

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА
Факультет хімії та фармації
Кафедра аналітичної та токсикологічної хімії

Кваліфікаційна робота

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

«Спектрофотометричне визначення Кармоазину та Понсо 4R після їх міцелярно-екстракційного концентрування»

«Spectrophotometric determination of Carmoisine and Ponceau 4R after their
cloud point extraction»

Виконав: здобувач денної форми навчання
спеціальності 102 Хімія

Освітня програма «Фармацевтична хімія»

Гребенюк Денис Русланович

Керівник: к.х.н., доц. Сергій ТОПОРОВ _____
(підпис)

Рецензент: д.х.н., доц. Тетяна КІОСЕ _____
(підпис)

Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
аналітичної та токсикологічної хімії
№ ____ від _____ 2025 р.

Захищено на засіданні ЕК № _____
протокол № ____ від _____ 2025 р.
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою / за шкалою ECTS / бали)

Завідувач кафедри
_____ к.х.н., доц. Тетяна ЩЕРБАКОВА _____ д.х.н., проф. Ольга ШЕВЧЕНКО
(підпис) (підпис)

Одеса – 2025

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційну роботу для здобуття ступеня вищої освіти «магістр» зі спеціальності 102 Хімія виконано на базі кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Одеського національного університету імені І.І. Мечникова й присвячено дослідженню умов міцелярно-екстракційного концентрування та фотометричного визначення харчових азобарвників кармоазину та понсо 4R. Дана кваліфікаційна робота є частиною досліджень, які провадяться за науково-дослідною темою кафедри № 620 "Нові "зелені" комбіновані спектроскопічні методи аналізу та їх аналітичне застосування" (№ держ. реєстрації 0125U000871).

Мета роботи: оптимізація умов міцелярно-екстракційного вилучення у фазу неіоногенної ПАР Тритону X-100 іонних асоціатів азобарвників кармоазину та понсо 4R з катіонними ПАР.

В результаті даної роботи досліджено процес міцелярної екстракції синтетичних харчових азобарвників кармоазину та понсо 4R. Встановлено оптимальні умови їх міцелярно-екстракційного концентрування та розраховані основні аналітичні характеристики запропонованої методики. Розроблена методика спектрофотометричного визначення кармоазину та понсо 4R після їх міцелярно-екстракційного концентрування, яка є простою, чутливою та екологічно безпечною.

Можлива область визначення мікрокількостей синтетичних харчових барвників.

Ключові слова: спектрофотометрія, міцелярна екстракція, поверхнево-активні речовини, азобарвники.

Кваліфікаційна робота складається з: 45 стор. машинописного тексту, 12 рисунків, 5 таблиць та 59 використаних джерел літератури.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
 РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	 7
1.1. Класифікація, застосування та вплив на здоров'я людини барвників...	7
1.2. Вибрані хроматографічні та електрофоретичні методи визначення барвників.....	10
1.3. Сорбційне та екстракційне концентрування та визначення харчових барвників спектроскопічними методами.....	13
 РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	 16
2.1. Застосовані реактиви та апаратура	16
2.2. Методики проведення експерименту	18
<i>2.2.1. Методика вибору оптимального рН міцелярної екстракції азобарвників.....</i>	<i>18</i>
<i>2.2.2. Методика вивчення впливу природи катіонного ПАР на міцелярну екстракцію азобарвників</i>	<i>19</i>
<i>2.2.3. Методика дослідження впливу концентрації катіонного ПАР на міцелярну екстракцію барвників.....</i>	<i>20</i>
<i>2.2.4. Методика вивчення впливу природи модифікатору на міцелярну екстракцію азобарвників</i>	<i>21</i>
<i>2.2.5. Методика вивчення впливу концентрації модифікатору на міцелярну екстракцію азобарвників.....</i>	<i>22</i>
<i>2.2.6. Методика оптимізації умов міцелярної екстракції азобарвників із залученням планування експерименту за методом латинських квадратів</i>	<i>23</i>

2.2.7. Методика побудови градувальних графіків для визначення азобарвників у розчинах	23
2.3. Результати та їх обговорення.....	24
2.3.1. Спектрофотометричні характеристики синтетичних харчових барвників Кармоазину та Понсо 4R у водних розчинах....	24
2.3.2. Оптимальні умови міцелярної екстракції синтетичних харчових барвників Кармоазину та Понсо 4R	27
2.3.3. Застосування міцелярно-екстракційного концентрування для спектрофотометричного визначення Кармоазину та Понсо 4R	34
ВИСНОВКИ	37
ЛІТЕРАТУРА	38

ВСТУП

Синтетичні харчові барвники відіграють значну роль в харчовій промисловості оскільки сприйняття споживачем поняття якості харчових продуктів тісно пов'язане із органолептичними показниками. Індустріалізація продовольчих систем у харчовій промисловості суттєво збільшилась із використанням різноманітних добавок, зокрема таких, як харчові барвники, консерванти, стабілізатори й підсолоджувачі. Вони застосовуються для фарбування напоїв, кондитерських, хлібобулочних, молочних товарів й іншої продукції. Нерозчинні у воді барвники використовуються для фарбування харчових, фармацевтичних, косметичних продуктів, які містять у своєму складі жири та масла. Натуральні або природні барвники є нестійкими та легко піддаються деструкції, а їх синтетичні аналоги дозволяють одержати інтенсивний колір для відповідних продуктів харчування, який залишається стійким при зберіганні [1]. Варто зауважити, що витрати, котрі пов'язані із виробництвом синтетичних харчових барвників є значно нижчими порівняно з одержанням натуральних барвників. Таким чином, зазначені переваги стимулюють виробників до використання синтетичних барвників, незважаючи на численні дані, що підтверджують їх негативний вплив на здоров'я людини. Наприклад, синтетичні харчові барвники можуть викликати серйозні порушення: нудоту, головний біль, виразки, рак легенів, гіперактивність, анемію [2], а також впливають на зір, шкіру, слизові оболонки тощо.

Виходячи з вище викладеного, виникає необхідність контролювати вміст СХБ в харчових продуктах. Для цієї мети використовують різні фізико-хімічні методи, зокрема: спектрофотометрію [3], хроматографію [4], міцелярну екстракцію [5] тощо.

Найбільш поширену групу складають азобарвники, які є синтетичними сполуками, молекули яких містить одна або більше азогруп. Загальновідомими представниками азосполук є метиловий оранжевий, конго червоний, амарант, судан, кармоазин, понсо 4R та інші [6, 7].

Таким чином, метою даної роботи є оптимізація умов міцелярно-екстракційного вилучення у фазу неіоногенної ПАР Тритону Х-100 іонних асоціатів азобарвників Кармоазину (КАН) та Понсо 4R з катіонними ПАР.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Встановити оптимальні умови вилучення іонних асоціатів КАН та Понсо 4R в міцелярну фазу;
2. Вивчити вплив природи та концентрації катіонної ПАР на утворення та вилучення їх іонних асоціатів з КАН та Понсо 4R;
3. Обчислити основні хіміко-аналітичні характеристики іонних асоціатів КАН та Понсо 4R в міцелярній фазі;
4. Апробувати пропонований спосіб концентрування азобарвників КАН та Понсо 4R для їх спектрофотометричного визначення в реальних об'єктах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kucharska M. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes / M. Kucharska, J. Grabkab // *Talanta*. – 2015. – 80. – P. 1045–1051.
2. Soponar F. Quantitative determination of some food dyes using digital processing of images obtained by thin-layer chromatography / F. Soponar, A. Mot, C. Sarbu // *J. Chrom. A*. – 2018. – 1188. – P. 295–300.
3. Gerasimov A. V. Use of computer-assisted color treatment of chromatograms in the TLC determination of Tartrazine / A. V. Gerasimov // *J. Anal. Chem.* – 2002. - V. 58. - N. 3. – P. 241–243.
4. Gerasimov A. V. Use of the software processing of scanned chromatogram images in quantitative planar chromatography / A. V. Gerasimov // *J. Anal. Chem.* – 2003. - V. 59. - N. 4. – P. 392–397.
5. Sayar S. First-derivative spectrophotometric determination of Ponceau 4R, Sunset Yellow and Tartrazine in confectionery products / S. Sayar, Y. Ozdemir // *Food Chem.* – 1993. – 61. – P. 367–372.
6. Бевзюк К.В. Стан у розчинах, сорбційне вилучення та вольтамперометричне визначення синтетичних харчових барвників : дис. ... канд. хім. наук: 02.00.02. – аналітична хімія. Ужгород, 2019. 178 с.
7. Andrade F.I.d. Determination of synthetic food dyes in commercial soft drinks by TLC and ion-pair HPLC / F.I.d. Andrade, M.I.F. Guedes, G.P.Vieira, F.N.P. Mendes, P.A.S. Rodrigues, C.S.C. Maia, M.M.M. Ávila, L.d.M. Ribeiro // *Food Chem.* – 2015. – 157. – P. 193–198.
8. Чмиленко Ф. О. Ідентифікація барвників в напоях методом високоефективної рідинної хроматографії / Ф. О. Чмиленко, Н. П. Мінаєва, О.В. Сандомирський, Л.П. Сидорова // *Харчова промисловість*. – 2008. – № 7. – С. 17-19.

9. Perez-Urquiza M., Determination of sulphonated dyes in water by ion-interaction high-performance liquid chromatography / M. Perez-Urquiza, M.D. Prat, J.L. Beltran // *J. Chrom. A.* – 2000. – 871. – P. 227–234.
10. Constantinos K. Development and validation of a rapid HPLC method for the determination of five banned fat-soluble colorants in spices using a narrow-bore monolithic column / K. Constantinos, S. Fotini, D. Paraskevas, R. Pantelis, R. Efstratios // *Talanta.* – 2015. – 84. – P. 480–486.
11. Karanikolopoulos G. Determination of synthetic food colorants in fish products by an HPLC-DAD method / G. Karanikolopoulos, A. Gerakis, K. Papadopoulou, I. Mastrantoni // *Food Chem.* – 2015. – 177. – P. 197–203.
12. Bento W. Simultaneous determination of synthetic colorants in yogurt by HPLC / W. Bento, B. Lima, A. Paim // *Food Chem.* – 2015. – 183. – P. 154–160.
13. Alves S. Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection / S. Alves, D. Brum, E. Branco de Andrade, A. Netto // *Food Chem.* – 2018. – 107. – P. 489–496.
14. Gosetti F. Photodegradation of E110 and E122 dyes in a commercial aperitif a high performance liquid chromatography–diode array–tandem mass spectrometry study / F. Gosetti, P. Frascarolo, E. Mazzucco, V. Gianotti, M. Bottaro, M.C. Gennaro // *J. Chrom. A.* – 2018. – 1202. – P. 58–63.
15. Yoshioka N. Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection / N. Yoshioka, K. Ichihashi // *Talanta.* – 2018. – 74. – P. 1408–1413.
16. Miniotti K. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector / K. Miniotti, C. Sakellariou, N. Thomaidis // *Anal. Chim. Acta.* – 2017. – 583. – P. 103–110.
17. Kiseleva M. G. Optimization of conditions for the HPLC determination of synthetic dyes in food / M. G. Kiseleva, V. V. Pimenova, K. I. Eller // *J. Anal. Chem.* – 2003. - V. 58. - N. 7. – P. 766–772.

18. Fuh M. Determination of sulphonated azo dyes in food by ion-pair liquid chromatography with photodiode array and electrospray mass spectrometry detection / M. Fuh, K. Chia // *Talanta*. – 2002. – 56. – P. 663–671.
19. Miniotti K. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector / K. Miniotti, C. Sakellariou, N. Thomaidis // *Anal. Chim. Acta*. – 2017. – 583. – P. 103–110.
20. Lehmann G. Rapid method for detection and identification of synthetic water-soluble coloring matters in foods and drugs / G. Lehmann, P. Collet, H. Hahn, M. Ashworth // *Jaoac*. – 1970. – 53. – P. 1182–1189.
21. Wever K.M. High-performance liquid chromatographic detection and quantitation of synthetic acid fast dyes with a diode array detector / K.M. Wever, E.J. Neale // *J. Chrom. A*. – 1986. – 354. – P. 486–489.
22. Vidotti E.C. Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples / E.C. Vidotti, W.F. Costa, C.C. Oliveira // *Talanta*. – 2016. – 68. – P. 516–521.
23. Gosetti F. Identification of photodegradation products of Allura Red AC (E129) in a beverage by ultrahigh performance liquid chromatography–quadrupole-time-of-flight mass spectrometry / F. Gosetti, U. Chiuminatto, E. Mazzucco, G. Calabrese, M. C. Gennaro, E. Marengo // *Anal. Chim. Acta*. – 2015. – 746. – P. 84–89.
24. Gosetti F. Non-target screening of Allura Red AC photodegradation products in a beverage through ultrahigh performance liquid chromatography coupled with hybrid triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry / F. Gosetti, U. Chiuminatto, E. Mazzucco, G. Calabrese, M. C. Gennaro, E. Marengo // *Food Chem*. – 2015. – 136. – P. 617–623.
25. Soylak M. Spectrophotometric determination of trace levels of allura red in water samples after separation and preconcentration / M. Soylak, Y. E. Unsal, M. Tuzen // *Food and Chemical Toxicology*. – 2015. – 49. – P. 1183–1187.

26. Turak F. Simultaneous determination of allura red and ponceau 4r in drinks with the use of four derivative spectrophotometric methods and comparison with high-performance liquid chromatography / F. Turak, M. U. Ozgur // *Jaoac.* – 2015. – 96. – P. 1377–1386.
27. Giovine L.D. Determination of synthetic dyes in ice-cream by capillary electrophoresis / L.D. Giovine, A. P. Bocca // *Food Control.* – 2003. – 14. – P. 131–135.
28. Guo, Y. Electroanalytical method of Acid red 1 and its supramolecular system with cyclodextrins / Guo, Y., Pan, J., Li, X., & Lu, F. // *Dyes and Pigments*, 2015. 70(1), 27–30.
29. Ryvolová, M. Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection / Ryvolová, M., Táborský, P., Vrábel, P., Krásenský, P., & Preisler, J.// *Journal of Chromatography A.* 2016. 1141(2), 206–211.
30. Perez-Urquiza M. Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis / M. Perez-Urquiza, J.L. Beltran // *J. Chrom. A.* – 2000. – 898. – P. 271–275.
31. McKone H.T. Separation and identification of some FD&C dyes by TLC. An undergraduate laboratory experiment / H.T. McKone, G.J. Nelson. // *J. Chem. Ed.* – 1976. – V. 53. – N.11. – P. 722.
32. Puttemans M. Colour additives. HPLC and colorimetric determination of synthetic dyes in gelatin-containing sweets, following polyamide adsorption and ion-pair extraction with tri-n-octylamine / M. Puttemans, L. Dryon, D. Massart.. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* – 1983. – V. 66. – N. 4. – P. 1039–1044.
33. Kucharska, M. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes / Kucharska, M., & Grabka, J. // *Talanta.* 2009. 80(3), 1045–1051. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.032>.
34. Altunöz, S. Determination of tartrazine and Ponceau-4R in various food samples by Vierordt's Method and Ratio Spectra First-Order Derivative UV

Spectrophotometry / Altunöz, S., & Toptan, S. // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2002. 15(6), 667–683. <https://doi.org/10.1006/jfca.2002.1072>

35. Botelho K. G. Determination of allura red dye in hard candies by using digital images obtained with a mobile phone and N-PLS / Botelho K. G., Dantas C.F., Marcelo M.S. // *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. – 2017. – 167. – P. 44-49.

36. Benvidi A. Spectrophotometric determination of synthetic colorants using PSO–GA–ANN / A. Benvidi // *Food Chemistry*. – 2017. – 220. – P. 377–384.

37. Dotto G.L. New physicochemical interpretations for the adsorption of food dyes on chitosan films using statistical physics treatment / G.L. Dotto, L.A.A. Pinto, M.A. Natcha, S. Knani // *Food Chem.* – 2015. – 171. – P. 1–7.

38. Койчева А. Силікагель, імпрегнований хлоридом цетилпіридинію, як модифікатор вугільно-пастового електроду для сумісного визначення деяких азобарвників / Койчева А., Бевзюк К., Плюта К., Чеботарьов О., Снігур Д. // VIII Український з'їзд з електрохімії та VI науково-практичний семінар студентів, аспірантів і молодих учених «Прикладні аспекти електрохімічного аналізу», 4-7 червня 2018.: Зб. наук. праць. Частина 2. – Львів, 2018. – С. 211-213.

39. Dotto G.L. Adsorption of food dyes onto chitosan: Optimization process and kinetic / G.L. Dotto, L.A.A. Pinto // *Carbohydrate Polymers*. – 2015. – 84. – P. 231–238.

40. Бевзюк К. Сорбційне вилучення деяких харчових азобарвників силікагелями, модифікованими хлоридом цетилпіридинію / Бевзюк К., Чеботарьов О., Койчева А., Чумак Н., Снігур Д. // XVI Наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2017», 28-31 травня 2017 р.: зб. наук. пр. – Львів, 2017 – А15.

41. Vargas A. Kinetic and equilibrium studies: Adsorption of food dyes Acid Yellow 6, Acid Yellow 23, and Acid Red 18 on activated carbon from flamboyant pods / A. Vargas, A. Cazetta, A. Martins, J.Moraes, E. Garcia, G. Gauze, W. Costa, V. Almeida // *Chemical Engineering Journal*. – 2015. – 181-182. – P. 243–250.

42. Ramazanova G. R. Adsorption of Sunset Yellow FCF Food Dye from aqueous solutions and its determination by diffuse reflectance spectroscopy / G. R. Ramazanova, T. I. Tikhomirova, V. V. Apyari // *J. Anal. Chem.* – 2015. - V. 70. - N. 6. – P. 685–690.
43. Bevziuk, K. Adsorption of anionic food azo dyes from aqueous solution by silica modified with cetylpyridinium chloride / Bevziuk, K., Chebotarev, A., Koicheva, A., & Snigur, D. // *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*. 2018. 149(12), 2153–2160. <https://doi.org/10.1007/s00706-018-2301-0>
44. Vidotti E.C. Simultaneous determination of food dyes by first derivative spectrophotometry with sorption onto polyurethane foam / E.C. Vidotti, J.C. Cancino, C.C. Oliveira, M. Rollemberg // *Analytical sciences.* – 2005. - 21. – P. 149–153.
45. Altinoz S. Simultaneous determination of Indigotin and Ponceau-4R in food samples by using Vierordt's method, ratio spectra first order derivative and derivative UV spectrophotometry / Altinoz S., Toptan S. // *Journal of food composition and analysis.* – 2003. - 16. – P. 517–530.
46. Ozgur M. The simultaneous determination of Quinoline Yellow (E-104) and Sunset Yellow (E-110) in syrups and tablets by second derivative spectrophotometry / M. Ozgur, I. Koyuncu // *Turk. J. Chem.* – 2002. - 26. – P. 501–508.
47. Dinc E. Spectrophotometric multicomponent determination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor-ratio spectra derivative, inverse least-squares and principal component regression methods / E. Dinc, E. Baydan, M. Kanbur, F. Onur // *Talanta.* – 2002. - 58. – P. 579–594.
48. Ni Y. Simultaneous kinetic spectrophotometric analysis of five synthetic food colorants with the aid of chemometrics / Y. Ni, Y. Wang, S. Kokot // *Talanta.* – 2009. - 78. – P. 432–441.
49. Capitan F. Determination of colorant matters mixtures in foods by solid-phase spectrophotometry / F. Capitan, L.F. Capitan-Vallvey, M.D. Fernandez, I. de Orbe, R. Avidad // *Anal. Chim. Acta.* – 1996. - 331. – P. 141–148.

50. Capitan-Vallvey L. F. Simultaneous determination of the colorants tartrazine, ponceau 4R and sunset yellow FCF in foodstuffs by solid phase spectrophotometry using partial least squares multivariate calibration / L.F. Capitan-Vallvey, M.D. Fernandez, I. de Orbe, R. Avidad // *Talanta*. – 1998. - 47. – P. 861–868.
51. Capitan-Vallvey L. F. Simultaneous determination of the colorants Sunset Yellow FCF and Quinoline Yellow by solid-phase spectrophotometry using partial least squares multivariate calibration / L.F. Capitan-Vallvey, M.D. Fernandez, I. de Orbe, J.L. Vilches, R. Avidad // *Analyst*. – 1997. - 122. – P. 351–354.
52. Жуковецька О.М. Хімічно-ініційована міцелярна екстракція та її застосування для концентрування і визначення Германію(IV) спектроскопічними методами : дис. ... докт. філософ.: 102 – Хімія. Одеса, 2024. 158 с.
53. Чеботарьов О. М. Кислотно-основні та спектрофотометричні характеристики 5-гідрокси-1-(п-сульфофеніл)-4-[(п-сульфофеніл)-азо]-піразол-3-карбонової кислоти в розчинах / О.М. Чеботарьов, К.В. Бевзюк, Д.В. Снігур // *Укр. хім. журн.* – 2014. – Т. 80, № 6. – С. 79-84.
54. Bevziuk K. Spectrophotometric and theoretical studies of the protonation of Allura Red AC and Ponceau 4R / K. Bevziuk, A. Chebotarev, D. Snigur, Y. Bazel, M. Fizer, V. Sidey // *Journal of Molecular Structure*. – 2017. – 1144. – P. 216–224.
55. Bevziuk K. Protonation of Patented Blue V in aqueous solutions: theoretical and experimental studies / Bevziuk K., Chebotarev A., Fizer M., Klochkova A., Pliuta K., Snigur D. // *Journal of Chemical Sciences*, 2018. 130(2). <https://doi.org/10.1007/s12039-017-1411-2>
56. Snigur D. Protonation of quinoline yellow WS in aqueous solutions: Spectroscopic and DFT theoretical studies / Snigur D., Fizer M., Chebotarev A., Lukianova O., Bevziuk K. // *Journal of Molecular Liquids*. 2020. 327, 114881. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114881>
57. Snigur D. Spectroscopic and computational studies of erythrosine food dye protonation in aqueous solution / Snigur D., Fizer M., Chebotarev A., Lukianova O.,

Zhukovetska O. // Dyes and Pigments. 2021 198, 110028.
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.110028>

58. Snigur D. Recent innovations in cloud point extraction towards a more efficient and environmentally friendly procedure / Snigur D., Azooz E. A., Zhukovetska O., Guzenko O., Mortada W. // TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2023. 164, 117113. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117113>

59. Snigur D. Low-density solvent-based liquid-liquid microextraction for separation of trace concentrations of different analytes / Snigur D., Azooz E. A., Zhukovetska O., Guzenko O., Mortada W. // TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2023. 167, 117260. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117260>