

Министерство образования и науки Российской Федерации

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра аналитической химии и химической экологии

**НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗБИРАТЕЛЬНОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ
КОМПОНЕНТОВ В СМЕШАННЫХ РАСТВОРАХ ПИЩЕВЫХ
КРАСИТЕЛЕЙ И α -АМИНОКИСЛОТ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки II курса 251 группы
направления 04.04.01 «Химия»

Института химии

Петрович Марины Викторовны

Научный руководитель

Заслуженный деятель науки РФ,
д.х.н., профессор

подпись, дата

Р.К. Чернова

Зав. кафедрой

д.х.н., доцент

подпись, дата

Т. Ю. Русанова

Саратов 2016

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Одной из актуальных проблем современной аналитической химии является определение различных биологически – активных добавок в пищевых продуктах, продуктах парентерального и спортивного питания, фармацевтических препаратах. Технология производства этих веществ для придания им необходимых потребительских свойств предусматривает широкое применение синтетических пищевых красителей (СПК) и α -аминокислот, как индивидуальных, так и их смесей. Содержание таких добавок не безвредно для человека, нормируется и подлежит аналитическому контролю.

Для определения СПК в настоящее время применяются фотометрические, хроматографические, капиллярно – электрофоретические, и другие методы, основанные на предварительном извлечении красителей из матриц пищевых продуктов. Для концентрирования СПК применяют твердофазную экстракцию и экстракцию органическими растворителями. Методы концентрирования трудоемки, токсичны, длительны.

Для определения индивидуальных аминокислот в их смешанных растворах чаще всего применяют дорогостоящие, высокоинформативные методы: ВЭЖХ, капиллярный электрофорез, что становится экономически невыгодным и малодоступно при решении частных аналитических задач в рядовых фармацевтических и клинических лабораториях.

Актуальной является задача разработки избирательных и простых способов определения СПК и отдельных α – аминокислот в их смешанных растворах и пищевых матриксах.

В настоящей работе рассмотрена возможность применения современных вариантов гомогенной экстракции, инструментальной фотометрии и сенсорных технологий для избирательного извлечения и последующего фотометрического определения СПК (E102, E110, E124,

E133), а также отдельных аминокислот в продуктах питания, смесевых композициях.

Научная новизна. Рассматриваемый нами новый вариант гомогенной экстракции для извлечения СПК (экстракция в точке помутнения, «cloud point», «CPE», мицеллярная экстракция) основан на применении в качестве экстрагента фазы поверхностно-активного вещества ОП-10.

Для отдельного определения смешанной композиции пищевых красителей E102 и E110 нами применена спектрофотометрия в варианте анализа спектров по первой производной для повышения селективности определения, уменьшения фонового сигнала.

Рассмотрение с позиций концепции Бренстеда – Лоури равновесий в растворах «основных» и «нейтральных» α – аминокислот впервые позволило разработать вариант избирательного, прямого, рН – титриметрического определения ионизированных форм, специфичных для основных α – аминокислот с помощью стандартного стеклянного индикаторного электрода. Возможность способа продемонстрирована на примере избирательного определения аргинина в смесях моноаминокарбоновых α – аминокислот.

Практическая значимость. Результаты исследований применены для разработки шести новых, экспрессных и простых методик определения пищевых красителей E102, E110, E133, E124 в напитках, желе, десертах, а также аргинина в различных смесях моноаминокарбоновых α – аминокислот.

Цель настоящего исследования. Разработка способов отдельного определения синтетических пищевых красителей (E102, E110, E133, E124) и α – аминокислот в их смешанных растворах и продуктах питания.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить **следующие задачи:**

- Выявить влияние изо – и политермических условий мицеллярной экстракции с помощью системы (ОП-10) – H_2O – Na_2SO_4 на параметры экстракции пищевых красителей E102, E110, E133, E124;
- Разработать способы мицеллярно-экстракционного извлечения с последующим фотометрическим определением синтетических пищевых красителей (E102, E110, E124 и E133) в продуктах питания (напитки, желе, кисель);
- Применить методы производной спектрофотометрии и Фирордта для определения E110 и E102 в их смесевой композиции без предварительного разделения в модельных технологических растворах и газированных напитках;
- На примере аргинина показать возможность избирательного рН-титриметрического определения основных α – аминокислот в смешанных растворах моноаминокарбоновых α – аминокислот.

Объекты и методы исследования. В работе были использованы следующие реагенты и их растворы:

Применялись препараты α – аминокислот фирмы «Acros Organics».

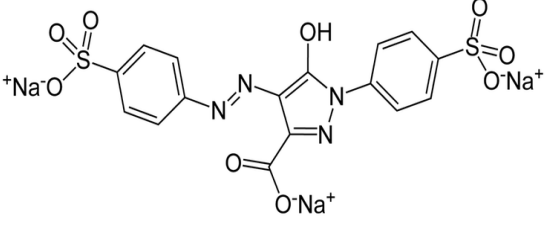
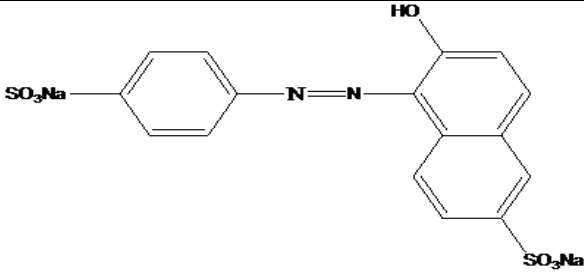
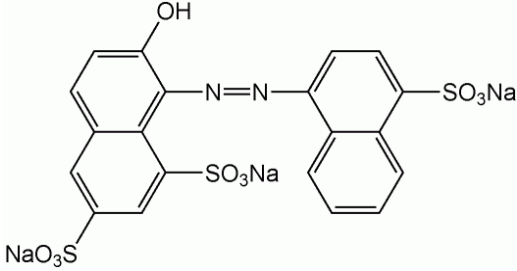
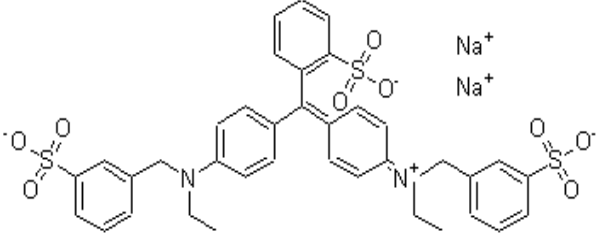
Для приготовления 100мл (0,05М) растворов аминокислот растворяли навески соответствующих препаратов в дистиллированной воде: L-Histidine, 98%, Mr = 155,2 (0,7758г); L-Arginine, 98%, Mr = 174,2 (0,8710г); L-Lysine, 99%. Mr = 146,19 (0,7310г); L -Leucine, 99%. Mr = 131,2 (0,6558г); L-Isoleucine, 99% Mr = 131,2 (0,6558г); L-Valine, 99%. Mr = 117,2 (0,5858г); L-Alanin, ТУ 6-09-4582-78. Mr = 89,1 (0,6058г); L-Glycine, 99%. Mr = 75,1 (0,3754г); L-Phenilalanine, 98,5%. Mr = 165,2 (0,8260г).

рН-метрическое определение проводили на иономере марки «рх-150МП» с хлоридсеребряным электродом сравнения.

Оксиэтилированный алкилфенол ОП – 10, тех, ГОСТ 8433-81, массовая доля основного вещества не менее 80 %. Для работы использовали исходные растворы с концентрациями 10,0%, 20,0% и 25,0%;

Сульфат натрия Na_2SO_4 безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76.

Таблица 1. Исследованные пищевые красители

| Индекс | Тривиальное название | Формула | Масс. доля основного вещества, % |
|--------|--------------------------|--|----------------------------------|
| E 102 | Тартразин |  | 60% |
| E 110 | Желтый «солнечный закат» |  | 70% |
| E 124 | Понсо 4R |  | 65% |
| E 133 | Синий блестящий FC |  | 70% |

Для определения красителей использовали шесть пищевых продуктов: три газированных напитка («Оранж», «Mirinda», «7up»), энергетический напиток («Powerade»), желе («Сукотия S. A.») и кисель («Эстетика Вкуса»).

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, шести глав, выводов, библиографического списка, состоящего из 70 наименований, приложения. Работа изложена на 85 листах, включает 16 таблиц и 25 рисунков.

Во введении обоснована актуальность темы работы, изложены новизна и практическая значимость полученных результатов, сформулированы цель и задачи работы.

В первой главе представлен обзор литературы (70 источников) по применению современных вариантов гомогенной экстракции, инструментальной фотометрии и сенсорным технологиям в анализе продуктов питания и смешанных растворов α – аминокислот.

Во второй главе описаны материалы, использованные в работе.

В третьей главе рассмотрены изо – и политермический режимы фазового расслоения в системе (ОП-10) – H_2O – Na_2SO_4 . Представлены количественные характеристики экстракции красителей E110 и E133 при $80^\circ C$, а также E102 и E124 при $25^\circ C$. Приведены методики фотометрического определения четырех СПК в водных растворах.

В четвертой главе описано применение метода производной спектрофотометрии и Фирордта для отдельного определения пищевых красителей E110 и E102 при совместном присутствии.

Пятая глава посвящена практическому применению изученных систем; приведены разработанные методики определения СПК в пищевых продуктах.

В шестой главе рассмотрено избирательное определение аргинина в смешанных растворах α – аминокислот методом рН – метрического титрования.

Основное содержание работы

Изучены возможности системы (ОП-10)- H_2O - Na_2SO_4 для экстракционного извлечения красителей E133 и E110 из водных растворов при температуре фазового расслоения ($80^\circ C$) и при варьировании концентрации красителей в диапазоне 1 – 5 мг/л.

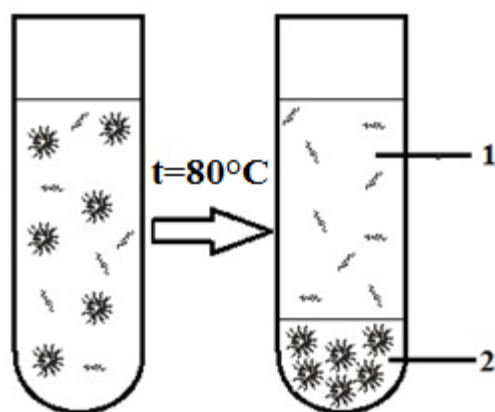


Схема фазового разделения в растворах нПАВ. 1 - фаза, обедненная ПАВ, 2 - фаза, обогащенная ПАВ

Таблица 2. Влияние концентрации E133 и E110 на параметры экстракции при температуре фазового расслоения растворов ОП – 10 ($t=80^{\circ}\text{C}$)

| С (E 133), мг/л | D | R, % | С (E 110), мг/л | D | R, % |
|-----------------|-----|------|-----------------|-----|------|
| 1,0 | 209 | 97,9 | 1,0 | 188 | 98,8 |
| 3,0 | 42 | 83,5 | 3,0 | 48 | 85,1 |
| 5,0 | 10 | 66,3 | 5,0 | 16 | 68,9 |

Из представленных результатов видно, что с понижением концентрации красителей значения коэффициентов распределения (D) и степени извлечения (R, %) увеличиваются. При концентрации E133 и E110 1 мг/л и ОП-10 10 % коэффициент распределения (D) составляет 209 и 188, а степень извлечения (R, %) около 98 % и 99% соответственно.

Исследовано применение системы (ОП – 10) – H_2O - Na_2SO_4 для экстракционного извлечения красителей E102 и E124 из водных растворов при температуре 25°C (изотермический режим).

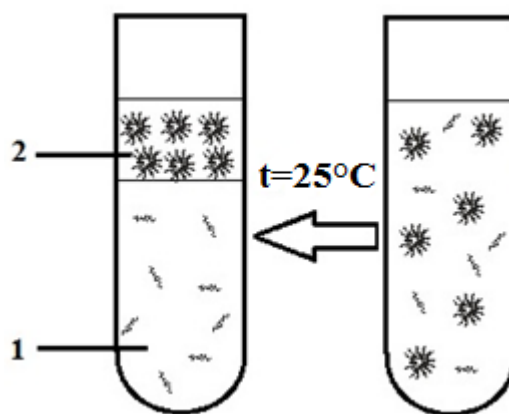


Схема фазового разделения в системе (ОП – 10) – H₂O - Na₂SO₄ 1 - фаза, обедненная ПАВ, 2 - фаза, обогащенная ПАВ

Мицеллярную экстракцию проводили при варьировании концентрации красителей в диапазоне 0,5 – 3 мг/л.

Таблица 3. Влияние концентрации E102 и E124 на параметры экстракции при температуре 25°C

| C (E 102), мг/л | D | R, % | C (E 124), мг/л | D | R, % |
|-----------------|----|------|-----------------|----|------|
| 1,0 | 67 | 98,6 | 1,0 | 78 | 99,2 |
| 3,0 | 29 | 86,5 | 3,0 | 36 | 85,8 |
| 5,0 | 3 | 63,7 | 5,0 | 6 | 64,3 |

Из представленных результатов видно, что с понижением концентрации красителей коэффициенты распределения (D) и степени извлечения (R, %) увеличиваются. При концентрации E102 и E124 1 мг/л и ОП-10 10 % коэффициент распределения (D) составляет 67 и 78, а степень извлечения (R, %) около 98 % и 99% соответственно.

Применение метода производной спектрофотометрии для отдельного определения смеси пищевых красителей E110 и E102

Определение концентрации указанных красителей при совместном присутствии нами проведено в варианте («нулевого пересечения», «zero-crossing»). Измерялись значения производной одного компонента при длине

волны, при которой производная второго компонента принимала нулевое значение. В этом случае в первой производной спектра поглощения смеси компонентов при длине волны, соответствующей «нулевому пересечению», значение производной пропорционально концентрации другого компонента. Отбиралось то значение производной, для которого наблюдалось наиболее точное значение «нулевого пересечения» с осью абсцисс и имелся лучший линейный отклик (градуировочный график). Это значение менее подвержено влиянию концентрации любого другого компонента.

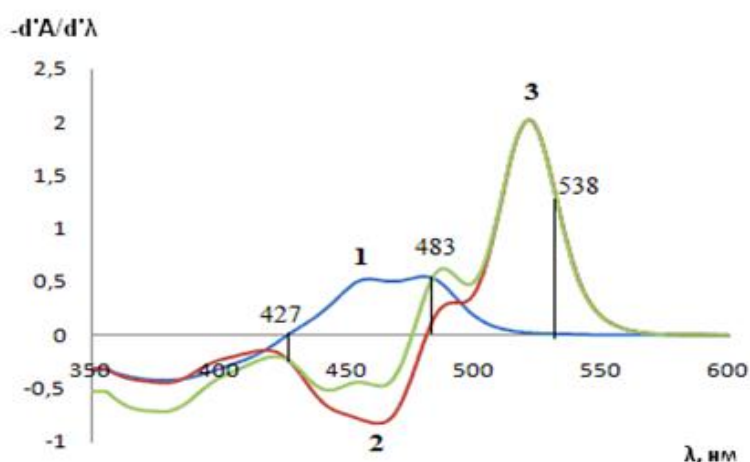


Рисунок 1. Первые производные спектров E102 (1), E110 (2) и их смеси (3)
($C_{E102} = 6$ мг/л, $C_{E110} = 12$ мг/л)

На рис. 1 показаны длины волн “метода нулевого пересечения” ($\lambda_1 = 483$ нм, $\lambda_2 = 427$ нм, $\lambda_3 = 538$ нм).

Таблица 4. Уравнения графиков градуировочных зависимостей
для E102 и E110

| Длина волны, нм | Уравнение | Коэффициент регрессии | Диапазон, мг/мл |
|--------------------|------------------------|--------------------------|-----------------|
| 483 | $y = 0,0878x + 0,0316$ | 0.9995 | 1-15 |
| 427 | $y = 0,0183x + 0,0030$ | 0.9993 | 1-15 |
| 538 | $y = 0,0615x + 0,0173$ | 0.9997 | 1-15 |

Полученные уравнения и коэффициенты регрессии графиков градуировочных зависимостей свидетельствуют об их линейности во всем интервале исследуемых концентраций красителей.

Апробация проведена на модельных смесях. Значения концентраций, полученных с помощью метода производной спектрофотометрии при нулевом пересечении, представлены в таблице 5.

Таблица 5. Результаты определения красителей E102 и E110 в модельных технологических смесях (n=3, P=0,95)

| Введено, мг/л | | Найдено, мг/л | | | Правильность, % | | | δ, % | | |
|---------------|------|---------------|----------|----------|-----------------|--------|--------|--------|------|------|
| E102 | E110 | E102 | E110 | | E102 | | E110 | | E102 | E110 |
| | | 483 нм | 427 нм | 538 нм | 483 нм | 427 нм | 538 нм | 483 нм | | |
| 5,0 | 12,0 | 5,1±0,2 | 12,2±0,2 | 11,7±0,4 | 102 | 102 | 98 | 3,9 | 1,6 | 3,4 |
| 7,5 | 5,0 | 7,4±0,1 | 5,3±0,3 | 4,9±0,3 | 99 | 106 | 99 | 1,4 | 5,7 | 6,1 |

Как видно из таблицы 5 для полученных данных, правильность составляет 98-106%.

Практическое применение изученных систем для определения синтетических пищевых красителей в пищевых продуктах

Таблица 6. Результаты экстракционно – фотометрического определения E133 в энергетическом напитке «Powerade» (n=3; P= 0,95)

| Продукт | Краситель | Введено мг/л | Найдено, мг/л | Sr | δ, % | ОДК, г/т |
|-----------------------------------|-----------|--------------|---------------|------|------|----------|
| Энергетический напиток «Powerade» | E 133 | - | 26,4 ± 0,9 | 0,01 | 3,4 | 10 - 100 |
| | | 10,0 | 36,2 ± 0,5 | 0,03 | 5,1 | |

Таблица 7. Результаты экстракционно – фотометрического определения E124 в желе с малиновым вкусом “Сукориа S. А.”, Россия (n=3; P= 0,95)

| Продукт | Краситель | Введено мг/л | Найдено, мг/л | Sr | δ, % | ОДК, г/т |
|----------------|-----------|-----------------|------------------|------|---------|-------------|
| Желе малиновое | E 124 | - | 35,6±1,6 | 0,02 | 4,5 | - |
| | | 50,0 | 84,1 ± 2,4 | 0,04 | 4,9 | |

Таблица 8. Результаты экстракционно – фотометрического определения E124 в киселе со вкусом вишни “Эстетика Вкуса”, Россия (n=3; P= 0,95)

| Продукт, производитель | Краситель | Введено мг/л | Найдено, мг/л | Sr | δ, % | ОДК, г/т |
|----------------------------|-----------|-----------------|------------------|------|---------|-------------|
| Кисель вишневый, Россия | E 124 | - | 10,2 ± 0,6 | 0,02 | 5,8 | 20 - 50 |
| | | 10,0 | 20,3 ± 0,5 | 0,02 | 4,9 | |

Таблица 9. Результаты экстракционно – фотометрического определения E133 в газированном напитке «Оранж», Россия (n=3; P= 0,95)

| Продукт, производитель | Краситель | Введено мг/л | Найдено, мг/л | Sr | δ, % | ОДК, г/т |
|----------------------------|-----------|-----------------|------------------|------|---------|-------------|
| Напиток «Оранж», Россия | E 110 | - | 49,1 ± 2,5 | 0,03 | 3,8 | 20 - 50 |
| | | 50,0 | 96,6 ± 1,8 | 0,04 | 3,1 | |

Таблица 10. Результаты определения E102 и E110 методом производной спектрофотометрии (напиток “Mirinda”), Россия

| Введено, мг/л | | Найдено, мг/л | | | Погрешность, % | | |
|---------------|------|---------------|----------|----------|----------------|------|-----|
| E102 | E110 | E102 | E110 | | E102 | E110 | |
| | | 483 | 427 | 538 | 483 | 427 | 538 |
| 5,0 | 12,0 | 5,1±0,1 | 11,9±0,3 | 11,6±0,4 | 2,0 | 2,5 | 3,4 |
| 7,5 | 5,0 | 7,4±0,2 | 4,9±0,2 | 4,8±0,3 | 2,7 | 4,1 | 6,3 |

Таблица 11. Результаты определения E102 и E110 методом производной спектрофотометрии (модельные растворы на матрице напитка “7up”).

| Введено, мг/л | | Найдено, мг/л | | | Погрешность, % | | |
|---------------|------|---------------|----------|----------|----------------|------|-----|
| E102 | E110 | E102 | E110 | | E102 | E110 | |
| | | 483 | 427 | 538 | 483 | 427 | 538 |
| 5,0 | 12,0 | 4,9±0,2 | 11,5±0,5 | 12,5±0,5 | 4,1 | 4,3 | 4,0 |
| 7,5 | 5,0 | 7,2±0,4 | 5,1±0,2 | 5,2±0,3 | 5,6 | 3,9 | 5,8 |

Избирательное определение аргинина в смешанных растворах α – аминокислот методом потенциометрического титрования

Протолитические равновесия в водных растворах аргинина (I) и при варьировании pH (II)

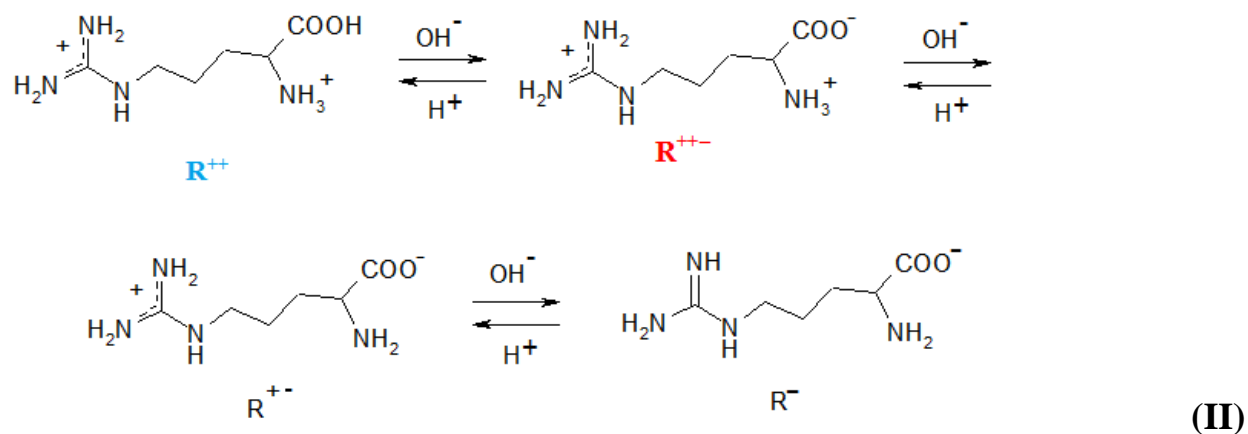
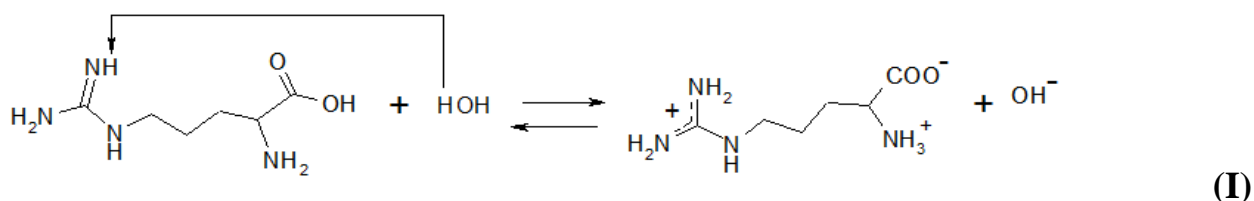


Таблица 12. Определения аргинина в смеси с аланином, валином, глицином, лейцином в водной среде методом «введено-найдено»

| Введено Arg, мг | Найдено Arg, мг | Sr | δ , % |
|-----------------|-----------------|-------|--------------|
| 65,3 | 61,71±2,64 | 0,017 | 5,5 |
| 108,9 | 103,99±3,49 | 0,014 | 4,5 |
| 196,0 | 190,07±2,28 | 0,005 | 3,0 |

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведено обобщение и анализ более 70 библиографических источников по вопросам мицеллярной экстракции пищевых красителей, их дифференциальной спектрофотометрии, применения сенсоров в анализе α – аминокислот.
2. В политермическом режиме ($t = 80^{\circ}\text{C}$) впервые показана возможность применения мицеллярной экстракции с помощью водного раствора (ОП-10) в присутствии электролитов для извлечения красителей E110 и E133 из водных растворов с параметрами D: 188 и 209, R: 98,8 и 97,9 соответственно.
3. В изотермическом режиме ($t = 25^{\circ}\text{C}$) впервые показана возможность применения мицеллярной экстракции с помощью системы (ОП-10) – H_2O – Na_2SO_4 для извлечения красителей E102 и E124 из водных растворов с параметрами D: 67 и 78, R: 98,6 и 99,2 соответственно.
4. Методом производной спектрофотометрии проведено отдельное определение пищевых красителей E102:E110 (5,0:12,0) в модельных технологических растворах, с погрешностью до 7%.
5. Показана возможность применения метода Фирордта для отдельного определения пищевых красителей E102 и E110 в их смешанных растворах с погрешностью до 10%.
6. Разработано 6 оригинальных методик определения E133, E124, E110 и E102 в трех газированных напитках (“Оранж”, “Mirinda”, “7up”), энергетическом напитке (“Powerade”), желе (“Сукориа S. А.”) и киселе (“Эстетика Вкуса”). Правильность методик проверена методом «введено – найдено».
7. На основании концепции Бренстеда – Лоури предложен подход к избирательному рН – титриметрическому определению аргинина в водных растворах моноаминокарбоновых α – аминокислот. Диапазон линейности градуировочного графика 50 -230 мг, погрешность определения до 5,5%.