

Фотометрическое определение эритрозина в присутствии кислотных синтетических красителей в пищевой продукции

***Е.М. Плешак¹, С.М. Лещев², Е.И. Полянских¹, Л.Л. Бельшева¹**

¹Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,
Республика Беларусь, 220012, г. Минск, ул. Академическая, 8.

²Белорусский государственный университет,
Республика Беларусь, 220050, г. Минск, ул. Ленинградская, 14.

*Адрес для переписки: Плешак Екатерина Михайловна, E-mail: epleshak@mail.ru

Поступила в редакцию 04 мая 2023 г., после доработки – 13 мая 2023 г.

В Республике Беларусь и странах ЕАЭС синтетический краситель Е 127 (эритрозин) запрещен к использованию при производстве пищевой продукции. Для контроля содержания данной добавки необходимы точные и экспрессные методики определения. С целью разработки методики определения эритрозина в присутствии пищевых синтетических красителей (Е 102, Е 104, Е 110, Е 122, Е 123, Е 124, Е 128, Е 129, Е 131, Е 132, Е 133, Е 142, Е 143, Е 151, Е 155) изучена экстракция красителей органическими растворителями из водных растворов с установлением их коэффициентов распределения. На основании полученных данных в присутствии вышеупомянутых красителей предложена методика определения Е 127 без использования дорогостоящего хроматографического оборудования. Методика основана на пробоподготовке, заключающейся в селективном извлечении Е 127 из водного раствора пищевой матрицы (рН=2) с помощью хлороформа. Другие синтетические красители при этом не экстрагировались. Далее экстракт упаривали, растворяли в буферном растворе при рН=9 и фотометрировали при длине волны 527 нм. В случае наличия в пищевой матрице гидрофобных органических красителей (каротин, ликопин) проводили их предварительное экстракционное удаление хлороформом при рН=9 водного раствора, в данных условиях все красители, включая Е 127, не извлекались. Предел количественного определения предложенным методом для жидких пищевых продуктов составил 0.05 мг/кг, для твердых – 0.13 мг/кг, стандартное отклонение – 2 - 3 %.

Ключевые слова: синтетические красители, экстракция, пищевая продукция, эритрозин, Е 127, фотометрия.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2023, vol. 27, no. 2, pp. 108-112

DOI:10.15826/analitika.2023.27.2.004

Photometric determination of erythrosin in the presence of synthetic acidic dyes in food products

***Y.M. Pliashak¹, S.M. Leshev², A.I. Palianskikh¹, L.L. Belysheva¹**

¹Republican Unitary Enterprise "Scientific Practical Center of Hygiene",
8 Akademicheskaya Str., Minsk, 220012, Republic of Belarus

²Belarusian State University, 14 Leningradskaya Str., Minsk, 220050, Republic of Belarus

*Corresponding author: Yekatsiaryna M. Pliashak, E-mail: epleshak@mail.ru

Submitted 04 May 2023, received in revised form 13 May 2023

In Republic of Belarus and the countries of the EACU, the synthetic dye E 127 (erythrosine) is prohibited for the use in the production of food products. To control the content of this additive, accurate and rapid methods of determination are required. In order to develop a methodology for determination of erythrosin in the presence of food synthetic dyes (E 102, E 104, E 110, E 122, E 123, E 124, E 128, E 129, E 131, E 132, E 133, E 142, E 143, E 151, E 155) the extraction of dyes with organic solvents from aqueous solutions was studied and their distribution coefficients were determined. Based on the data obtained in the presence of

the above dyes, a method for determining E 127 without the use of expensive chromatographic equipment was proposed. The technique is based on sample preparation, which consists of the selective extraction of E 127 from an aqueous solution of the food matrix (pH=2) using chloroform. Other synthetic dyes were not extracted. Next, the extract was evaporated, dissolved in a buffer solution at pH=9 and photometrically measured at the wavelength of 527 nm. In the presence of hydrophobic organic dyes (carotene, lycopene) in the food matrix, their preliminary extraction was carried out from the aqueous solution at pH=9 with chloroform; under these conditions all dyes, including E 127, were not extracted. The limit of quantitative determination by the proposed method for liquid food products was 0.05 mg/kg, for solid – 0.13 mg/kg, the standard deviation was 2–3 %.

Key words: synthetic dyes, extraction, food products, erythrosin, E 127, photometry.

ВВЕДЕНИЕ

Синтетические красители (СК) широко применяются при производстве пищевой продукции. Так, в промышленности их используют для придания определенной окраски, что позволяет создать широкий ассортимент пищевой продукции, отличающейся по цвету, восстановить изменившуюся окраску продукта при технологическом процессе или хранении, усилить интенсивность естественной окраски продукта. В соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза [1] разрешены к использованию тринадцать СК на уровне 50-500 мг/кг, однако E 127 запрещен к использованию в любой пищевой продукции. На рис. 1 представлена структурная формула эритрозина.

Для контроля за содержанием E 127 необходимы простые в исполнении методики, где правильность получаемых результатов достигается полнотой извлечения аналита из пищевой матрицы, поэтому пробоподготовка является ключевой стадией.

Авторы работы [2] извлекают эритрозин из пищевой матрицы буферным раствором со значением pH=7.4 с последующими количественным селективным определением методом иммуноферментного анализа. В работах [3 – 5] СК (в том числе E 127) выделяют из пробы водно-метанольным или метанольным раствором аммиака, проводят центрифугирование, декантирование, количественное определение СК с помощью ВЭЖХ. Авторы [6, 7] в жидких продуктах проводят дегазацию (если необходимо), разбавление водой, центрифугирование образца и количественное определение с помощью ВЭЖХ. Извлечение E 127 из твердой пищевой матрицы в [8, 9] происходит с помощью ацетонитрила с последующим количественным определением методом ВЭЖХ. Согласно [10, 11] определение E 127 в присутствии других красителей основано на сорбции синтетических красителей из раствора ана-

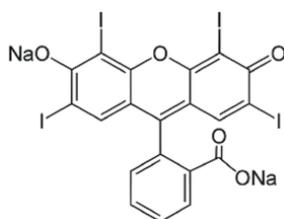


Рис. 1. Структурная формула эритрозина

Fig. 1. Structural formula of erythrosin

лизируемой пробы твердыми сорбентами, десорбции аммиаком, удалении последнего выпариванием и последующей идентификацией синтетических красителей хроматографированием в тонком слое сорбента (ТСХ). В работе [12] пробоподготовка осуществляется за счет использования химически модифицированного кремнезема, количественное определение – УВЭЖХ.

Недостатками данных методик являются трудоемкость, длительность, потребность в специальных реагентах и дорогостоящем лабораторном оборудовании – жидкостном хроматографе, центрифуге, ультразвуковой бане, установке для проведения ТСХ. Это не позволяет проводить быстрое и селективное определение эритрозина.

Целью данной работы было создание экстракционно-фотометрической методики селективного определения E 127 в присутствии кислотных ионогенных синтетических красителей (E 102, E 104, E 110, E 122, E 123, E 124, E 128, E 129, E 131, E 132, E 133, E 142, E 143, E 151, E 155) в пищевой продукции, позволяющей снизить трудоемкость анализа, удешевить и ускорить проведение исследования за счет отказа от сложного оборудования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и оборудование

В работе были использованы следующие вещества: E 127 (эритрозин, 86.0%, молекулярная формула $C_{20}H_{14}O_5 \cdot 2Na$, Chem-ImpexInternational); E 102 (тартразин, 85.0 %, AcrosOrganics); E 104 (желтый хинолиновый, 85.1 %, Chem-ImpexInternational); E 110 (желтый солнечный закат, 90.0 %, SigmaAldrich); E 122 (азорубин, 90.0 %, Sigma-Aldrich); E 123 (амарант 85.0 %, Sigma-Aldrich); E 124 (понсо 4R, 99.0 %, Sigma-Aldrich); E 128 (красный 2G, 98.0%, Sigma-Aldrich); E 129 (красный очаровательный AC, 80.0 %, Sigma-Aldrich); E 131 (синий патентованный V, 87.44 %, Chem-ImpexInternational); E 132 (индигокармин, 89.0 %, Sigma-Aldrich); E 133 (блестящий синий FCF, 86.2 %, Chem-Impex International); E 142 (зеленый S, 86.5 %, Chem-Impex International); E 143 (зеленый прочный FCF, 96.0 %, Chem-ImpexInternational); E 151 (бриллиантовый черный PN, 82.9 %, ChemImpexInternational); E 155 (коричневый HT, 71.3 %, Institute of Leather Industry); хлороформ (х. ч., Экос-1); изоамиловый

спирт, (х. ч., Экос-1); боратный буферный раствор, приготовленный согласно [13].

Использовали рабочие водные растворы красителей с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ М при pH=6.

В работе использовано следующее оборудование:

1. спектрофотометр Cary-50 (Varian, США);
2. весы аналитические AC-210P (Radwag, Польша);
3. pH-метр Orion Star A111 (Thermo Scientific, США).

Оценка коэффициентов распределения красителей в процессах экстракции

Для определения коэффициентов распределения в центрифужные пробирки добавляли по 2 см^3 водных растворов красителей концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ М и по 2 см^3 органического растворителя, проводили процесс экстракции в течение 2 мин. Далее отбирали водную фазу в кварцевую кювету и измеряли значение оптической плотности при длине волны 527 нм (рис.2). Предварительно устанавливали значение оптической плотности исходного раствора красителя.

Расчет коэффициентов распределения D производили по формуле:

$$D = \frac{[Kp]_{\text{орг}}}{[Kp]_{\text{вод}}} = \frac{A_{\text{исх}} - A_{\text{пэ}}}{A_{\text{пэ}}} \cdot \frac{V_{\text{в}}}{V_{\text{о}}}, \quad (1)$$

где $[Kp]_{\text{орг}}$ и $[Kp]_{\text{вод}}$ – равновесные концентрации красителей в органической и водной фазах соответственно;

$A_{\text{исх}}$ и $A_{\text{пэ}}$ – значения исходных оптических плотностей красителей и после экстракции соответственно;

$V_{\text{в}}$ и $V_{\text{о}}$ – объемы равновесных водной и органической фаз, см^3 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было найдено, что изоамиловый спирт и хлороформ плохо извлекают СК из водных растворов (pH = 6). Наиболее активным является изоамиловый спирт, который может частично извлекать E 104, в частности, коэффициент распределения составляет 1, а также E 127 ($D = 250$). Коэффициенты распределения других СК не превышают 0.01. Очевидно, что для хлороформа эти значения будут намного меньше. Эритрозин эффективно извлекается в виде ионного ассоциата с натрием вследствие его очень высокой гидрофобности, которая связана с наличием в молекуле объемных углеводородных заместителей и четырех крупных атомов йода. Результаты эксперимента по извлечению указанных красителей изоамиловым спиртом представлены на рис. 3.

Изоамиловый спирт не может быть подходящим экстрагентом для эритрозина, поскольку мало селективен, имеет резкий запах, заметно растворяется в воде и растворяет воду. Хлороформ привлекателен тем, что легко упаривается, мало растворим в воде.

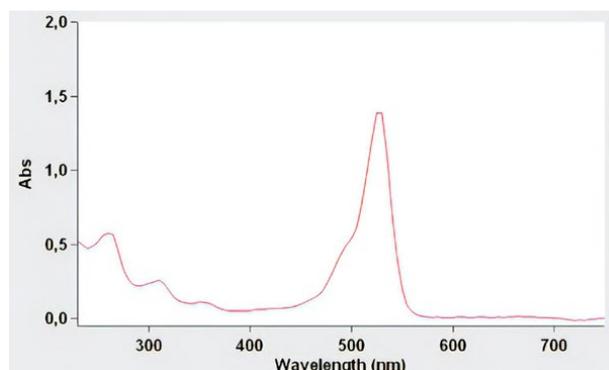


Рис. 2. Спектр поглощения эритрозина

Fig. 2. Absorption spectrum of erythrosin

Известно, что при pH=2 E 127 находится в молекулярной форме согласно значению показателя кислотности pK, равному 3.6, а другие СК при этом значении pH ионизированы, так как содержат в своем составе сульфогруппы. Отсюда вытекает принципиальная возможность отделения эритрозина от других красителей. Обнаружено, что константа распределения для E 127 между хлороформом и водой составляет 15, что открывает возможность практически полного экстракционного извлечения эритрозина при соотношении объемов фаз хлороформ - вода = 1.5 : 1, при этом хлороформ извлекает более 95 % эритрозина.

В связи с вышеизложенным суть методики может быть сформулирована следующим образом. К навеске твердого гомогенизированного образца массой 20 г добавляют 50 см^3 воды, встряхивают. Газированные напитки массой 50 г подвергают дегазации при комнатной температуре. Водный раствор обрабатывают в делительной воронке равным объемом хлороформа при pH = 9, происходит удаление гидрофобных органических красителей (каротин, ликопин). Далее к водному раствору добавляют по каплям 1 М раствор соляной кислоты

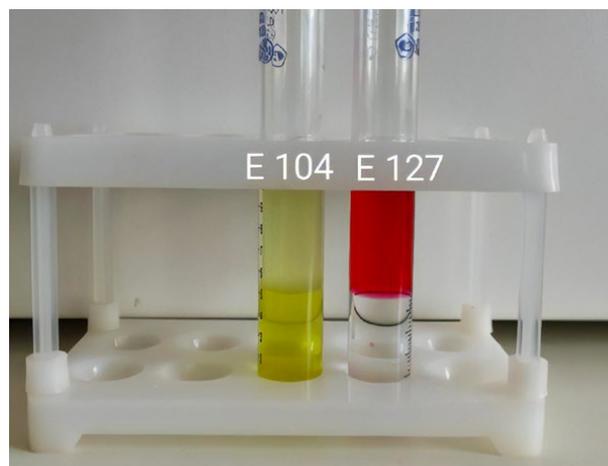


Рис. 3. Результаты эксперимента по извлечению E 104, E 127 с помощью изоамилового спирта

Fig. 3. The results of the experiment on the extraction of E 104 and E 127 using isoamyl alcohol

Таблица 1

Схема приготовления градуировочных растворов

Table 1

The scheme of preparation of the calibration solutions

№ раствора	Концентрация Е 127 в растворе, мг/см ³	Объем аликвотной части раствора синтетического красителя, концентрацией 1.2 мг/см ³
1	0.03	2.5
2	0.06	5.0
3	0.10	8.3
4	0.15	12.5
5	0.20	16.7

до значения pH = 2, проводят селективную двукратную экстракцию определяемого соединения 15 см³ хлороформа. Время экстракции составляет 2 – 3 мин. Экстракты объединяют, хлороформ упаривают и остаток растворяют в 2 см³ боратного буферного раствора со значением pH = 9. Визуально оценивают окраску раствора, при этом наличие розовой окраски свидетельствует о присутствии в образце исследуемого запрещенного красителя Е 127.

Для количественного определения готовят исходный стандартный раствор синтетического красителя Е 127 концентрацией 1.2 мг/см³ в буферном растворе со значением pH = 9. Градуировочные растворы концентрацией 0.03, 0.06, 0.10, 0.15, 0.20 мг/см³ готовят по схеме, представленной в табл. 1. Аликвотные части каждого раствора синтетического красителя концентрацией 1.2 мг/см³ переносят в мерные колбы вместимостью 100 см³ и доводят буферным раствором до метки.

Полученные растворы фотометрируют при длине волны 527 нм и толщине слоя 1 см, начиная с самой низкой концентрации. По полученным данным строят градуировочный график.

Измерение оптической плотности растворов образцов проводят при тех же условиях, что и градуировочных растворов, далее по градуировочному графику находят концентрацию аналита в растворе С, после чего рассчитывают содержание эритрозина Х (мг/кг) в пробе по формуле:

$$X = \frac{C \cdot 1000 \cdot V}{m}, \quad (2)$$

где С – концентрация синтетического красителя, найденная по градуировочному графику, мг/см³; V – объем разведения сухого остатка, равный 2 см³; m – масса образца, взятая для анализа, г; 1000 – коэффициент пересчета г в кг.

Предел количественного определения Е 127 в жидких пищевых продуктах по разработанному методу, исходя из минимальной регистрируемой оптической плотности 0.02, коэффициента экстинкции ионизированного эритрозина 22800 М⁻¹·см⁻¹ и кратности концентрирования 25, составляет 0.05 мг/кг, для твердых – 0.13 мг/кг (концентрирование

в 10 раз). Это значительно меньше, чем при прямом определении методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (1.0 мг/кг) по [3]. Относительное стандартное отклонение по результатам 5 параллельных определений составляет 2 - 3 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложена методика селективного определения красителя Е 127 в присутствии кислотных ионогенных синтетических красителей (Е 102, Е 104, Е 110, Е 122, Е 123, Е 124, Е 127, Е 128, Е 129, Е 131, Е 132, Е 133, Е 142, Е 143, Е 151, Е 155), основанная на селективном выделении эритрозина из пробы путем ее подкисления до pH = 2, экстрагирования хлороформом, упаривания растворителя и разбавления экстракта в буферном растворе со значением pH = 9, после чего визуально оценивают окраску буферного раствора. Наличие розовой окраски свидетельствует о присутствии в образце Е 127, его количественное определение проводят фотометрическим методом при длине волны 527 нм. Предложенная методика обеспечивает глубокую очистку аналита от гидрофобных (окрашенных и неокрашенных) и гидрофильных примесей, кроме того, методика характеризуется очень низким пределом количественного определения, удовлетворительным стандартным отклонением и высокой экспрессностью, а также возможностью использования доступного оборудования.

ЛИТЕРАТУРА

1. ТР ТС 029/2012. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств. Минск, 2012. 308 с.
2. A direct enzyme immunoassay to detect erythrosine in foods / B. Zhang [et al.] // Food anal method. 2014. V. 7. P. 1798-1803.
3. Development and validation of the HPLC-DAD method for the quantification of 16 synthetic dyes in various foods and the use of liquid anion exchange extraction for qualitative expression determination / A. I. Palianskikh [et al.] // Food Chem. 2022. V. 369.
4. De Araújo Siqueira Bento W., Lima B.P., Paim A.P.S. Simultaneous determination of synthetic colorants in yogurt by HPLC // Food Chem. 2015. V. 183. P. 154-160.
5. Kirschbaum J., Krause C., Brückner H. Liquid chromatographic quantification of synthetic colorants in fish roe and caviar // Eur. Food Res. Technol. 2006. V. 222, № 5. P. 572–579.
6. Trandafir I., Nour V., Ionica M. E. The liquid-chromatographic quantification of some synthetic colorants in soft drinks // Sci. Stud. Res. 2009. V. X (1). P. 73-82.
7. Development and validation of an HPLC-UV method for determination of synthetic food colorants / L. Vlase L. [et al.] // Rev. Roum. Chim. 2014. Vol. 59. P. 719-725.
8. Tsai C.F., Kuo C.H., Shih D.Y.C. Determination of 20 synthetic dyes in chili powders and syrup-preserved fruits by liquid chromatography/tandem mass spectrometry // J Food Drug Anal. 2015. Vol. 23, № 3. P. 453-462.
9. Development of a Green Chromatographic Method for Simultaneous Determination of Food Colorants / M. Khanavi [et al.] // Food Anal. Method. 2012. Vol. 5, № 3. P. 408-415.

10. ГОСТ Р 52671-2006 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в карамели. М., 2007. 19 с.
11. ГОСТ Р 52825-2007 Продукты пищевые. Метод определения наличия синтетических красителей в пряно-стях. М., 2008. 9 с.
12. Development of Multiresidue Analysis for 21 Synthetic Colorants in Meat by Microwave-Assisted Extraction–Solid-Phase Extraction–Reversed-Phase Ultrahigh Performance Liquid Chromatography / H. Sun H. [et al.] // *Food Anal. Method.* 2013. Vol. 6, № 5. P. 1291-1299.
13. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Рипол Классик, 2013. 446 с.

REFERENCES

1. *TR TS 029/2012. Trebovaniia bezopasnosti pishchevykh dobavok, aromatizatorov i tekhnologicheskikh vspomogatel'nykh sredstv [CU TR 029/2012. Safety requirements of food additives, flavorings and processing aids]*. Minsk, Ekonomenergo, 2012, 308 p. (in Russian).
2. B. Zhang, D. Du, Y. Yin, L. Zheng, J. Zhao, S. A. Eremin, V. B. Rybakov, M. Meng, R. Xi A direct enzyme immunoassay to detect erythrosine in foods. *Food anal. method*, 2014, vol. 7, pp. 1798-1803. doi: 10.1007/s12161-014-9824-8
3. Palianskikh A.I., Sychik S.I., Leschev S.M., Pliashak Y.M., Fiodarava T.A., Fiodarava, T.A., Belyshava L.L. Development and validation of the HPLC-DAD method for the quantification of 16 synthetic dyes in various foods and the use of liquid anion exchange extraction for qualitative expression determination. *Food Chem.*, 2022, vol. 369. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130947
4. De Araújo Siqueira Bento W., Lima B.P., Paim A.P.S. Simultaneous determination of synthetic colorants in yogurt by HPLC. *Food Chem.*, 2015, vol. 183, pp. 154-160. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2015.03.050
5. Kirschbaum J., Krause C., Brückner H. Liquid chromatographic quantification of synthetic colorants in fish roe and caviar. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, vol. 222, no. 5, pp. 572-579. doi: 10.1007/s00217-005-0157-0
6. Trandafir I., Nour V., Ionica M. E. The liquid-chromatographic quantification of some synthetic colorants in soft drinks. *Sci. Stud. Res.*, 2009, vol. X (1), pp. 73-82.
7. Vlase L., Muntean D., Codruta c., Lorena F. Development and validation of an HPLC-UV method for determination of synthetic food colorants. *Rev. Roum. Chim.*, 2014, vol. 59, pp. 719-725.
8. Tsai C.F., Kuo C.H., Shih D.Y.C. Determination of 20 synthetic dyes in chili powders and syrup-preserved fruits by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Food Drug Anal.*, 2015, vol. 23, no. 3, pp. 453-462. doi: 10.1016/J.JFDA.2014.09.003
9. Khanavi M., Hajimahmoodi M., Ranjbar A. M., Oveisi M. R., Ardekani M. R. S., Mogaddam G. Development of a Green Chromatographic Method for Simultaneous Determination of Food Colorants. *Food Anal. Method*, 2012, vol. 5, no. 3, pp. 408-415. doi: 10.1007/s12161-011-9259-4
10. GOST R 52671-2006 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в карамели [State Standard 52671-2006. Food products. Methods for identification and determination of the mass fraction of synthetic dyes in caramel]. Moscow, Standartinform Publ., 2007. 19 p. (in Russian).
11. GOST R 52825-2007 Продукты пищевые. Метод определения наличия синтетических красителей в пряно-стях. [State Standard 52825-2007. Food products. Method for determining the presence of synthetic dyes in spices]. Moscow, Standartinform Publ., 2007. 9 p. (in Russian).
12. Sun H., Sun N., Li H., Zhang J., Yang Y. Development of Multiresidue Analysis for 21 Synthetic Colorants in Meat by Microwave-Assisted Extraction–Solid-Phase Extraction–Reversed-Phase Ultrahigh Performance Liquid Chromatography. *Food Anal Method.*, 2013, vol. 6, no. 5, pp. 1291-1299. doi: 10.1007/s12161-012-9542-z
13. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии [Handbook of Analytical Chemistry]. Moscow, Ripol Klassik Publ., 2013. 446 p. (in Russian).