюдается.

Выбор потенциала и времени электролиза. При выборе потенциала электролиза исследовали область значений от -1,0 В до 1,0 В методом катодной постоянноточковой вольтамперометрии при содержании красителей в электрохимической ячейке 0,5 мг/дм³. Интенсивность сигнала всех исследуемых азокрасителей увеличивается при переходе от отрицательной к положительной области и выходит на предел после $E_3=0,1$ В. При увеличении времени электролиза до 10 с наблюдается рост интенсивности электрохимического сигнала всех анализируемых азокрасителей, который при последующем увеличении времени изменяется мало.

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. С увеличением скорости развертки потенциала происходит увеличение тока пика СК и сдвиг потенциала пика в область более отрицательных значений. Экспоненциальный характер зависимости функции тока $I/W^{1/2}$ от скорости сканирования потенциала указывает на наличие сопряженной гомогенной химической реакции, которая, однако, не является лимитирующей стадией процесса, о чем говорит прямолинейная зависимость I от $W^{1/2}$ (Рис. 3).

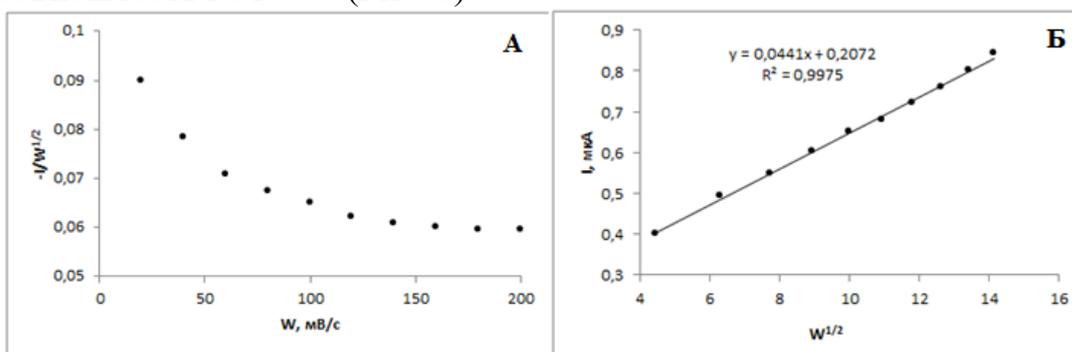


Рис. 3 – Зависимость функции тока $I/W^{1/2}$ от скорости развертки потенциала W (А); Зависимость тока электровосстановления Кармуазина I от $W^{1/2}$ (Б).

Отсутствие анодного пика, смещение потенциала в сторону более отрицательных значений при увеличении скорости развертки, а также прямолинейная зависимость потенциала пика от $\lg W$, указывают на необратимый характер электродного процесса.

Расчитанное по формуле $|E_p - E_{p/2}| = 47,7/\alpha n$ число электронов для необратимого процесса равно 1,91, т.е. близкое к 2. Было предположено, что 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, показанной на рис. 4.

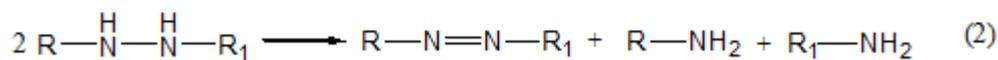
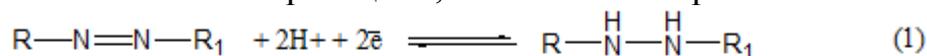


Рис. 4 - Механизм электровосстановления азосоединений.

Краситель трифенилметанового ряда СБ. В отличие от азокрасителей, СБ проявляет электрохимическую активность, как в катодной, так и в анодной области потенциалов. При этом потенциалы пиков смещаются в более электроотрицательную область с увеличением рН (Рис. 5).

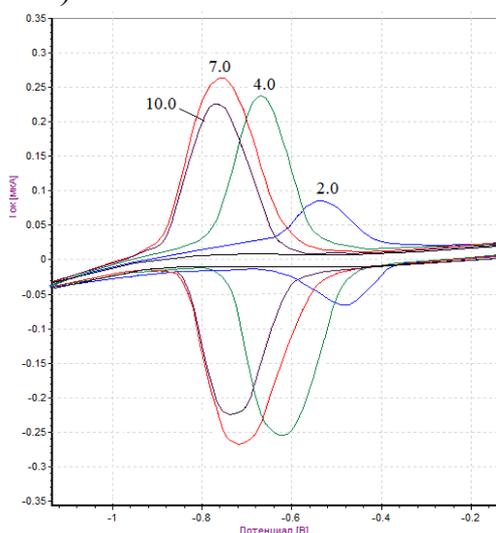


Рис. 5 – Циклические вольтамперограммы окисления-восстановления красителя СБ на МЭ при разных значениях рН. $C_{СБ} = 0,5 \text{ мг/дм}^3$.

Однако, в отличие от азосоединений, по мере увеличения рН фонового электролита до рН 7,0 происходит увеличение как анодного, так и катодного токов. Невысокая интенсивность сигналов в кислой среде связана с тем, что при избытке протонов в фоновом электролите происходит химическая реакция электрофильного присоединения по двойной связи центрального атома углерода. Спад интенсивности сигналов в щелочной среде, возможно, связан с образованием карбинольного соединения по реакции нуклеофильного присоединения. Поэтому в среде близкой к нейтральной наблюдаются электрохимические сигналы с максимальной интенсивностью.

Выбор потенциала и времени электролиза. Потенциал и время электролиза для определения СБ были выбраны равными 0,0 В и 10 с соответственно, т.к. последующее изменение данных параметров не оказывает существенного влияния на интенсивность электрохимических сигналов.

Механизм окисления-восстановления СБ.

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).

На основании того, что с увеличением W происходит увеличение ΔE_p , а также не наблюдается прямолинейной зависимости I_p от $W^{1/2}$, был сделан вывод о квазиобратимости электродного процесса. Как известно, при малых скоростях W можно приблизить такой процесс к обратимому, что и было сделано для расчета числа электронов по формуле $\Delta E_p = 0,057/z$.

Учитывая рассчитанное число электронов, равное 2,05 и участие протонов в электрохимической реакции, был предположен механизм квазиобратимого окисления-восстановления СБ (Рис. 6).

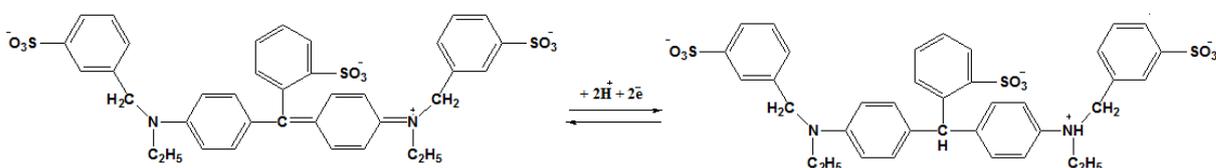


Рис. 6 – Предполагаемый механизм окисления-восстановления СБ на МЭ.

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.

Вольтамперометрическое определение индивидуальных синтетических красителей на модифицированном электроде.

Катодные пики восстановления красителей могут быть использованы как аналитические сигналы для их определения в пищевых продуктах

Определение азокрасителей. Рабочими условиями при определении азокрасителей является применение катодной постоянноточковой вольтамперометрии в режиме первой производной, МЭ в качестве рабочего, а также хлоридсеребряных – в качестве вспомогательного и электрода сравнения. Буфер Бриттона-Робинсона с рН 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. Параметры градуировочных характеристик индивидуального определения азокрасителей представлены в табл. 2.

Таблица 2. 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 |

Определение трифенилметанового красителя СБ. При определении красителя трифенилметанового ряда СБ применяли катодную постояннотокую вольтамперометрию в режиме первой производной в диапазоне потенциалов от 0,0 до -0,7 В, МЭ 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.

Определение смеси синтетических красителей на модифицированном электроде.

Порой для придания различных оттенков 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.

Совместное определение Понсо 4R и Тартразина. Для оценки возможности совместного определения двух азокрасителей Понсо 4R и Тартразина применяли постояннотокую 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 потенциалах -0,05 В и -0,23 В соответственно, что позволяет проводить их одновременное определение (Рис. 7).

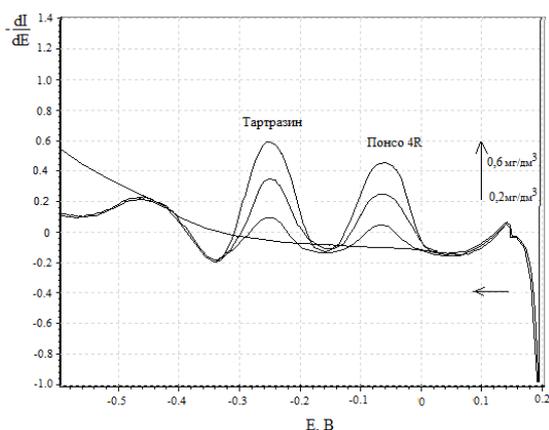


Рис. 7 – Катодные вольтамперограммы электровосстановления Понсо 4R и Тартразина на МЭ в буфере Бриттона-Робинсона (рН 2,0) в зависимости от концентрации: $C = 0,2 - 0,6 \text{ мг/дм}^3$, $W = 100 \text{ мВ/с}$.

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/дм^3 Тартразина, добавляли аликвоты Понсо 4R и регистрировали изменение интенсивности сигнала. Аналогичный эксперимент проводили для Тартразина в присутствии 1 мг/дм^3 Понсо 4R.

Таблица 3. 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 |

Как видно из таблицы, при определении смеси двух азокрасителей происходит уменьшение линейного диапазона определяемых концентраций. Однако, данного диапазона вполне достаточно для определения СК в пищевых продуктах.

Совместное определение Тартразина и СБ. Была рассмотрена возможность совместного определения красителей разных структурных рядов – Тартразина и СБ. 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. Определение Тартразина проводили в присутствии 1 мг/дм^3 СБ при рН 2,0.

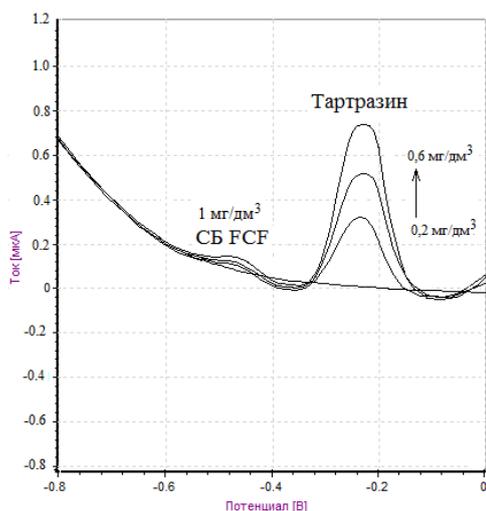


Рис. 8 - Катодные вольтамперограммы электровосстановления Тартразина в зависимости от концентрации ($0,2 - 0,6 \text{ мг/дм}^3$) в присутствии 1 мг/дм^3 СБ на МЭ в буфере Бриттона-Робинсона ($\text{pH } 2,0$), $W = 100 \text{ мВ/с}$.

Как видно из рис 8, 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.

Определение СБ проводили в присутствии 30 мг/дм^3 Тартразина при $\text{pH } 10,0$. При этом на вольтамперограмме наблюдается четкий сигнал электровосстановления СБ, увеличивающийся пропорционально концентрации красителя в растворе и полное отсутствие сигнала Тартразина (Рис. 9).

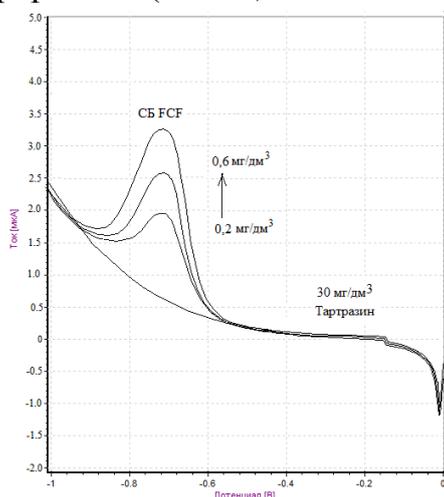


Рис. 9 - Катодные вольтамперограммы электровосстановления СБ в зависимости от концентрации ($C = 0,2 - 0,6 \text{ мг/дм}^3$) в присутствии 30 мг/дм^3 Тартразина на МЭ в буфере Бриттона-Робинсона ($\text{pH } 10,0$), $W = 100 \text{ мВ/с}$.

Параметры градуировочных характеристик совместного определения СБ и Тартразина при представлены в табл. 4.

Таблица 4. Параметры градуировочных характеристик определения смеси СБ и Тартразина

| Краситель | Линейный диапазон концентраций, мг/дм ³ | Уравнение регрессии | Предел обнаружения, мг/дм 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.

Определение натуральных и синтетических красителей. Иногда для окрашивания пищевых продуктов производители используют смесь натурального и СК, а в некоторых случаях имеет место фальсификация продуктов – когда под видом натуральных недобросовестные производители используют СК.

В данной работе в некоторых продуктах, выбранных для анализа, производителями заявлено применение натуральных красителей, таких как куркумин Е 100, каротин Е 160, сахарный колер Е 150, кармин Е 120, антоцианин Е 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 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 антоцианина (Рис. 10).

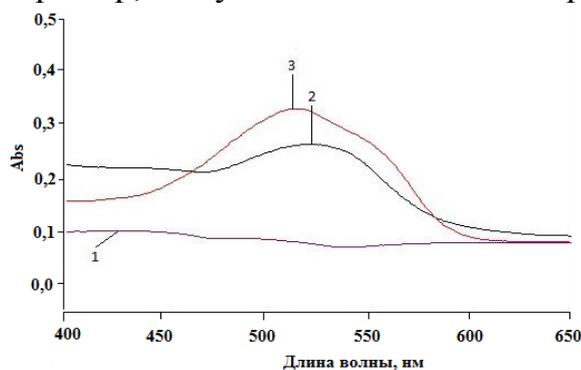


Рис. 10 - Спектры поглощения: 1 – растворитель (H₂O), 2 – антоцианин, 3 – стандартный раствор кармуазина 5 мг/дм³.

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.

Разработка методик количественного определения синтетических красителей в пищевых продуктах. Как правило, основной трудностью при определении СК является выявление и устранение компонентов пищевой матрицы, которые могут мешать определению. В работе 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.

Исследование влияния подсластителей, консервантов. 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 соединения и регистрировали значение тока электровосстановления красителей до введения сопутствующих веществ и после. 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.

Исследование влияния железирующих веществ. 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/дм³. Для создания модельных смесей брали навеску желатина массой 5,0 г, растворяли при небольшом нагревании в 50 мл дистиллированной воды, добавляли 5 мл раствора кармуазина С=1000 мг/дм³ и после охлаждения раствор доводили до метки дистиллированной водой. 10 мл полученного модельного раствора (раствор №1), содержащего 50 г/дм³ желатина и 50 мг/дм³ 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 рН 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 М раствора HNO₃,

тщательно перемешивали при нагревании до 50⁰С 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. Было показано, что проведение трех процедур экстракции и центрифугирования вполне достаточно для полного извлечения красителя из пищевой матрицы, содержащей в своем составе желатин.

Определение азокрасителей. В электрохимическую кварцевую ячейку вносят 10 см³ буфера Бриттона-Робинсона рН 2,0 и пропуская газобразного 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 анализируемого раствора и в тех же условиях проводят регистрацию вольтамперграмм. При потенциалах -0,05 В, -0,16 В, -0,23 В регистрируют пики электровосстановления Понсо 4R, Кармуазина и Тартразина на МЭ в режиме первой производной. Содержание красителя в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику. Результаты определения индивидуальных азокрасителей, а также смеси Понсо 4R и Тартразина представлены в таблицах 5-8. В качестве метода сравнения использовали спектрофотометрический метод.

Таблица 5. Результаты определения кармуазина (мг/дм³) в безалкогольных напитках вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6$, $p = 0,95$, $t_{таб} = 2,57$.

| Напиток | I | II | $t_{экср.}$ | 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 | |

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

| Объект анализа | I | II | $t_{экср.}$ | 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 | |

Продолжение таблицы 6.

| Объект анализа | I | II | $t_{\text{эксп}}$ | Допустимое содержание, мг/кг |
|----------------------------------|------------|------------|-------------------|------------------------------|
| Мармелад "Желейно-формовой" | 33 ± 3 | 34 ± 3 | 2,04 | 300 |
| Мармелад «Многослойный желейный» | 49 ± 4 | 45 ± 3 | 2,12 | |
| Начинка "Птичье молоко" | 32 ± 3 | 30 ± 3 | 1,89 | |

Таблица 7. Результаты определения Понсо 4R (мг/кг) в вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6$, $p = 0,95$, $t_{\text{таб}} = 2,57$.

| Объект анализа | I | II | $t_{\text{эксп}}$ | Допустимое содержание, мг/кг |
|--|----------------|---------------|-------------------|------------------------------|
| Напиток «Приятный день» (Тропический микс) | $10,7 \pm 1,5$ | $9,8 \pm 1,6$ | 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 | |

Таблица 8. 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 | | |

Определение трифенилметанового красителя СБ.

При определении СБ в электрохимический стаканчик вносят 10 см^3 буферного раствора Бриттона-Робинсона pH 7,0, удаляют растворенный кислород пропусканием через раствор газообразного азота. Далее после стадии электролиза в течение $t=10\text{с}$ при $E=0,0\text{В}$, отключают газ и проводят успокоение раствора. После этого проводят проверку чистоты фонового электролита путем регистрации вольтамперограмм в диапазоне потенциалов от $-0,2$ до $-1,0 \text{ В}$. Если на вольтамперограммах отсутствуют пики, то фоновый электролит можно считать чистым.

Далее в ячейку вносят аликвоту подготовленного образца и регистрируют ток электровосстановления СБ при $E= -0,74 \text{ В}$ в тех же условиях. Количественное содержание красителя в анализируемом растворе определяют по градуировочному графику. Результаты определения СБ вольтамперометрическим и спектрофотометрическим методами представлены в табл. 9.

Таблица 9. Результаты определения СБ (мг/кг) в вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6, p = 0,95, t_{таб} = 2,57$.

| Объект анализа | I | II | $t_{эксп}$ | 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 | |

Определение смеси Тартразина и СБ.

В электрохимическую ячейку помещают 10 см³ буферного раствора Бриттона-Робинсона pH 2,0. Продуванием через раствор газообразного азота в течение 5 минут, удаляют растворенный кислород. Далее проводят электролиз при $E_{э}=0,1$ В, $t_{э}=10$ 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 pH 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 табл. 10.

Таблица 10. Результаты определения Тартразина и СБ (мг/кг) при их совместном присутствии вольтамперометрическим (I) и спектрофотометрическим (II) методами. $n = 6, p = 0,95, t_{таб} = 2,57$.

| Объект анализа | Тартразин | | | СБ | | | Допустимое содержание, мг/кг | |
|-----------------------------|-----------|------|------------|---------|---------|-------------|------------------------------|-----|
| | I | II | $t_{эксп}$ | I | II | $t_{эксп.}$ | 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 | | |

Метрологические аспекты вольтамперометрической методики количественного определения смеси Тартразина и Синего блестящего в пищевых продуктах. При подготовке методики к метрологической аттестации необходимо оценить следующие метрологические характеристики методики: показатель повторяемости, показатель внутрилабораторной прецизионности, показатель точности методики. Обобщенные результаты показателей качества методики определения Тартразина и СБ в присутствии друг друга представлены в таблицах 11 и 12.

Таблица 11. Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении Тартразина в присутствии СБ ($p = 0,95$, $n = 2$, $l = 15$)

| Диапазон измерений, мг/дм ³ | Показатели прецизионности (относительные значения) | | Показатель точности (границы относительной погрешности при $P = 0.95$), $\pm\Delta$, % |
|--|--|--|--|
| | Показатель повторяемости, σ_T^* , % | 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 |

Таблица 12. Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении СБ в присутствии 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_T^* , % | 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 |

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.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Липских, О. И. Определение кармуазина в безалкогольных напитках вольтамперометрическим и люминесцентным методами / О. И. Липских, А. А. Николаева // Тез. докл. VII молодежной конференции «Инновации в химии: достижения и перспективы – 2016». Москва, 11-15 апреля 2016.

2. Липских, О. И. Определение кармуазина в лекарственных препаратах методом вольтамперометрии / О. И. Липских, Е. И. Короткова // Тез. докл. V Всероссийской научной молодежной школы-конференции «Химия под знаком сигма: исследования, инновации, технологии». Омск, 15-20 мая 2016.

3. Липских, О. И. Применение метода вольтамперометрии для определения кармуазина в безалкогольных напитках / О. И. Липских, Е. В. Булычева, Е. В. Дорожко // Тез. докл. XVII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке». Томск, 17-20 мая 2016.

4. Липских, О. И. Определение кармуазина в безалкогольных напитках методом вольтамперометрии / О. И. Липских, А. А. Николаева, Е. И. Короткова // Тез. докл. IX Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа «ЭМА 2016». Екатеринбург-Ленинка, 29 мая – 03 июня 2016.

5. Липских, О. И. Определение тартразина в пищевых продуктах методом вольтамперометрии / О. И. Липских, Е. И. Короткова // Тез. докл. X Всероссийской научной конференции «Аналитика Сибири и Дальнего

Востока». Баранул, 12-17 сентября 2016.

6. Липских, О. И. Совместное определение синтетических красителей Тартразина и Понсо 4R в пищевых продуктах / О. И. Липских // Тез. Докл. XVIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке». Томск, 29 мая – 01 июня 2017.

7. Lipskikh, O. I. Simultaneous determination of Tartrazine (E 102) and Brilliant Blue FCF (E 133) at modified electrodes / O. I. Lipskikh, E. I. Korotkova // Тез. Докл. VI Международной научной конференции «Теоретическая и экспериментальная химия». Караганда, 15-17 июня 2017.

8. 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 // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. - 2016. - Т. 82. - № 6. - С. 22-26.

9. Липских, О. И. Вольтамперометрическое определение Тартразина в пищевых продуктах / О. И. Липских, А. А. Николаева, Е. И. Короткова // Журнал аналитической химии. – 2017. - Т. 72. - № 4. – С. 396-401.