

DOI: 10.26896/1028-6861-2018-84-2-23-27

УДК (UDC) 543.426

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ КАРМУАЗИНА И ПОНСО 4R В БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКАХ МЕТОДОМ ФЛУОРИМЕТРИИ

© Алёна Андреевна Николаева, Елена Ивановна Короткова,
Елизавета Владимировна Булычева

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия; e-mail: ivanovaaa@tpu.ru

Статья поступила 3 февраля 2017 г.

Предложен флуориметрический метод определения синтетических пищевых азокрасителей понсо 4R (E124) и кармуазина (азорубина, E122) в безалкогольных напитках. Исследуемые азокрасители являются одними из наиболее распространенных и опасных синтетических красителей, часто используемых в детских напитках. Выбор флуориметрического метода анализа обусловлен его высокой чувствительностью, селективностью и экспрессностью по сравнению с другими известными методами (спектрофотометрическими, электрохимическими и хроматографическими). Изучены спектры возбуждения и люминесценции обоих красителей. Найдены оптимальная длина волны возбуждения определяемых красителей (330 нм) и длина волны люминесценции, на которой наблюдается максимальный аналитический сигнал (420 нм). Проведена оптимизация таких аппаратных параметров определения, как время задержки и длительность строба. Для проверки правильности полученных результатов провели спектрофотометрическое определение этих красителей в тех же образцах (поглощение кармуазина максимально при 515 нм, понсо 4R — при 505 нм). Результаты, полученные обоими методами, хорошо согласуются. Предложенная методика может быть использована для контроля качества пищевых продуктов.

Ключевые слова: азокрасители; флуориметрия; спектрофотометрия; безалкогольные напитки.

FLUORIMETRIC DETERMINATION OF SYNTHETIC FOOD DYES CARMOISINE AND PONCEAU 4R IN SOFT DRINKS

© Alena A. Nikolaeva, Elena I. Korotkova, Elizabeth V. Bulycheva

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia; e-mail: ivanovaaa@tpu.ru

Submitted February 3, 2017.

We report on a fluorimetric determination of synthetic food azo dyes Ponceau 4R (E124) and Carmoisine (azorubine, E122) in soft drinks. Considered azo dyes are one of the most common and dangerous synthetic dyes, often used in children's drinks to give them attractive red shades. The choice of fluorimetric method of analysis is motivated by high sensitivity, selectivity and total rapidity of the procedure compared to other (spectrophotometric, electrochemical and chromatographic) known methods, thus being rather useful for determination of low content of the substances. Specified working conditions for dye determination in beverages: excitation wavelength of 330 nm and detection interval 350 – 500 nm. Synthetic dyes were analyzed on a "Fluorat-02-Panorama" (Lumex LLC., St. Petersburg) fluid analyzer. The obtained wavelength of azo dye fluorescence (420 nm) is used as a working wavelength for quantitative determination of azo dyes Ponceau 4R and Carmoisine (azorubin) in soft drinks. The reproducibility of the results obtained for two food azo dyes using fluorimetric and spectrophotometric methods of their determination in soft drinks is shown.

Keywords: azo dyes; fluorimetry; spectrophotometry; soft drinks.

Пищевыми красителями называют природные или искусственные (синтетические) вещества, предназначенные для придания, усиления или восстановления окраски пищевых продуктов [1]. Синтетические красители обладают высокой стойкостью к различным видам технологической обработки, разнообразием окрасок, чистотой и постоянством цвета, низкой стоимостью [2].

Азокрасители — синтетические органические красители, молекула которых содержит одну или несколько азогрупп ($N=N$). Получают азокрасители сочетанием диазотированных ароматических аминов с фенолами или ароматическими аминами в водной, слабощелочной или слабокислой среде [3].

Самыми распространенными представителями ряда азокрасителей являются кармуазин (азорубин, E122) и понсо 4R (E124) (рис. 1). Данные красители как индивидуально, так и в смеси применяют в пищевой промышленности для окрашивания продуктов питания в красные оттенки. В России содержание данных красителей в пищевых продуктах строго регламентируется п. 3.11.1. СанПиН 2.3.2.1293–03 и может составлять от 50 (в безалкогольных напитках) до 500 мг/кг (в соусах, приправах) [4]. Предельно допустимая норма потребления красителей E122 и E124 — 4 мг/кг веса тела в сутки.

Исследования, проведенные университетом Саутгемптона по заказу агентства по пищевым стандартам Великобритании (FSA), показали, что употребление продуктов с добавками понсо 4R и кармуазина приводит к гиперактивности и снижению концентрации внимания у детей [5]. Кроме того, азокрасители являются сильными аллергенами и могут спровоцировать развитие онкологических заболеваний [3]. В связи с этим такие страны, как Австрия, Швеция, Норвегия, Канада, Япония и США ввели запрет на использование данных синтетических красителей в пищевой промышленности [5]. Однако в ряде стран, в том числе, в России и на Украине, кармуазин и понсо 4R разрешены к использованию в продуктах питания, но в пределах допустимой нормы.

В настоящее время импорт и экспорт продуктов, содержащих синтетические красители, осложнен отсутствием единой нормативной этики использования разрешенных в одной стране и незаконных в другой пищевых добавок. Существует также опасность замены пищевых красителей на непищевые. На основании этого можно сделать вывод о необходимости разработки экспрессных, недорогих и точных методов определения красителей в продуктах питания для контроля их качества и безопасности.

Основными методами [6] определения пищевых красителей в продуктах питания являются хроматографические [7], спектрофотометрические [8] и электрохимические [9], а также капиллярный электрофорез [10].

В литературе встречаются упоминания о применении метода флуориметрии для определения красителей [11, 12], однако несмотря на ряд достоинств флуориметрического анализа, таких как высокая чувствительность, широкий диапазон определяемых концентраций, простота аппаратного оформления, вопросу применения данного метода в исследованиях красителей уделено недостаточно внимания.

Цель данной работы — разработка методики флуориметрического определения синтетических пищевых красителей кармуазина (E122) и понсо 4R (E124) в безалкогольных напитках. В качестве метода сравнения использовали спектрофотометрию.

В работе использовали анализатор жидкости «Флюорат-02-Панорама» (ООО «Люмэкс-маркетинг», Санкт-Петербург). Принцип действия анализатора заключается в измерении интенсивности люминесценции пробы, возникающей при возбуждении оптическим излучением выделенного спектрального диапазона и регистрируемой фотоприемниками.

Рабочие растворы красителей понсо 4R и кармуазина ($C = 10,00$ мг/л) готовили с использованием красителя с содержанием основного вещества не менее 95 % (ЗАО «Вектон», Санкт-Петербург).

В качестве объектов исследования для определения кармуазина выбраны следующие безалкогольные напитки: «Королевский пингвин» (вишня) (изготовитель — ООО «Объединенная Водная Компания», Ставропольский край), «Приятный день» (витаминный микс) (ООО «ПО Запсибкола», г. Новосибирск), «Шампусенок» (вишня, арбуз) (ООО «ПО Запсибкола», г. Новосибирск), а для определения понсо 4R — «Приятный день» (райский микс) (ООО «ПО Запсибкола», г. Новосибирск) и «Японская груша» (ЗАО «Ирбис», г. Новокузнецк).

Пробоподготовка исследуемых безалкогольных напитков заключалась в разбавлении исходной пробы в 100 раз, что позволило избавиться от мешающего влияния других компонентов, находящихся в напитках. Содержание исследуемых красителей в образцах напитков определяли с помощью градуировочной характеристики, построенной с использованием стандартных растворов.

Для спектрофотометрического определения кармуазина и понсо 4R в напитках использовали спектрофотометр Agilent Technology Cary 60

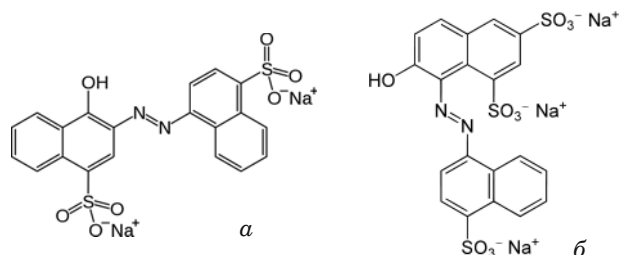


Рис. 1. Структурные формулы азокрасителей: а — кармуазин; б — понсо 4R

UV-Vis. Концентрация стандартных растворов кармуазина и понсо 4R для построения градуировочной характеристики составляла 1,00 – 10,00 мг/л. Пробоподготовку исследуемых напитков для спектрофотометрического определения проводили согласно ГОСТ Р 52470–2005 [13] и ГОСТ Р 52671–2006 [14].

На первом этапе для определения длин волн возбуждения люминесценции [15] водных растворов кармуазина и понсо 4R проводили синхронное сканирование спектров в диапазоне от 180 до 800 нм при смещении монохроматора от 0 до 100 нм (число вспышек — 10) (рис. 2). Установлено, что наибольшая интенсивность люминесценции обоих красителей наблюдается при длине волны возбуждения 330 нм.

На следующем этапе при найденной длине волны возбуждения исследовали люминесценцию стандартных образцов красителей в интервале от 350 до 500 нм (рис. 3). Установленную длину волны максимума люминесценции 420 нм в дальнейшем использовали в качестве аналитической для определения красителей в исследуемых образцах напитков.

Для увеличения чувствительности определения кармуазина и понсо 4R в напитках провели серию экспериментов по подбору параметров строга: задержки (зависимости интенсивности сигнала от времени) и длительности (времени регистрации на одной длине волны) (рис. 4).

При изучении зависимости интенсивности люминесценции от задержки в диапазоне от 0,05 до 5 мкс установлено оптимальное значение задержки сигнала для кармуазина — 0,9 мкс, для понсо 4R — 0,75 мкс. Выбранные в диапазоне от 1 до 100 мкс значения длительности сигнала составили для кармуазина — 20 мкс, для понсо 4R — 80 мкс. При этих параметрах строга наблюдается наибольшая интенсивность люминесценции исследуемых красителей.

Таким образом, были подобраны следующие рабочие условия определения пищевых красителей понсо 4R и кармуазина: длина волны возбуждения — 330 нм, интервал регистрации аналитического сигнала — от 350 до 500 нм, задерж-

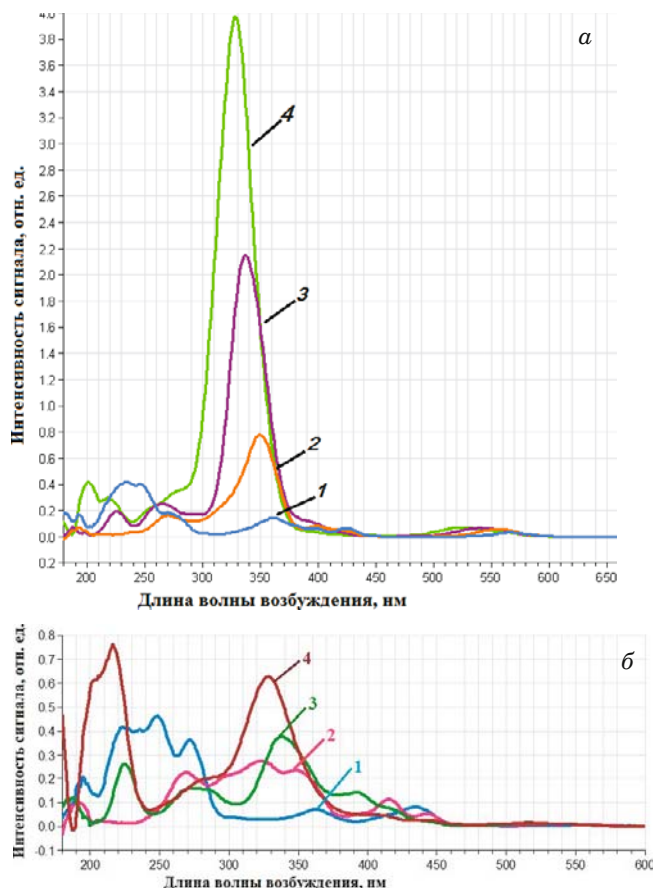


Рис. 2. Спектры флуоресценции кармуазина (а) и понсо 4R (б) при смещении монохроматора: 1 — 20 нм; 2 — 40 нм; 3 — 60 нм; 4 — 80 нм

ка сигнала для кармуазина — 0,9 мкс, для понсо 4R — 0,75 мкс, длительность сигнала — 20 и 80 мкс соответственно.

Уравнение градуировочной характеристики для определения кармуазина в диапазоне концентраций от 0,10 до 1,00 мг/л имеет вид $I = 0,6808c + 0,0339$ ($R^2 = 0,9976$), для определения понсо 4R — $I = 0,0889c + 0,0305$ ($R^2 = 0,9915$).

В качестве метода сравнения использовали спектрофотометрию согласно ГОСТ Р 52470–2005 [13] и ГОСТ Р 52671–2006 [14]. Данный метод основан на измерении оптической плотности раствора при характеристической длине волны. Для определения длины волны, соответствующей максимуму светопоглощения, регистрировали спектры стандартных растворов кармуазина и понсо 4R в исследуемых напитках в интервале длин волн 400 – 650 нм (рис. 5). Видно, что длина волны максимума поглощения кармуазина составляет 515 нм, а понсо 4R — 505 нм, что соответствует ГОСТ Р и литературным данным [16].

Градуировочные характеристики для спектрофотометрического определения кармуазина

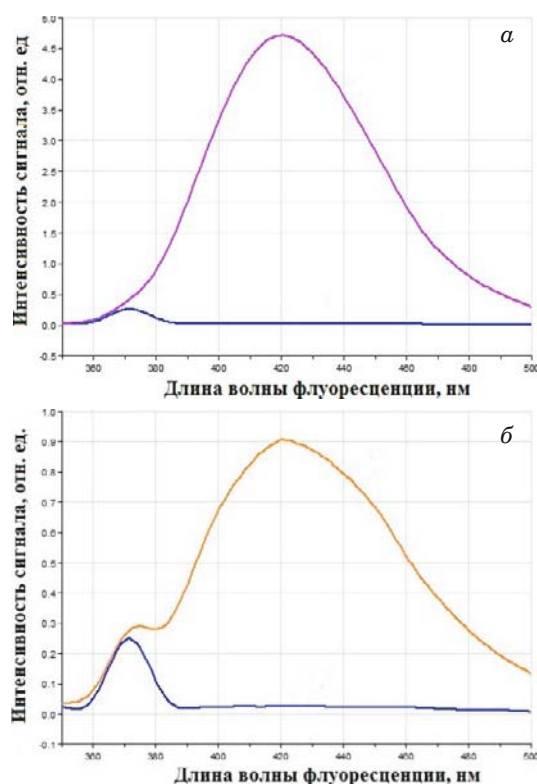


Рис. 3. Спектры люминесценции водных растворов, содержащих 10,00 мг/л кармуазина (а) и понсо 4R (б) (синим цветом показан спектр воды)

на длине волны 515 нм и понсо 4R на длине волны 505 нм линейны в диапазоне концентраций 1,00 – 10,00 мг/л: для кармуазина $A = 0,0346c + 0,0767$ ($R^2 = 0,9991$) и для понсо 4R $A = 0,0391c + 0,0827$ ($R^2 = 0,9995$).

Результаты определения синтетических пищевых красителей кармуазина и понсо 4R в безалкогольных напитках двумя методами анализа представлены в таблице.

Из таблицы видно, что наблюдается сходимость результатов флуориметрического и спектрофотометрического определения. Кроме того, установлено, что во всех образцах исследуемых напитков содержание красителя не превышает допустимой нормы 50 мг/л в соответствии с Сан-ПиН 2.3.2.1293–03.

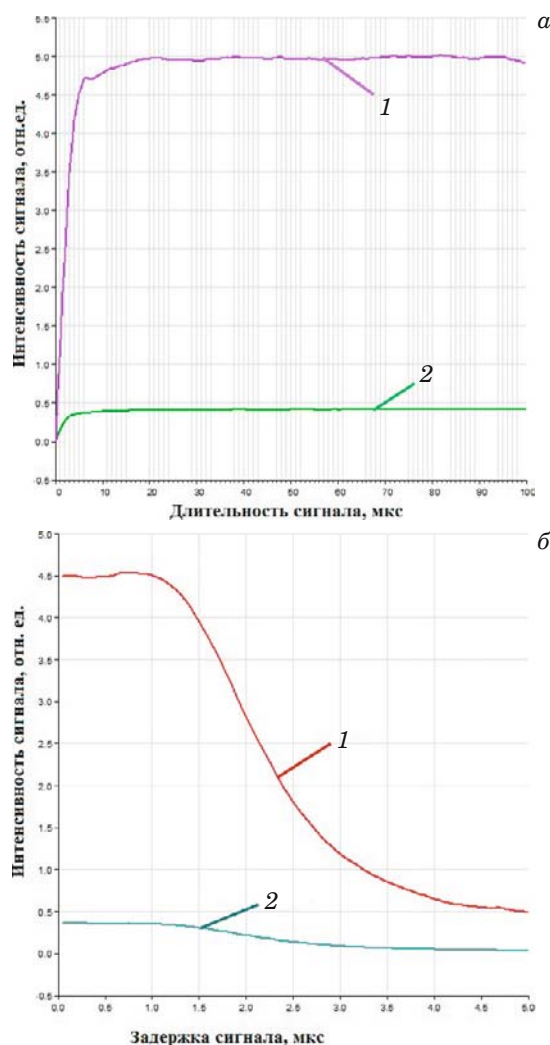


Рис. 4. Зависимость интенсивности люминесценции кармуазина (1) и понсо 4R (2) от параметров строба: а — длительности сигнала; б — задержки сигнала

Проведенные исследования показывают возможность применения флуориметрического метода анализа для обнаружения и определения синтетических пищевых красителей кармуазина (E122) и понсо 4R (E124) в безалкогольных напитках без использования сложной и длительной пробоподготовки. Разработанную методику в дальнейшем можно будет использовать для флуориметрического определения других син-

Результаты определения красителей кармуазина и понсо 4R (мг/л) в безалкогольных напитках флуориметрическим (Фл) и спектрофотометрическим (СФ) методами анализа ($n = 3$; $P = 0,95$; $t_{\text{табл}} = 4,3$)

Синтетический пищевой краситель	Напиток	Фл	S_r	СФ	S_r	$t_{\text{расч}}$
Понсо 4R (E124)	«Приятный день» (тропический микс)	$11,17 \pm 1,42$	0,09	$10,86 \pm 0,28$	0,02	1,35
	«Японская груша»	$30,05 \pm 0,09$	0,01	$30,03 \pm 0,03$	0,02	1,41
Кармуазин (азорубин, E122)	«Королевский пингвин» (вишня)	$46,46 \pm 1,33$	0,02	$44,48 \pm 0,65$	0,01	1,34
	«Приятный день» (витаминный микс)	$19,30 \pm 1,27$	0,04	$18,46 \pm 0,96$	0,03	1,33
	«Шампусенок» (вишня, арбуз)	$4,05 \pm 0,27$	0,04	$4,15 \pm 0,12$	0,02	1,42

тетических пищевых красителей не только в безалкогольных напитках, но и в других продуктах питания. В отличие от методики спектрофотометрического определения красителей, предложенная методика отличается более высокой чувствительностью, селективностью и простой пробоподготовкой.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Смирнов Е. В.** Пищевые красители: справочник — СПб.: Профессия, 2009. — 352 с.
2. **Болотов В. М., Нечаев А. П., Сарафанова Л. А.** Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение. — СПб.: ГИОРД, 2008. — 240 с.
3. **Bafana A., Saravana Devi S., Chakrabarti T.** Azo dyes: past, present and the future / *Environ. Rev.* 2011. Vol. 19. P. 350 – 370.
4. СанПиН 2.3.2.1293–03. Гигиенические требования по применению пищевых добавок. — М.: Минздрав России, 2003. — 416 с.
5. **McCann D., Barrett A., Cooper A. J., et al.** Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial / *Lancet.* 2007. Vol. 370. P. 1560 – 1567.
6. **Yamjala K., Nainar M. S., Ramiseti N. R.** Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry — a review / *Food Chem.* 2016. Vol. 192. P. 813 – 824.
7. **Kucharska M., Grabka J.** A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes / *Talanta.* 2010. Vol. 80. N 3. P. 1045 – 1051.
8. **Kaur A. D., Gupta U.** The Review on Spectrophotometric Determination of Synthetic Food Dyes and Lakes / *Gazi Univ. J. Sci.* 2012. Vol. 25. N 3. P. 579 – 588.
9. **Липских О. И., Короткова Е. И., Дорошко Е. В. и др.** Определение кармуазина в безалкогольных напитках методом вольтамперометрии / *Заводская лаборатория. Диагностика материалов.* 2016. Т. 82. № 6. С. 22 – 26.
10. **Ryvolová M., Tábořský P., Vrábel P., et al.** Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection / *J. Chromatogr. A.* 2007. Vol. 1141. P. 206 – 211.
11. **Chen G. Q., Wu Y. M., Liu H. J., et al.** Determination and identification of synthetic food colors based on fluorescence spectroscopy and radial basis function neural networks / *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi.* 2010. Vol. 30. N 3. P. 706 – 709.
12. **Kashi K., Waxman S. M., Komaiko J. S., et al.** Potential Use of food Synthetic Colors as Intrinsic Luminescent Probes of the Physical State of Foods / *The Chemical Sensory Informatics of Food: Measurement, Analysis.* 2015. Vol. 1191. P. 253 – 267.
13. ГОСТ Р 52470–2005. Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в алкогольной продукции. — М.: Стандартинформ, 2006. — 22 с.
14. ГОСТ Р 52671–2006. Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в карамели. — М.: Стандартинформ, 2007. — 19 с.
15. **Беляков М. В.** Методика исследования люминесцентных свойств семян растений на спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» / *Научная жизнь.* 2016. № 3. С. 18 – 26.
16. **Hajimahmoodi M., Reza Oveisi M., Sadeghi N., et al.** Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R / *Food Anal. Methods.* 2008. Vol. 1. P. 214 – 219.

REFERENCES

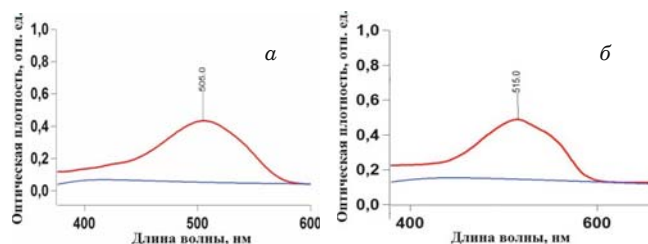


Рис. 5. Спектры поглощения стандартных растворов понсо 4R (а) и кармуазина (б) ($C = 10$ мг/л)

2. **Bolotov V. M., Nechaev A. P., Sarafanova L. A.** Food colors: classification, properties, analysis, application. — St. Petersburg: GIORД, 2008. — 240 p. [in Russian].
3. **Bafana A., Saravana Devi S., Chakrabarti T.** Azo dyes: past, present and the future / *Environ. Rev.* 2011. Vol. 19. P. 350 – 370.
4. СанПиН 2.3.2.1293–03. Hygienic requirements for the use of food additives. — Moscow: Minzdrav Rossii, 2003. — 416 p. [in Russian].
5. **McCann D., Barrett A., Cooper A. J., et al.** Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial / *Lancet.* 2007. Vol. 370. P. 1560 – 1567.
6. **Yamjala K., Nainar M. S., Ramiseti N. R.** Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry — a review / *Food Chem.* 2016. Vol. 192. P. 813 – 824.
7. **Kucharska M., Grabka J.** A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes / *Talanta.* 2010. Vol. 80. N 3. P. 1045 – 1051.
8. **Kaur A. D., Gupta U.** The Review on Spectrophotometric Determination of Synthetic Food Dyes and Lakes / *Gazi Univ. J. Sci.* 2012. Vol. 25. N 3. P. 579 – 588.
9. **Lipskikh O. I., Korotkova E. I., Dorozhko E. V., et al.** Determination of carmoisine in soft drinks by the method of voltammetry / *Zavod. Lab. Diagn. Mater.* 2016. Vol. 82. N 6. P. 22 – 26 [in Russian].
10. **Ryvolová M., Tábořský P., Vrábel P., et al.** Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection / *J. Chromatogr. A.* 2007. Vol. 1141. P. 206 – 211.
11. **Chen G. Q., Wu Y. M., Liu H. J., et al.** Determination and identification of synthetic food colors based on fluorescence spectroscopy and radial basis function neural networks / *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi.* 2010. Vol. 30. N 3. P. 706 – 709.
12. **Kashi K., Waxman S. M., Komaiko J. S., et al.** Potential Use of food Synthetic Colors as Intrinsic Luminescent Probes of the Physical State of Foods / *The Chemical Sensory Informatics of Food: Measurement, Analysis.* 2015. Vol. 1191. P. 253 – 267.
13. RF State Standard GOST R 52470–2005. Food products. Methods for identification and determination of artificial colors in alcoholic production. — Moscow: Stadartinform, 2006. — 22 p. [in Russian].
14. RF State Standard GOST R 52671–2006. Food products. Methods for identification and determination of artificial colors in caramel. — Moscow: Stadartinform, 2007. — 19 p. [in Russian].
15. **Belyakov M. V.** A technique for investigating the luminescent properties of plant seeds on the Fluorat-02-Panorama spectrofluorimeter / *Nauch. Zhizn'.* 2016. N 3. P. 18 – 26 [in Russian].
16. **Hajimahmoodi M., Reza Oveisi M., Sadeghi N., et al.** Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R / *Food Anal. Methods.* 2008. Vol. 1. P. 214 – 219.