

Л.А. ОНУЧАК, Н.А. ПИВОВАРОВА, А.В. ЗОТОВА, Н.В. МАКАРОВА

АНАЛИЗ СИНТЕТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ В БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКАХ И СОКАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВОГО МЕТОДА МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ЖИДКОСТНО-АДСОРБЦИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ*

Представлены результаты определения наличия синтетических красителей Тартразина (E102), Желтого хинолинового (E104), Желтого «Солнечный закат» (E110), Кармуазина (E122), Понсо 4R (E124), Красного очаровательного (E129), Синего патентованного V (E131), Индигокармина (E132), Бриллиантового голубого FCF (E133) в лимонадах и соках с использованием нового варианта тонкослойной хроматографии – микроколоночной жидкостно-адсорбционной хроматографии. Разработанный метод отличается более высокой экспрессностью из-за меньшей длины разделяющего слоя сорбента, эффективностью, воспроизводимостью, минимальным расходом сорбента и элюента, отсутствием необходимости использования камер, насыщенных парами элюента.

Сок, лимонад, синтетический краситель, микроколоночная тонкослойная хроматография.

Введение

На данный момент большинство из предлагаемых на рынке красителей, которые используются в пищевой промышленности, имеют искусственное происхождение. Они представляют собой водорастворимые органические соединения, не встречающиеся в природе и не идентифицированные до настоящего времени в натуральных пищевых продуктах.

Правильное применение пищевых красителей подразумевает обязательную маркировку на упаковке продукта и отсутствие превышения допустимых показателей. Однако многие отечественные производители часто указывают на упаковке неверные сведения или вообще умалчивают об использовании синтетических красителей. Окрашенные пищевые добавки употребляются с целью фальсификации, например, для скрытия испорченности продукта, для маскировки эффектов старения, для имитации высокой биологической ценности, для увеличения внешней привлекательности продукта.

До недавнего времени использование синтетических красителей в пищевых продуктах считалось полностью безопасным. Однако исследования последних лет доказывают, что этому вопросу уделялось недостаточное внимание [1]. Например, у детей, употребляющих каждый день пищевые продукты, содержащие синтетические красители, отмечается гиперактивность, повышенная импульсивность и невнимательность [2]. Как показали результаты экспериментальных проверок [3, 4], добавление в пищевые продукты несанкционированных красителей случается нередко. Поэтому актуальной является задача по разработке новых методов контроля наличия синтетических красителей в пищевых продуктах, а определение содержания пищевых красителей необходимо для контроля качества безопасности пищевых продуктов.

Целью данной работы является разработка и оценка аналитических возможностей нового варианта колоночной жидкостно-адсорбционной хроматографии под действием капиллярных сил для определения

синтетических пищевых красителей и сопоставление его с планарной тонкослойной хроматографией.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования были выбраны наиболее популярные среди детей и взрослых на территории Самарской области лимонады и соки: лимонад «Волжанка. Фейхоа», лимонад «Капель с натуральным сиропом тархун», сок «Gold. Апельсиновый», сок для детей «Сады Придонья. Яблоко-вишня».

В качестве метода анализа объектов был выбран метод микроколоночной жидкостно-адсорбционной хроматографии (ЖАХ). В выбранных напитках с помощью метода ЖАХ определялось наличие таких красителей, как Тартразин (E102), Желтый хинолиновый (E104), Желтый «Солнечный закат» (E110), Кармуазин (E122), Понсо 4R (E124), Красный очаровательный (E129), Синий патентованный V (E131), Индигокармин (E132), Бриллиантовый голубой FCF (E133) (марки РОНА «Союзоптторг», г. Санкт-Петербург).

Эти красители относятся к группам азокрасителей, хинолиновых, индигоидных и триарилметановых. В качестве стандартов использовали растворы индивидуальных соединений в 96%-ном этиловом спирте. При анализе пищевых продуктов использовали данные работы [5], в которой предложен способ идентификации синтетических пищевых красителей с получением экстракта, разделяемого на пластинах Sorbfil с помощью элюентов I (диэтиламин : хлороформ : этанол : 25%-ный водный раствор аммиака – 6:5:5:0,7 об.), полученных на основе ГОСТ [6], и II (этанол : изобутиловый спирт : 25%-ный водный раствор аммиака). Пробоподготовку напитка проводили путем добавления сульфата аммония до концентрации 43 % масс., а затем экстрагировали смесью растворителей ацетона и 2-пропанола в соотношении 60:40 % масс. при объемном соотношении смеси растворителей и водного раствора 1:10.

* Работа выполнена при поддержке проекта 02.740.11.0650 ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг.

Для реализации метода микроколоночной ЖАХ использовали капилляры из стекла с внутренним диаметром 0,5 мм и длиной 4,5–5,0 см. В качестве сорбента, помещенного внутрь капилляра, использовали силикагель марки СТХ-1ВЭ (ЗАО «Сорбполимер», г. Краснодар, Россия). При проведении анализа раствор пробы исследуемой системы вносили в начальную часть капиллярной колонки. Заполненную сорбентом капиллярную колонку вертикально погружали одним концом в элюент. Движение элюента и зон сорбатов происходит, как и в планарной ТСХ, под действием капиллярных сил. Аналогично традиционному методу ТСХ проводили измерение расстояний, пройденных веществом и фронтом растворителя. Экспериментально определяемыми величинами были значения фактора задержки R_f исследуемых веществ, рассчитываемые по формуле

$$R_f = b/a, \quad (1)$$

где b – расстояние, пройденное веществом от точки старта, мм; a – расстояние, пройденное фронтом подвижной фазы за это же время, мм.

Для определения конечной величины R_f для каждого из анализов проводили не менее 5 параллельных опытов. Математическую обработку проводили с помощью приемов математической статистики.

Значения R_f исследуемых объектов, полученные с помощью метода микроколоночной ЖАХ, аналогичны значениям R_f , полученным для стандартов, а также значениям, полученным с помощью метода традиционной планарной ТСХ.

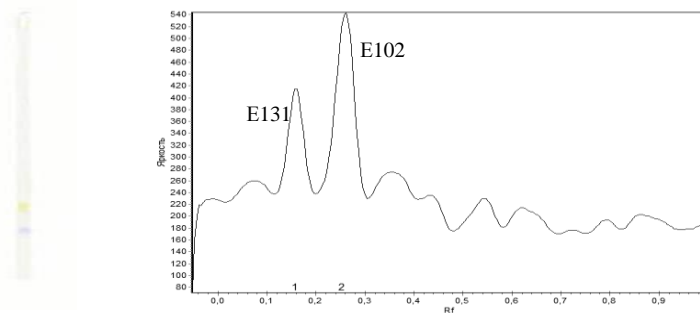
Результаты и их обсуждение

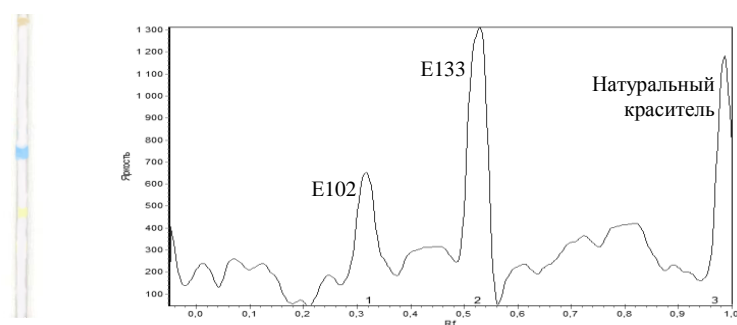
В настоящее время для анализа пищевых красителей используются полярография [7], капиллярный электрофорез [8] или высокоэффективная жидкостная хроматография [9] в модификации с УФ-детектированием [10]. Однако большинство этих методов требуют серьезной пробоподготовки, длительного времени, дорогие в выполнении.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) – один из наиболее простых, эффективных и экономичных видов современной хроматографии, широко используемый во всем мире, в том числе для анализа красителей. Однако традиционная ТСХ имеет ряд недостатков, ограничивающих ее применение: негативное влияние газовой фазы на хроматографическое разделение, использование относительно больших объемов летучих подвижных фаз, относительно невысокая воспроизводимость. Ранее [11] нами предложен и успешно реализован на примере антибактериальных производных нитрофурана новый вариант ТСХ – микроколоночная жидкостно-адсорбционная хроматография (ЖАХ), аналогичная традиционной планарной ТСХ по движущейся силе потока жидкой фазы и идее детектирования зон сорбатов в слое сорбента. Предлагаемый вариант жидкостной хроматографии можно классифицировать также как высокоэффективную одномерную тонкослойную хроматографию в отличие от традиционной планарной ТСХ, так как движение и размытие зон сорбатов происходит в очень тонком слое сорбента, находящегося в пространстве капилляра, что уменьшает вклад гидродинамического эффекта в размытие зон сорбатов.

Для получения изображений зон анализов использовали планшетный сканер Epson Perfection 1260 (Китай), а также съемку цифровой камерой Sony (Япония). Обработку полученных изображений проводили с использованием программного комплекса Sorbfil Videodensitometr TLC Quantitative Evaluation (Ver. 1.7.) (г. Краснодар). Программа производит расчет изображения капиллярной колонки с сорбентом с построением аналоговой кривой (хроматограммы) по отклонению яркости пятен от яркости фона колонки. При расчете предполагается, что размеры и яркость пятна по отношению к фону колонки определяются количеством вещества в пятне.

На рис. 1 представлены изображения капилляров и хроматограммы экстрагированных проб лимонадов, полученные с помощью программного комплекса Sorbfil TLC Videodensitometr, подтверждающие наличие синтетических красителей в напитках.





б

Рис. 1. Капилляры и хроматограммы лимонадов: а – «Волжанка. Фейхоа» (элюент II); б – «Капель. Тархун» (элюент I)

Как видно из данных табл. 1, в соках «Сады Придонья. Яблоко-вишня» и «Gold. Апельсиновый» не заявлены и не обнаружены синтетические красители, тогда как в лимонадах картина несколько иная. В лимонаде «Волжанка. Фейхоа» обнаружены синтетические пищевые красители E102 Тартразин и E131

Синий патентованный V, указанные производителем на этикетке. Лимонад «Капель. Тархун» по информации производителя изготовлен с использованием натурального сиропа тархун, тогда как по данным эксперимента содержит E102 Тартразин и E133 Бриллиантовый голубой FCF.

Таблица 1

Результаты определения наличия синтетических красителей в напитках

Элюент	Напитки	Синтетический пищевой краситель		R_f	
		заявленный на этикетке	обнаруженный	объект	стандарт
Элюент II	Лимонад «Волжанка. Фейхоа»	E102	E102	0,26	0,25
		E131	E131	0,16	0,16
Элюент I	Лимонад «Капель. Тархун»	–	E102 E133	0,32 0,53	0,30 0,51
	Сок «Gold. Апельсин»	–	–	–	–
	Сок «Сады Придонья. Яблоко-вишня»	–	–	–	–

Примечание. Случайная погрешность определения R_f составила $\pm 0,03$.

Проведенные исследования показали необходимость осуществления работ по выявлению и предотвращению появления фальсифицированных напитков на российском рынке и возможность использования микроколоночной ЖАХ для анализа синтетических красителей. Этот метод отличается от метода планарной ТСХ более высокой экономичностью,

минимальным расходом сорбента и растворителя, отсутствием специального оборудования, обеспечивает лучшую воспроизводимость величин R_f (за счет отсутствия влияния состава газовой среды на хроматографический процесс) за меньший промежуток времени при более высокой степени разделения.

Выражаем благодарность профессору В.Г. Березкину за идею данного метода.

Список литературы

1. Hashem, M.M. Immunological studies on Amaranth, Sunset Yellow and Curcumin as food colouring agents in albino rats / M.M. Hashem, A.H. Atta, M.S. Arbid, S.A. Nada, G.F. Asaad // Food and Chem. Toxicology. – 2010. – Vol. 48. – № 6. – P. 1581–1586.
2. Колмакова, Н.С. Последние исследования в области безопасности синтетических красителей. Тенденции развития рынка / Н.С. Колмакова // Пиво и напитки. – 2008. – № 5. – С. 56–57.
3. Еделев, Д.А. Особенности систем раннего оповещения возникновения опасностей в производстве пищевых продуктов и кормов / Д.А. Еделев, В.М. Кантере, В.А. Матисон // Пищевая промышленность. – 2011. – № 3. – С. 35–37.
4. Рудометова, Н.В. Безопасность пищевых продуктов: контроль применения синтетических красителей / Н.В. Рудометова // Пищевая промышленность. – 2010. – № 12. – С. 64–65.
5. Коренман, Я.И. Закономерности экстракции синтетических пищевых красителей в системах гидрофильный растворитель – водно-солевой раствор / Я.И. Коренман, П.Т. Суханов, Н.Ю. Санникова, С.С. Антонец // В мире научных открытий. – 2010. – Ч. 4. – № 1. – С. 63–67.
6. ГОСТ Р 52470-2005. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в алкогольной продукции.
7. Combeau, S. Identification and simultaneous determination of Azorubin, Allura red and Ponceau 4R by differential pulse polarography: application to soft drinks / S. Combeau, M. Chatelut, O. Vittori // Talanta. – 2002. – Vol. 56. – № 1. – P. 115–122.

8. 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. Electroanalytical Chem.* – 2007. – Vol. 601. – № 1–2. – P. 1–7.

9. García-Falcón, M.S. Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up / M.S. García-Falcón, J. Simal-Gándara // *Food Control.* – 2005. – Vol. 16. – № 3. – P. 293–297.

10. Alves, S.P. Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection / S.P. Alves, D.M. Brum, É.C.B. de Anrade, A.D.P. Netto // *Food Chem.* – 2008. – Vol. 107. – № 1. – P. 489–496.

11. Березкин, В.Г. Капиллярная тонкослойная хроматография антибактериальных производных нитрофурана / В.Г. Березкин, Л.А. Онучак, Е.Н. Евтюгина // *Журнал прикладной химии.* – 2009. – Т. 82. – № 2. – С. 317–321.

ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет»,
443011, Россия, г. Самара, ул. Ак. Павлова, 1.
Тел.: (846) 334-54-02
e-mail: onuchak@ssu.samara.ru

ФГБОУ ВПО «Самарский государственный технический университет»,
443100, Россия, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244.
Тел./факс: (846) 278-44-00
e-mail: postman@samgtu.ru

SUMMARY

L.A. Onuchak, N.A. Pivovarova, A.V. Zotova, N.V. Makarova

ANALYSIS OF SYNTHETIC DYES IN SOFT DRINKS AND JUICES WITH THE USE OF NEW METHOD MICROCOLUMN LIQUID-ADSORPTION CHROMATOGRAPHY

Presents the results of determining the presence synthetic colorants Tartrazine (E102), Quinoline Yellow WS (E104), a Sunset Yellow FCF (E110), Azorubine (E122), Ponceau 4R (E124), a Allura red AC (E129), Indigo carmine (E132), Brilliant Blue FCF (E133) in lemonades and juices, using new variant of of thin-layer chromatography – microcolumn liquid-adsorption chromatography with densitometric detection zonessorbate in the sorbent layer. Suggested method had advantages compared to traditional TLC: shorter analysis time, higher reproducibility of retention parameters, high efficiency, higher separation of peaks, low consumption of eluent and adsorbent, absence of chromatographic chambers.

Juice, lemonade, a synthetic colour, microcolumn thin-layer chromatography.

Samara State University
1, Ak. Pavlova st., Samara, 443011, Russia
Phone/Fax: +7(846) 334-54-02
e-mail: onuchak@ssu.samara.ru

Samara State Technical University
244, Street Molodogvardeyskaya, Samara, 443100, Russia
Phone/Fax: +7(846) 278-44-00
e-mail: postman@samgtu.ru