

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ФАРМАЦИИ, ХИМИИ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРАСИТЕЛЕЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ
СИРОПОВ И ЛИМОНАДОВ МЕТОДАМИ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА И
СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ**

Выпускная квалификационная работа
обучающегося по направлению подготовки 04.03.01 Химия
очной формы обучения, группы 11001518
Мокроносовой Дарьи Михайловны

Научный руководитель:
к. х. н., доцент
Блинова И.П.

БЕЛГОРОД 2019

Содержание	
Введение	3
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	5
1.1 Общие сведения о пищевых красителях	5
1.2 Классификация красителей	8
1.2.1 Натуральные пищевые красители	8
1.2.2 Синтетические красители	11
1.2.3 Влияние пищевых красителей на здоровье человека	13
1.3 Методы определения красителей	15
1.3.1. Методы молекулярной абсорбционной спектроскопии	15
1.3.2. Хроматографические методы	16
1.3.3. Другие методы	16
1.3.4 Электрофорез	17
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	19
2.1.Методики эксперимента	19
2.1.1. Методика приготовления агарозного геля	19
2.1.2. Методика приготовления образцов для работы	19
2.1.3.Методика спектрофотометрический метод определения массовой доли	19
2.2. Объекты для исследования	21
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	23
3.1 Исследование индивидуальных красителей	23
3.1.1.Электрофоретический анализ индивидуальных красителей	23
3.1.2. Спектрофотометрический анализ индивидуальных красителей	27
3.2 Исследование экстрактов антоцианов	30
3.2.1. Электрофоретический анализ экстрактов антоцианов	30
3.2.2. Спектрометрический анализ	31
3.3 Исследование сиропов, лимонадов и сокосодержащих напитков	33
3.3.1.Электрофоретический анализ сиропов, лимонадов и сокосодержащих напитков	33

3.3.2. Спектральный анализ сиропов, лимонадов и сокосодержащих напитков	36
Заключение	42
Список литературы	43

ВВЕДЕНИЕ

Качественными оценками продуктов питания, которые в первую очередь оцениваются потребителями, являются цветовые, вкусовые показатели и запах. Но первым на что обращает изначально при покупке внимание покупатель это, конечно, цвет.

Электрофорез - это один из новых методов, который занимает основное место среди современных методов исследования белков и нуклеиновых кислот. В современной литературе очень редко встречаются статьи, в которой на одном или другом этапе фракционирования или характеристики этих биополимеров не был использован электрофорез. Метод электрофореза позволяет разделить макромолекулы, различающиеся по некоторым параметрам:

- размеры молекулы (молекулярная масса);
- их пространственная конфигурация;
- вторичная структура;
- электрический заряд.

Но так же эти параметры могут выступать как отдельно, так и в совокупности.

Целью данной работы является определение красителей, используемых для приготовления сиропов и напитков электрофоретическим и спектрофотометрическим методами.

Задачи:

1. Изучить литературы по теме выпускной работы;
2. Исследовать электрофоретическую подвижность экстрактов паслена, базилика, кукурузы и винограда;
3. Исследовать электрофоретическую подвижность красителей E122, E133, E102, E132, E124 и кармина;
4. Исследовать электрофоретическую подвижность выбранных сиропов;

5. Исследовать электрофоретическую подвижность некоторых лимонадов и сокосодержащих напитков;
6. Исследовать спектры поглощения красителей E122, E133, E102, E132, E124 и кармина;
7. Исследовать спектры поглощения выбранных сиропов;
8. Исследовать спектры поглощения некоторых лимонадов и сокосодержащих напитков;
9. Систематизировать и обработать полученные результаты.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общие сведения о пищевых красителях

Пищевые красители - это соединения натурального и синтетического (органического и неорганического) происхождения, которые используют для того, чтобы придать, усилить или восстановить окраску продуктов питания. Использование красителей в виде пищевых добавок в производстве продуктов питания открыли давно. Сперва для окрашивания использовали только натуральные красители. Но с увеличением роста технологий производства продуктов питания появилась необходимость в производстве большего количества красящих пигментов. Развитие органической химии в отрасли синтеза красителей разрешило применить синтетические красители в производстве продуктов питания.

По распространённости синтетические красители находятся на втором месте после натуральных красителей. Широкое их применение связано с их отличительными характеристиками такими как: высокая стойкость к изменению параметров, обильной окраской и дешёвой производством. В табл. 1.1. предоставлены основные красители синтетического происхождения, применяемые в настоящее время в различных странах.

Таблица 1.1.

Красители, разрешенные к применению в РФ

Натуральные красители		Синтетические (органические)		Синтетические (минеральные)	
№	Название	№	Название	№	Название
E 100	Куркумины	E 101	Рибофлавины	E 152	Уголь
E 100ii	Турмерик	E 102	Тартразин	E 153	Уголь растительный
E 101	Рибофлавины	E 104	Желтый хинолиновый	E 170	Карбонаты кальция

Натуральные красители		Синтетические (органические)		Синтетические (минеральные)	
№	Название	№	Название	№	Название
E103	Алканин, Алканет	E 107	Желтый 2G	E 171	Диоксид титана
E 120	Кармины	E 110	Желтый "солнечный закат"	E 172	Оксиды железа
E 140	Хлорофилл	E 122	Азорубин, кармуазин	E 174	Серебро
E 141	Медные комплексы хлорофилла	E 124	Понсо 4R	E 1754	Золото
E 150a	Сахарный колер I	E 128	Красный очаровательный АС		
E 150b	Сахарный колер II	E 131	Синий патентованный V		
E 150c	Сахарный колер III	E 132	Индигокармин		
E 150d	Сахарный колер IV	E 133	Синий блестящий FCF		
E 160	Каротины	E 142	Зеленый S		
E 160ai	в-каротин	E 143	Зеленый прочный FCF		
E 160aii	экстракты натуральных каротинов	E 151	Черный блестящий PN		

Натуральные красители		Синтетические (органические)		Синтетические (минеральные)	
№	Название	№	Название	№	Название
E 160b	Аннато экстракты	E 155	Коричневый НТ		
E 160c	Маслосмолы паприки	E 182	Орсейл, орсин		

Синтетические пищевые красители используются при производстве продуктов питания таких, как: напитки сокосодержащие, лимонады, соки, молочные продукты, джемы и сиропы, а так же продукты животного происхождения продукты, кондитерские изделия и т.д.

На основании анализа полученных данных работы профессора В.В. Бессонова можно сделать вывод, что помимо красителей натурального происхождения применяют Понсо (E124), Желтый (E110), Тартразин (E102), Зеленый прочный (E143) и Синий блестящий (E133).

Основной минус синтетических красителей заключается в токсичности не только пигментов, но и их составляющих компонентов [2].

При чрезмерном употреблении синтетических органических красителей, то есть выше допустимой концентрации возможны отрицательные воздействия на организм человека в целом.

Они могут выражаться в варианте аллергических реакций (крапивница), гиперактивности детей и т.д. . Гиперактивность детей связывают с наличием в продуктах питания таких красителей, как: Тартразина, Желтого, Желтого хинолинового, Красного очаровательного и кармуазина [10]. И именно по этой причине продукты, включающие сведения о красителях в составе должны являться маркированы с предостережениями о том, что они могут оказывать отрицательное влияние на внимание у ребенка. [11]

1.2 Классификация красителей

Красители подразделяются по происхождению на натуральные и синтетические, которые бывают органическими и неорганическими (минеральными).

Для придания цвета продуктам питания возможно использование как индивидуальных пищевых красителей, так и их смесей.

Синтетические пищевые красители – органические соединения, не встречающиеся в природе, но которые можно синтезировать. Также синтетические красители можно классифицировать на азокрасители, триарилметановые, хинолиновые и индигоидные [1].

1.2.1 Натуральные пищевые красители

Природные пищевые красители разделяются в следующие категории: каротиноиды, антоцианы, флавоноиды, хлорофиллы.

Заинтересованность проявляет покупатель по отношению к бета-каротину, который совершенствует цвет продукта и притягивает внимание к себе за счет того, что делает его более естественным внешне. Цветовая гамма его меняет в зависимости от его содержания от бледно желтого до ярко оранжевого.

Бета-каротин могут экстрагировать индивидуально или в смеси с другими основными каротиноидами из различного рода объектов, к примеру: облепиха или морковь. Из-за своих отличительных свойств бета-каротин может использоваться не только как краситель, но и как средство для профилактики при воздействии на организм радиации, сердечно-сосудистых диагнозах, а также осуществляет собственную функцию провитамина А.

Хлорофиллы – это компоненты, находящиеся в растениях, плодах и овощах, придающие им зеленоватую расцветку.

Природный хлорофилл, характеризуется нестабильностью, особенно при повышенной температуре в кислой среде. Стойкой окраской характеризуются модифицированные формы хлорофилла. Хиноновые красители. К незапрещенным красителям данной группы можно отнести кармин, алканин, куркумин.

Последним представителем данной группы является краситель куркумин, другое название турмерик. Получают данный краситель с корневища куркумы.

Антоцианы легко растворяются в полярных растворителях и в воде, менее-в спирте, и совершенно не растворимы в неполярных растворителях.

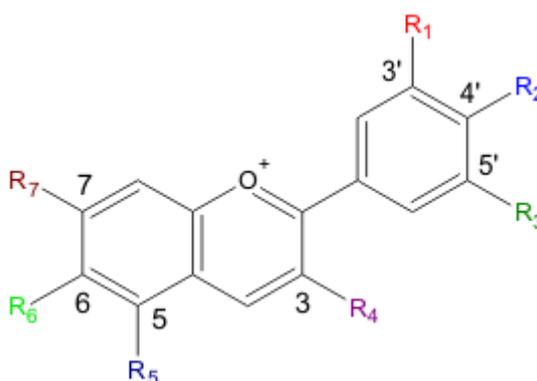


Рис 1.1. Общая структура антоцианов

Таблица 1.2.

Общая структура антоцианов

Антоцианы	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Аурантинидин	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH
Цианидин	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Дельфинидин	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH
Европинидин	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH
Лютеолинидин	-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH
Пеларгонидин	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Мальвидин	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH
Пеонидин	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Петунидин	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH

Розинидин	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃
-----------	-------------------	-----	----	-----	-----	----	-------------------

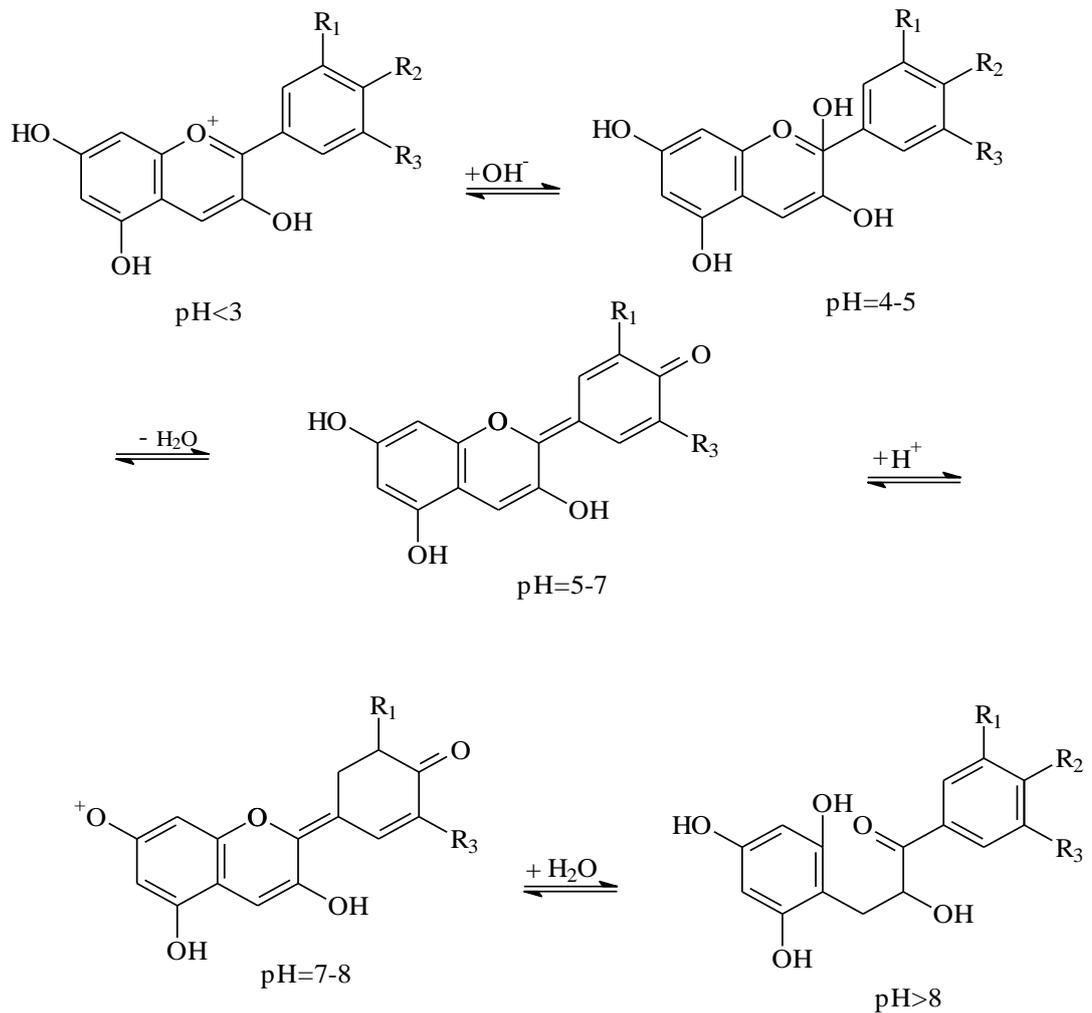


Рис. 1.2. Зависимость цвета и структуры антоцианидинов от pH среды

1. Красная пирилиевая соль; 2. Псевдооснование; 3. Хиноидная форма (синяя); 4. Фенолят хиноидной формы (пурпурный); 5. Халкон (желтого цвета).

Антоцианы чаще всего экстрагируют кислыми растворами, поэтому самой первой проявляется флавилиевая форма (при примерно pH=1), причем характерной окраской будет от розовой до красной. Далее при увеличении pH 3,5-4,5 появляется полуацетальная форма (бесцветная форма), по-другому также ее называют псевдооснованием- в равновесии находятся цис- и транс-

изомеры. Затем если начать подщелачивать раствор, то цвет раствора приобретет сине-зеленые оттенки, что будет говорить о появлении хиноидной формы.

Отличительной особенностью натуральных красителей (антоцианов) является неустойчивая окраска в зависимости воздействия разной рН среды, а так же наблюдается воздействие света, температуры и многих других факторов.

Красители легко образуют комплексы с металлами. Примером этого является то, что при наличии солей магния и кальция образуется комплекс имеющий синюю окраску, а при наличии солей калия образует комплекс красной окраски.

Энокраситель (E163) представляет собой смесь природных антоцианов, катехинов, других органических веществ, выделяемых из выжимок темных сортов винограда. Товарная форма продукта – это жидкость интенсивно красного цвета. В кислой среде обеспечивает красную окраску продукта, в нейтральной и слабощелочной – синий или сине-зеленый оттенок. В этой связи для создания необходимой рН используют органические кислоты.

Сахарный колер (E150) - получают в виде водного раствора темно-коричневого цвета путем карамелизации (термического разложения) сахаров.

1.2.2 Синтетические красители

Синтетическими (искусственными) называются пищевые красители синтезированные и не встречающиеся в природе.

Синтетические пищевые красители предоставлены несколькими классами органических соединений: желтый «солнечный закат» - E110, азокрасители (тартразин) - E102, кармуазин - E122, пунцовый 4R - E124, черный блестящий PN - E151), триарилметановые красители (синий патентованный V - E131, синий блестящий FCF - E133, зеленый S - E142), хинолиновые (желтый хинолиновый - E104), индигоидные (индигокармин - E132).

Все эти соединения хорошо растворимы в воде и некоторые образуют нерастворимые комплексы с ионами металлов, а так же применяются в этой форме для окрашивания порошкообразных продуктов.

Синтетические красители применяются как в виде индивидуальных продуктов, так и в смеси, что заметно упрощает их использование. Для окрашивания пищевых продуктов используют водные растворы пищевых красителей. Порошкообразные красители применяют лишь в сухих полуфабрикатах (концентратах напитков, сухих смесей или кексов, желе и т.д.).

Широкое применение синтетических красителей связано с их устойчивостью к изменениям рН среды и действию кислот, большой окрашивающей способностью, стабильностью к нагреванию и свету, устойчивостью окраски при хранении продукта, легкостью дозирования. Чаще всего они дешевле натуральных красителей.

Минеральные (или неорганические) красители – это неорганические соединения, встречающиеся в природе либо полученные химическими методами в промышленных условиях.

В качестве красителей применяются минеральные пигменты и металлы. В РФ разрешено применять 7 минеральных красителей и пигментов, включая уголь растительный (табл. 1).

Классифицируют синтетические красители по их методам производства: азокрасители, триарилметановые, ксантовый краситель, хинолиновый, индигоидный.

Большую группу красителей составляют азокрасители- это синтетические неорганические вещества полученные методом соединения в водной, слабокислой или слабощелочной среде фенолов и диазотированных ароматических производных аммиака (амины). Сырьем выступают производные каменноугольной смолы и продукты переработки нефти.

Красители триарилметановые получают из каменноугольных смол методом органического синтеза кислот с ароматическими аминами и

фенолами. Имеют яркие насыщенные цвета, которые теряют при взаимодействии с этиловым спиртом. Поэтому триарилметаны редко используют для окрашивания алкогольных напитков.

Желтый хинолиновый краситель (Е 104) относят к одноименной группе. Получают его путем многоступенчатой химической реакции сульфонирования 2–метилхинолина с фталевым ангидридом.

Индигоидный пищевой краситель индиготин (Е 132) получают из угольного дегтя сплавлением фенил–глицина с амидом натрия. Дальнейшее сульфанирование дает синий красящий порошок. Может вызвать аллергическую реакцию, удушье.

1.2.3 Влияние пищевых красителей на здоровье человека

Пищевые красители считаются безопасными, только если их концентрация в продукте не превышает допустимую концентрацию.

Синтетические красители способствуют нарушению восприятия, развитию аллергии, могут спровоцировать онкологические заболевания, а также быть причиной пищевых расстройств и дисбактериоза.

Выбирая продукты питания, необходимо обращать внимание на состав.

В наше время большое распространение получили искусственные пищевые красители, представляющие собой водорастворимые органические соединения, не существующие в природе.

Особо опасными являются красители: Е 102, Е 110, Е 122, Е 123, Е 124, Е127, Е 151.

Могут вызвать у детей и взрослых:

- Небольшую возбудимость,
- Нарушение концентрации внимания,
- Перепады настроения,
- Аллергическую реакцию,
- Гиперреактивное поведение,

В связи с выявлением негативного воздействия пищевых красителей на человека стремятся сократить вред красителей ограничением или полным запретом их использования в пищевой промышленности. Несложные правила помогут потребителям самим позаботиться о себе, о своем здоровье и ограничить вредное влияние пищевых красителей:

- При выборе продуктов обратить внимание на маркировку и состав.
- Неестественно яркий цвет напитков говорит о наличии красителей.
- Старайтесь детям давать продукты и напитки без красителей. [10]

Пищевые красители используются в современной промышленности уже много лет. Большинство продуктов на полках супермаркетов содержат как минимум один из них. Вред добавок заключается в том, что многие из них не до конца изучены, именно поэтому производители могут нарушать нормы их содержания в продуктах.

Если вы почувствовали боли в желудке, тошноту и рвоту после употребления консервов, а на банке еще не истек срок годности, то причиной этого является краситель E110. Также его часто добавляют в мармелад, джемы и глазурь. Тогда это вещество рекомендуется исключить из рациона детей, иначе может наблюдаться потеря внимания или гиперактивность. Следует запомнить, что ярко-синий пищевой краситель может спровоцировать хромосомные аномалии.

Цвет индиго чаще встречается в сладостях, безалкогольных и некоторых алкогольных напитках, кормах для животных. Это способствует развитию опухолей головного мозга, поэтому на данный момент запрещен в Норвегии.

Зеленый краситель повышает риск рака мочевого пузыря, а желто-оранжевый инициирует опухоли щитовидной железы, экзему, аллергию, астму и хромосомные аномалии. За красивый и привлекательный вид продуктов приходится платить своим здоровьем, именно поэтому

следует внимательно читать этикетки, а особенно тех продуктов, которые имеют неестественный цвет.

1.3 Методы определения красителей

Аналитическое исследование может включать в себя несколько стадий, и одна из них это анализирование состава соединений. Также существует множество методов определения нужных для нас красителей. Основными методами исследования являются: хроматография, капиллярный и зональный электрофорез, спектрофотометрия и электрохимические методы анализа. Наиболее простым в выполнении и часто используемым является спектрофотометрическое исследование.

1.3.1. Методы молекулярной абсорбционной спектроскопии

Исследование данным методом не обязывает к дорогой аппаратуре и является самым простым. При определении красителей другие вещества не мешают исследованию, но проблема будет заключаться при наличии других красителей, которые будут мешать выявлению данного красителя. Из-за того, что спектры красителей будут накладываться друг на друга, создается необходимость в статической и математической обработке. Поэтому может быть применен метод Фирордта.

Объектами исследования спектрофотометрического анализа являются вещества, которые просты в пробоподготовке. То есть можно просто произвести растворение исходных образцов, и если необходимо профильтровать полученные образцы при наличии мутности. Потому что мутные растворы дают погрешности в измерении электромагнитных спектров.

При анализе в смеси из двух компонентов используется метод Фирордта, который основывается на измерении длин волн и последующем

решении системы уравнений концентраций исходных веществ (закон Бугера-Ламберта-Бера).

Также этот метод предполагает использование производных метода при количественном определении в смеси компонентов. Измеряя оптическую плотность при определенной длине волны, на основании полученных данных строят зависимость оптической плотности от длины волны. В некоторых случаях в смеси происходит перекрывание спектры

1.3.2. Хроматографические методы

В настоящее время распространенность хроматографических методов определения компонентов увеличивается. Наиболее известными из них являются обращено-фазовая ВЭЖХ, ион-парная и ультравысокоэффективная жидкостная хроматография. В основном методом ВЭЖХ определяют несколько красителей.

Отрицательным свойством в хроматографическом методе по сравнению с спектрофотометрией является то, что метод требует тщательной пробоподготовки и по продолжительности занимает больше времени. Так примером является пробоподготовка твердых компонентов, она включает в себя растворение исходного вещества, центрифугирование, фильтрацию, выпаривание влаги и растворение в нужном растворителе.

1.3.3. Другие методы

Еще одной разновидностью является капиллярный электрофорез. Определение возможно двумя вариантами: капиллярный или зонный электрофорез.

Данный метод подразумевает разделение смеси компонентов под действием электрического поля. Объем исследуемого образца вводят в капилляр, заполненный буфером (электролитом). Далее подается ток к концам капилляров и частицы начинают двигаться с разной скоростью к

полюсам, это зависит от многих факторов. Самое первое что на это может повлиять- заряд частиц и их молекулярная масса.

Методом капиллярного электрофореза можно определить красители в продуктах питания таких, как: различного рода напитки, мороженное и т.д.

Для разделения пищевых красителей могут быть использованы такие буферные растворы как: фосфатный, боратный, карбонатный, фосфатно-боратный.

Также могут быть применены электрохимические методы определения красителей. Пищевые красители могут содержать электроактивные группы, которые могут быть обратимо окисляться или восстанавливаться. Величина потенциала окисления или восстановления является индивидуальной для каждого красителя и они могут быть обнаружены и определены в смесях. Среди электрохимических методов определения красителей могут быть описаны методы дифференциально-импульсной полярографии, вольтамперометрии и потенциометрии.

Главное достоинство этих методов то, что ими можно определить до 4-х красителей при совместном присутствии в смеси.

1.3.4 Электрофорез

Электрофорез — это процесс направленного движения частиц, диспергированных в жидкости в постоянном электрическом поле. Частицы каждого из красителей по отдельности несут одинаковые по знаку заряды. Под действием электрического поля положительно заряженные частицы перемещаются к отрицательному электроду (катоде), а отрицательно заряженные частицы к положительному электроду (аноду). Движение частиц к отрицательному электроду называется катафорезом, к положительному

электроду соответственно анафорезом. Скорость движения таких частиц зависит от массы частиц, и их заряда, благодаря чему и происходит разделение смеси веществ на составляющие их компоненты.

Существует несколько видов электрофореза: свободный и электрофорез на носителях.

Свободный (фронтальный) электрофорез проводят в приборах, существенной частью которых является U-образная трубка. Часть трубки заполняется исследуемым раствором, на который наслаивают растворитель. В растворитель погружают электроды, соединенные с источником постоянного тока. Под действием электрического поля электрически заряженные частицы белка перемещаются к одному из электродов, вследствие чего граница раздела между раствором и растворителем в одном колене поднимается, а в другом опускается.

Электрофорез на носителях, или как его еще называют зональный электрофорез. В качестве носителей используются различного рода носители ткие, как: бумага, гели агара, полиуретанов и др.

Физический принцип метода состоит в том, что находящиеся в буфере макромолекулы обладают суммарным электрическим зарядом, величина и знак которого зависят от pH среды. Если через этот раствор, заключенный в канал из изолирующего материала, начать пропускать электрический ток, то вдоль канала установится определенный градиент напряжения. Под действием поля макромолекулы в соответствии со своим суммарным зарядом двигаются в направлении положительного и отрицательного электрода. В зависимости от величины заряда и размеров молекулы приобретают разные скорости, и в этом — сущность процесса электрофореза. Постепенно исходный препарат, состоявший из различных молекул, разделяется на зоны одинаковых молекул, мигрирующих с одной и той же скоростью.

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Методики эксперимента

2.1.1 Методика приготовления агарозного геля

Взвешиваем на технических весах навеску агарозы ($m \sim 1.25\text{г}$). Отмеряем цилиндром 60-70 мл дистиллированной воды, наливаем в термостойкий стакан и нагреваем до кипения. Далее добавляем агарозу и варим до полного растворения. Остудить содержимое до $50-60^\circ\text{C}$ и залить в формы. Когда агар затвердеет можем начинать работу.

2.1.2 Методика приготовления образцов для работы

1. Красители: отбираем 2 мл буфера в емкость и добавляем туда пару кристалликов красителя.
2. Антоцианы: готовые очищенные экстракты антоцианов разбавляем буфером в пропорции 1:1.
3. Сиропы: 2 мл образца отбираем в емкость и добавляем буфер (2:1)

2.1.3. Методика спектрофотометрический метод определения массовой доли красителей

Таблица 2.1.

Спектрофотометрические характеристики красителей

Наименование красителя	Индекс пищевой добавки	Растворитель	Длина волны, соответствующая максимуму светопоглощения, нм	Удельный коэффициент светопоглощения
Тартразин	E102	Дистиллированная вода	426	530

Наименование красителя	Индекс пищевой добавки	Растворитель	Длина волны, соответствующая максимуму поглощения, нм	Удельный коэффициент светопоглощения
Желтый хинолиновый	E104	Раствор уксусной кислоты pH 5	411	865
Желтый "Солнечный закат"	E110	Дистиллированная вода pH 7	485	555
Азорубин	E122	Дистиллированная вода	516	510
Амарант	E123	Дистиллированная вода	520	440
Понсо 4R	E124	Дистиллированная вода	505	430
Красный 2G	E128	Дистиллированная вода	532	620
Красный очаровательный AC	E129	Дистиллированная вода pH 7	504	540
Синий патентованный V	E131	Дистиллированная вода pH 5	638	2000
Индигокармин	E132	Дистиллированная вода	610	480
Синий	E133	Дистиллированная вода	630	1630

Наименование красителя	Индекс пищевой добавки	Растворитель	Длина волны, соответствующая максимуму поглощения, нм	Удельный коэффициент поглощения
блестящий FCF		дистиллированная вода		
Зеленый S	E142	Дистиллированная вода	632	1720
Зеленый прочный FCF	E143	50%-й раствор этанола	625	1560
Черный блестящий PN	E151	Дистиллированная вода	570	530
Эритрозин	E127	Дистиллированная вода рН 7	526	1100

Кювету заполняют приготовленным раствором анализируемого красителя и измеряют спектр данного раствора.

2.2 Объекты для исследования

В данной работе были взяты готовые очищенные экстракты антоцианов такие как:

1. Экстракт паслена
2. Экстракт базилика
3. Экстракт кукурузы

4. Экстракт винограда

Также были взяты для опытов некоторые красители и сиропы:

Красители:

- Порошкообразные:

1. Красный краситель «Барвник» (вишня) - E122
2. Светло-зеленый краситель «Барвник» (яблоко) - E133 и E102
3. Синий краситель «Барвник» (слива) - E132
4. Красный краситель «Барвник» (клубника) – E124
5. Кармин

- Гелевые красители:

1. Красный гелевый краситель (понсо)
2. Темно-синий гелевый краситель (бриллиантовый голубой)
3. Малиновый гелевый краситель (кармуазин)
4. Бирюзовый гелевый краситель (зеленое яблоко, бриллиантовый голубой)

Сиропы:

1. Сироп «Растибор» (вишня)-E131, E124, E122
2. Сироп «Пикантна» (малина)- кармуазин
3. Сироп «абрико» (земляника)- кармин
4. Сироп «абрико» (вишня)- E163

Лимонады и сокосодержащие напитки:

1. «Хрусталь Белогорья Люкс» «Дайкири» (понсо 4R, E 150d)
2. «Ascania» «гранат» (кармуазин, понсо 4R, гранатовый сок)
3. «Здоровые продукты» «Ланжерон» премиум (солнечный закат, тартразин, соки яблочный, белый виноград, грушевый, концентрат черной моркови)
4. Водная компания «Старый город» «сшипипи» «вишня» (соки вишневый, яблочный, красители E 150d, E122, E133)

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Исследование индивидуальных красителей

3.1.1 Электрофоретический анализ индивидуальных красителей

Электрофорез — это процесс направленного движения частиц, диспергированных в жидкости в постоянном электрическом поле. Частицы каждого из красителей по отдельности несут одинаковые по знаку заряды. Под действием электрического поля положительно заряженные частицы перемещаются к отрицательному электроду (катоде), а отрицательно заряженные частицы к положительному электроду (аноду). Движение частиц к отрицательному электроду называется катафорезом, к положительному электроду соответственно анафорезом. Скорость движения таких частиц зависит от массы частиц, и их заряда, благодаря чему и происходит разделение смеси веществ на составляющие их компоненты.

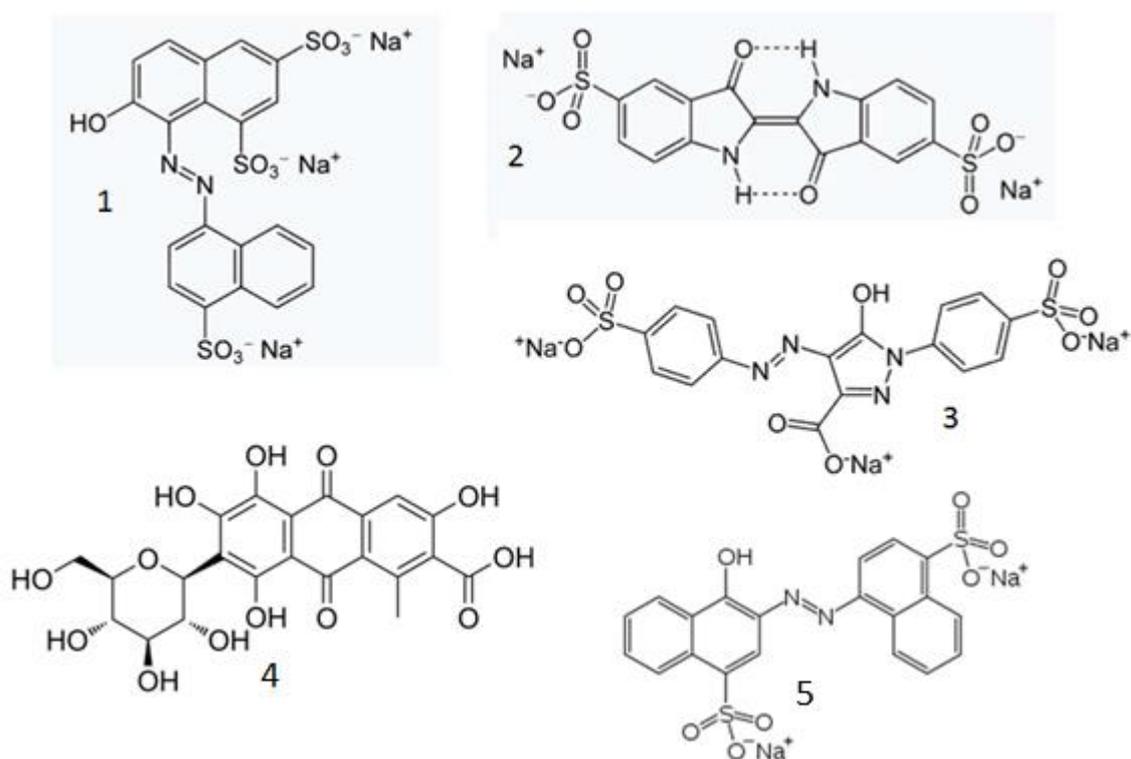


Рис. 3.1. Структуры красителей, исследуемых в работе

1- Понсо 4R; 2- Индигокармин; 3- Тартразин; 4- Кармин; 5- Кармуазин

Таблица 3.1.

Молекулярные массы исследуемых красителей

Название красителя	Молекулярная масса, г/моль
Кармин	1150,87
Тартразин (E102)	534,3
Кармазин (E122)	502,43
Понсо 4R (E124)	604,48
Индигокармин (E132)	466,36
(E133)	792,85

В ходе работы мы измеряем смещение окрашенных частиц с начальной точки в зависимости от времени и pH среды.

Таблица 3.2

Полученные расстояния в ходе исследования индивидуальных красителей в зависимости от времени

	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 30 мин
Красители сухие			
pH=2,4			
E122 кармуазин	16 мм	27 мм	38 мм
E133 и E102 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	20мм и 10 мм	38 мм и 16 мм	46мм, 37мм и 24мм
E132 Индигокармин	21 мм	39 мм	47 мм
E124 понсо 4R	18 мм	29 мм	41 мм
Кармин	6 мм	9 мм	10 мм
При pH=6			
E122 кармуазин	7 мм	16 мм	44 мм
E133 и E102 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	23 мм, 7 мм и 4 мм	29мм,16мм и 9мм	55 мм,45 мм и 27 мм

	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 30 мин
E132 Индигокармин	24 мм	29 мм	55 мм
E124 понсо 4R	8 мм	16 мм	46 мм
Кармин	4 мм	8 мм	42 мм
При pH=9			
E122 кармуазин	10 мм	25 мм	40 мм
E133 и E102 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	13 мм и 6 мм	35 мм, 22 мм и 13 мм	51 мм, 36 мм и 22 мм
E132 Индигокармин	13 мм	34 мм	50мм
E124 понсо 4R	10 мм	26 мм	39 мм
Кармин	7 мм	22 мм	36 мм
Красители гелевые			
При pH=9			
E124 понсо 4R	8 мм	18 мм	33 мм
E133 бриллиантовый голубой	10 мм и 5 мм	19 мм и 7 мм	39мм и 17мм
E122 кармуазин	9 мм	16 мм	32 мм
E102 и E133 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	10 мм и 4мм	20 мм и 9 мм	40мм и 18 мм
При pH=6			
E124 понсо4R	11 мм	21 мм	34 мм
E133 бриллиантовый голубой	6 мм и 12 мм	11 мм и 23 мм	22 мм и 48 мм
E122 кармуазин	9 мм	17 мм	34 мм
E102 и E133 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	6 мм и 12 мм	10 мм и 24 мм	21 мм и 49 мм
При pH=2,4			
E124 понсо4R	11 мм	22 мм	42 мм
E133 бриллиантовый голубой	13 мм и 6 мм	25 мм и 12 мм	47 мм и 26 мм

	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 30 мин
E122 кармуазин	10 мм	20 мм	37 мм
E102 и E133 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	14 мм и 7 мм	26 мм и 12 мм	48 мм и 22 мм

Чем выше молекулярная масса, тем медленнее движение частиц.

Некоторые образцы разделяются на 2 или 3 части, то есть в образце находится несколько частиц с разными зарядами, которые можно заметить невооруженным глазом.

Искусственные красители движутся к плюсу, следовательно, их частицы имеют отрицательный заряд.

Далее мы рассчитываем подвижность по формуле:

$Y = \frac{S}{t}$; где Y-подвижность, S- расстояние, на которое сдвинулся окрашенный образец, t- время опыта.

Таблица 3.3.

Электрофоретическая подвижность индивидуальных красителей при разных pH

	При pH=2,4	При pH=6	При pH=9
Сухие красители			
E122 кармуазин	1,27	1,47	1,33
E133 и E102 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	1,53;1,23;0,8	1,83; 1,5; 0,9	1,7 ; 1,2; 0,733 ;
E132 Индигокармин	1,57	1,83	1,67
E124 понсо 4R	1,37	1,53	1,3
Кармин	0,3	1,4	1,2
Гелевые красители			
E124 понсо4R	2,1	17	1,65
E133 бриллиантовый голубой	2,35 и 1,3	2,4 и 1,1	1,95 и 0,85

E122 кармуазин	1,85	1,7	1,6
E102 и E133 зеленое яблоко, бриллиантовый голубой	2,4 и 1,1	2,45 и 1,05	2 и 1,4

3.1.2 Спектрофотометрический анализ индивидуальных красителей

Спектрофотометрический анализ чистых красителей мы проводим для того, чтобы сопоставить их со спектрами поглощения сиропов и лимонадов.

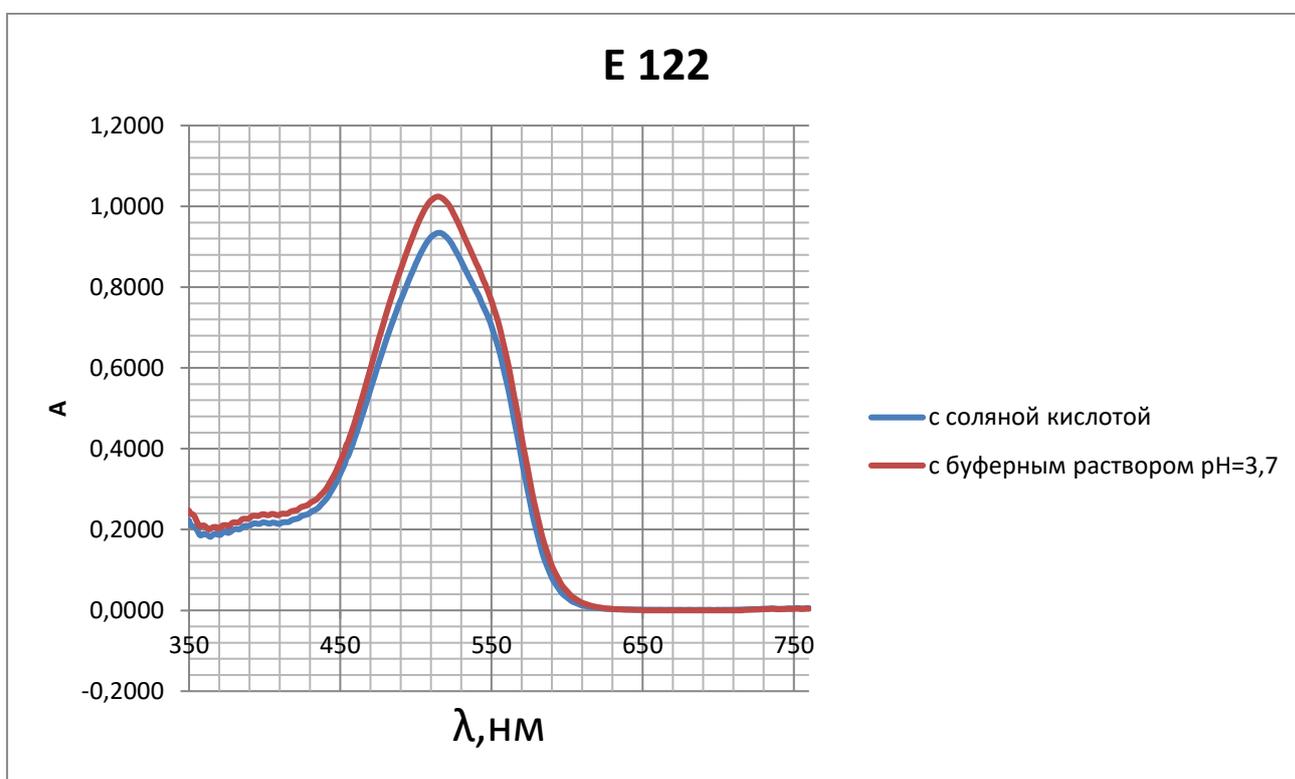


Рис.3.2. ЭМ спектры поглощения красителя кармуазина в буферном растворе pH=3,7 и 0,1M растворе соляной кислоты

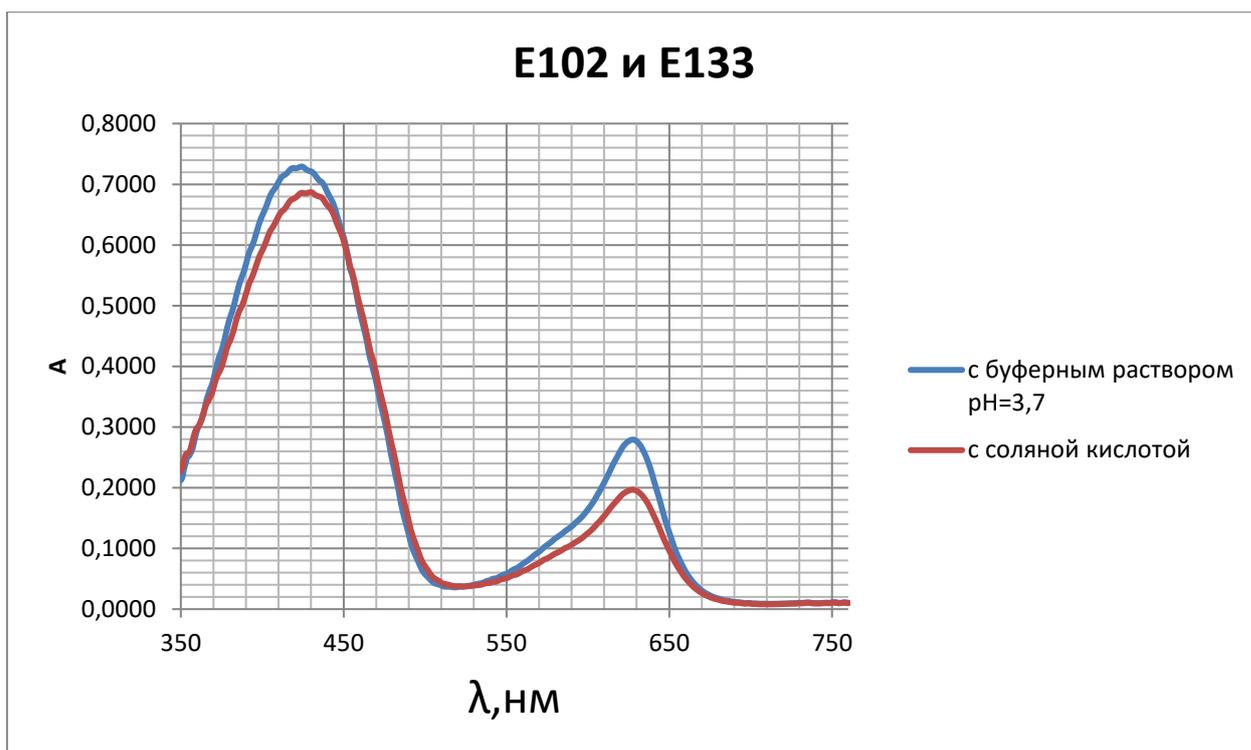


Рис.3.3. ЭМ спектры поглощения красителя «зеленое яблоко» и «бриллиантовый голубой» в буферном растворе рН=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

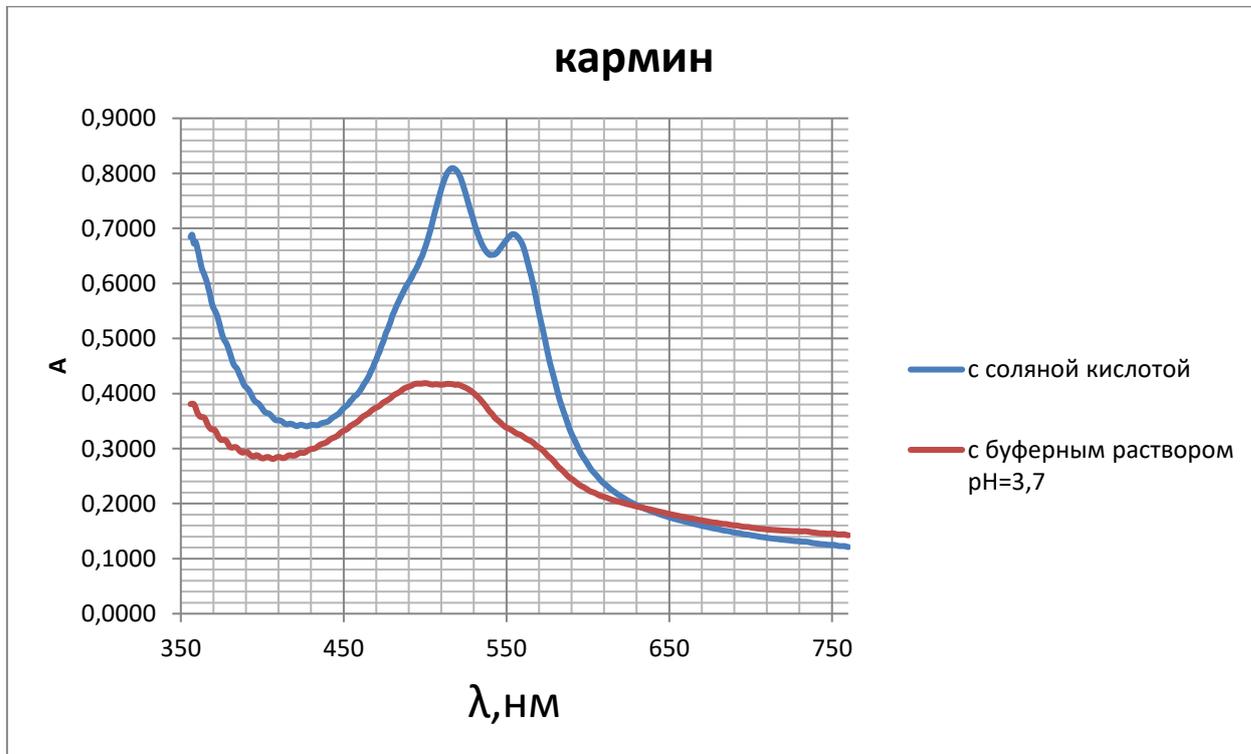


Рис.3.4. ЭМ спектры поглощения красителя кармина в буферном растворе рН=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

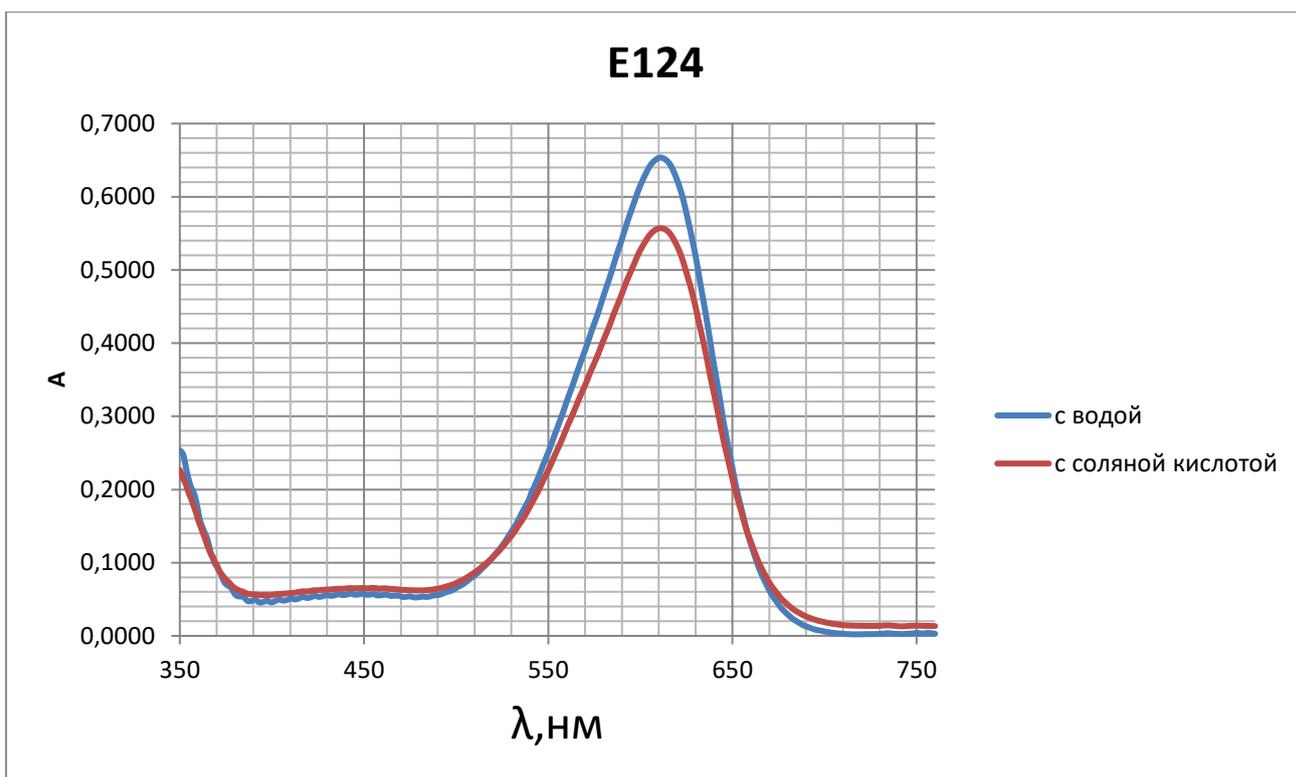


Рис.3.5. ЭМ спектры поглощения красителя понсо 4R в буферном растворе $\text{pH}=3,7$ и 0,1м растворе соляной кислоты

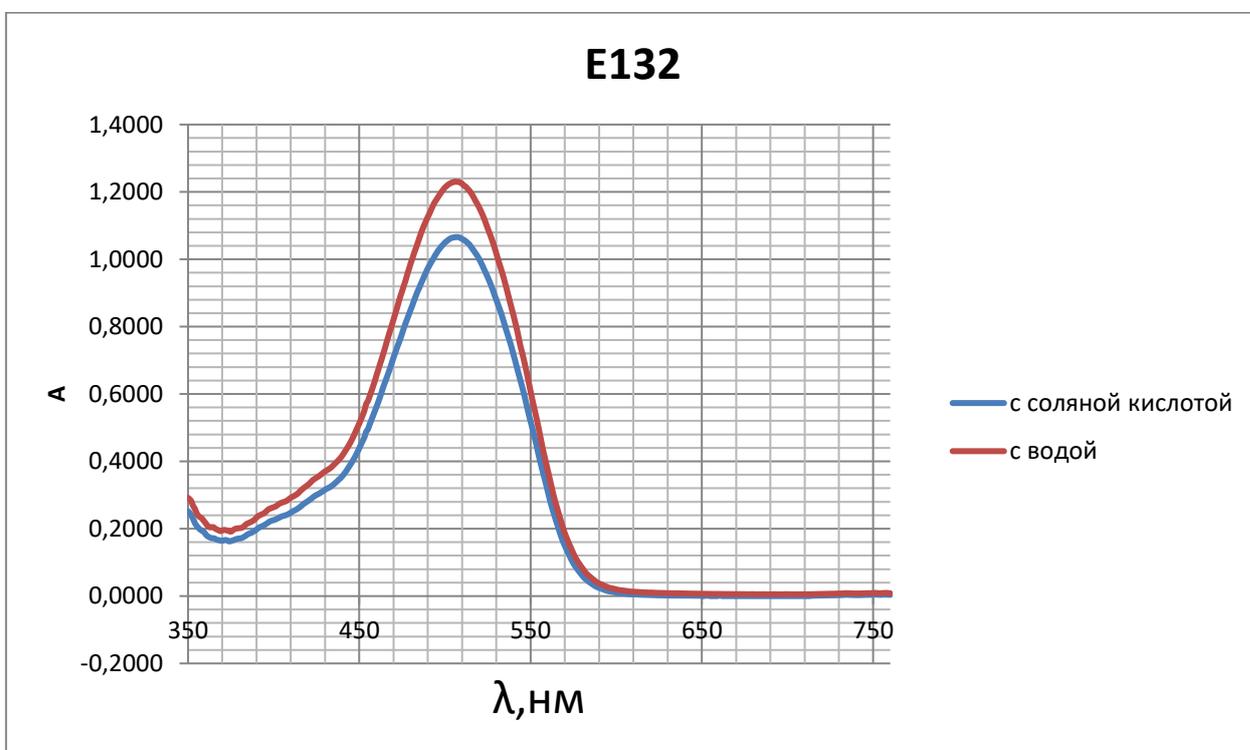


Рис.3.6. ЭМ спектры поглощения красителя индигокармина в буферном растворе $\text{pH}=3,7$ и 0,1м растворе соляной кислоты

Можно сделать выводы, что спектры искусственных красителей практически не изменяются при разных растворителях в отличие от натуральных. Именно это является отличительной чертой искусственных красителей в спектрометрическом анализе.

3.2 Исследование экстрактов антоцианов

3.2.1 Электрофоретический анализ экстрактов антоцианов

В процессе электрофореза были получены расстояния сдвига окрашенных частиц, представленных в таблице 3.4.

Таблица 3.4

Полученные расстояния в ходе исследования антоцианов в зависимости от времени

	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 30 мин
при pH=2,4			
Паслен	6 мм	10 мм	25 мм
Базилик	6 мм	10 мм	27 мм
Кукуруза	3 мм	6 мм	28 мм
Виноград	4 мм	7 мм	28 мм
При pH=6			
Паслен	3 мм	5 мм	-
Базилик	4 мм	6 мм	20 мм
Кукуруза	4 мм	6 мм	-
Виноград	6 мм	8 мм	25 мм
При pH=9			
Паслен	2 мм	4 мм	12 мм
Базилик	3 мм	7 мм	17 мм
Кукуруза	3 мм	5 мм	-

Виноград	1 мм	4 мм и 3 мм	16 мм и 7 мм
----------	------	-------------	--------------

Все образцы экстрактов антоцианов в течении опытов движутся к минусу, то есть антоцианы имеют положительный заряд частиц, что говорит об отличии натуральных красителей от искусственных. Но при рН=9 в образце винограда видно разделение (движется и к положительно и к движутся к отрицательно заряженному электроду), следовательно они разделяются на положительнозаряженные и отрицательнозаряженные частицы.

Далее мы рассчитываем подвижность по формуле:

$Y = \frac{S}{t}$; где Y-подвижность, S- расстояние, на которое сдвинулся окрашенный образец, t- время опыта.

Таблица 3.5.

Электрофоретическая подвижность экстрактов антоцианов при разных рН

	При рН=2,4	При рН=6	При рН=9
Паслен	0,83	0,5	0,4
Базилик	0,9	0,67	0,33; 0,57
Кукуруза	0,93	0,6	0,2
Виноград	0,93	0,83	0,53; 0,23

В данной таблице заметна закономерность всех результатов, что с увеличением рН среды электрофоретическая подвижность антоцианов уменьшается, а с уменьшением рН среды увеличивается.

Следовательно в кислой среде антоцианы заряжены положительно.

3.2.2 Спектрометрический анализ

Спектрометрический анализ антоцианов проводится для того, чтобы показать отличие спектров натуральных красителей от искусственных.

Антоцианы чаще всего экстрагируют кислыми растворами, поэтому самой первой проявляется флавиливая форма (при примерно $\text{pH}=1$), причем характерной окраской будет от розовой до красной. Далее при увеличении pH 3,5-4,5 появляется полуацетальная форма (бесцветная форма), по-другому также ее называют псевдооснованием - в равновесии находятся цис- и транс-изомеры. Затем если начать подщелачивать раствор, то цвет раствора приобретет сине-зеленые оттенки, что будет говорить о появлении хиноидной формы.

Отличительной особенностью натуральных красителей (антоцианов) является неустойчивая окраска в зависимости воздействия разной pH среды, а так же наблюдается воздействие света, температуры и многих других факторов.

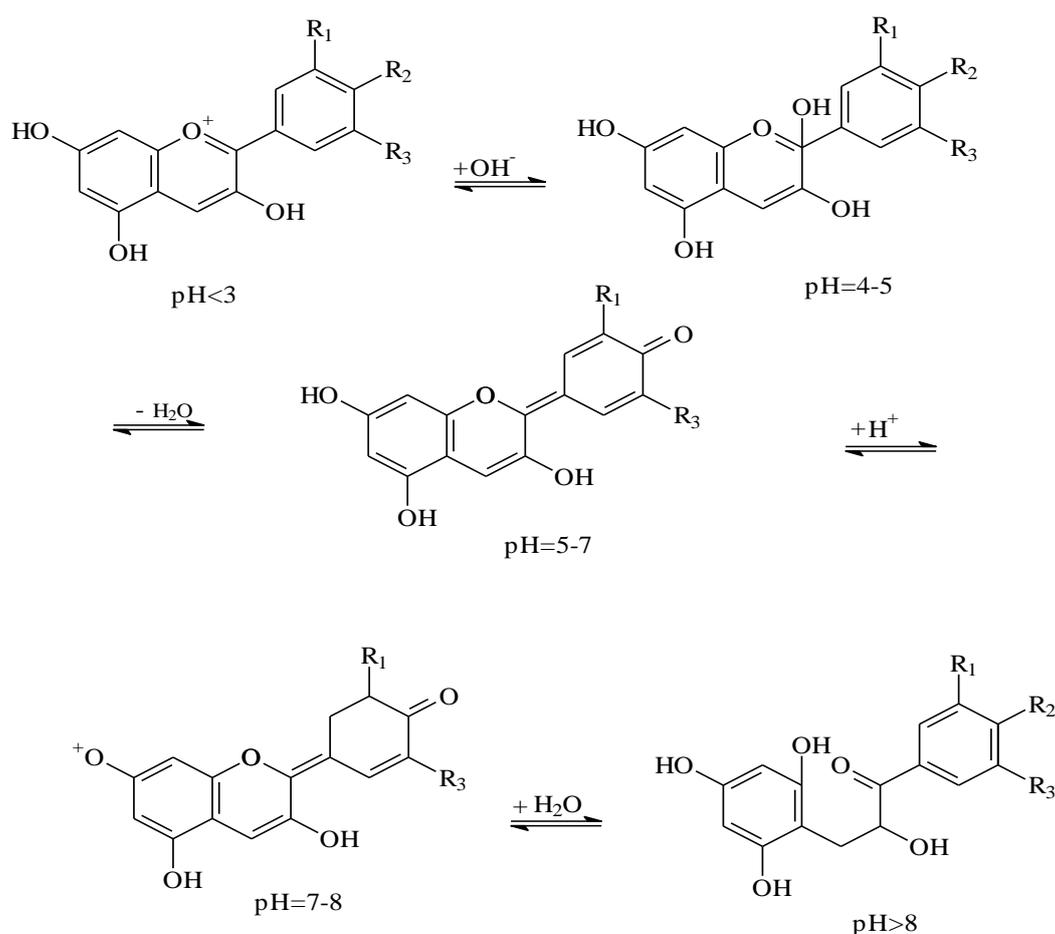


Рис. 3.7. Зависимость цвета и структуры антоцианидинов от pH среды

1. Красная пирилиевая соль; 2. Псевдооснование; 3. Хиноидная форма (синяя); 4. Фенолят хиноидной формы (пурпурный); 5. Халкон (желтого цвета)

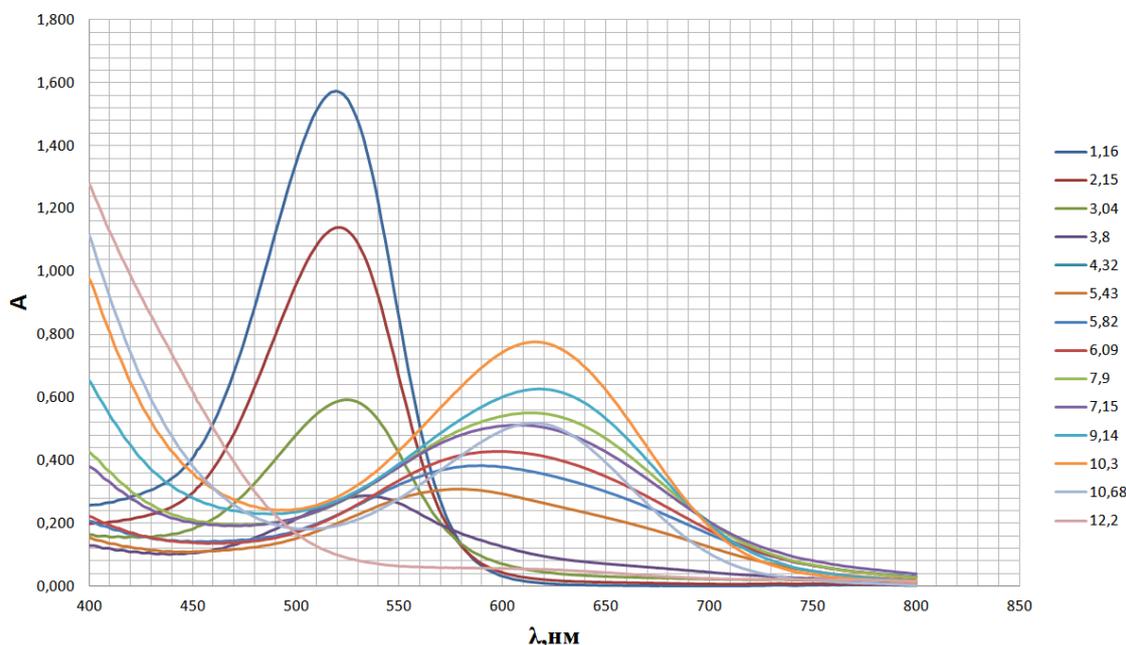


Рис. 3.8. Исследование влияния pH на растворы антоцианов, экстрагированных из краснокочанной капусты

Влияние pH на растворы антоцианов рассмотрим на примере экстракта краснокочанной капусты. На графике видно изменение в зависимости от pH, в отличие от синтетических красителей, в которых изменение это минимально, потому что искусственные красители устойчивы к изменению pH.

3.3 Исследование сиропов, лимонадов и сокосодержащих напитков

3.3.1. Электрофоретический анализ сиропов, лимонадов и сокосодержащих напитков

В процессе электрофореза были получены расстояния сдвига окрашенных частиц.

Таблица 3.6.

Полученные расстояния в ходе исследования сиропов в зависимости от времени

	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 30 мин
При рН=2,4			
Сироп «Растибор» (вишня)- Е131, Е124, Е122	22 мм и 15 мм	38 мм и 27 мм	-
Сироп «Пикантна» (малина)- кармуазин	15 мм	26 мм	-
Сироп «абрико» (земляника)- кармин	-	-	-
Сироп «абрико» (вишня)- Е163	-	-	-
При рН=6			
Сироп «Растибор» (вишня)- Е131, Е124, Е122	11 мм	22 м и 14 мм	42 мм и 32 мм
Сироп «Пикантна» (малина)- кармуазин	9 мм	14 мм	32 мм
Сироп «абрико» (земляника)- кармин	2 мм	4 мм	10 мм
Сироп «абрико» (вишня)- Е163	6 мм	12 мм	-
При рН=9			
Сироп «Растибор» (вишня) - Е131, Е124, Е122	11 мм и 7 мм	19 мм и 15 мм	26 мм и 36 мм
Сироп «Пикантна» (малина)- кармуазин	6 мм	14 мм	36 мм
Сироп «абрико» (земляника)- кармин	3 мм	6 мм	16 мм
Сироп «абрико» (вишня)- Е163	5 мм	12 мм	26 мм

Данные образцы движутся к положительно заряженному электроду, следовательно частицы имеют отрицательный заряд, это говорит о наличии искусственных красителей. Только один образец движется к отрицательному

и имеет положительный заряд, что доказывает наличие натурального красителя антоциана.

Также у некоторых образцов очень сложно определить расстояние сдвига. Это возможно в случае с некоторыми сиропами и лимонадами из-за того, что они сильно разбавлены в сравнении с другими образцами.

Далее мы рассчитываем подвижность по формуле:

$Y = \frac{S}{t}$; где Y-подвижность, S- расстояние, на которое сдвинулся окрашенный образец, t- время опыта.

Таблица 3.7.

Электрофоретическая подвижность сиропов при разных рН

	При рН=2,4	При рН=6	При рН=9
Сироп «Растибор» (вишня)-Е131, Е124, Е122	1,9; 1,35	2,1; 1,6	1,3; 1,8
Сироп «Пикантна» (малина)-кармуазин	1,3	1,6	1,8
Сироп «абрико» (земляника)-кармин	-	0,5	0,8
Сироп «абрико» (вишня)- Е163	-	1,2	0,9

Из полученных результатов и таблицы 7 можно сделать следующие выводы.

Сиропы №1,2 и 3 содержат в составе искусственные красители, поэтому объясняет то, что наибольшей подвижностью образцы обладают при $\text{pH}=6$, следовательно имеют наибольший отрицательный заряд.

А образец №4 имеет наибольший положительный заряд при наименьшем pH .

Таким образом можно сделать вывод, что в образцах 1,2,3 в составе искусственные красители, как и заявлено в составе, и в 4 образце натуральный краситель антоциан.

3.3.2. Спектральный анализ

Электрофоретическая подвижность и спектрофотометрический анализ были проведены для исследования искусственных и натуральных красителей в сиропах и лимонадах.

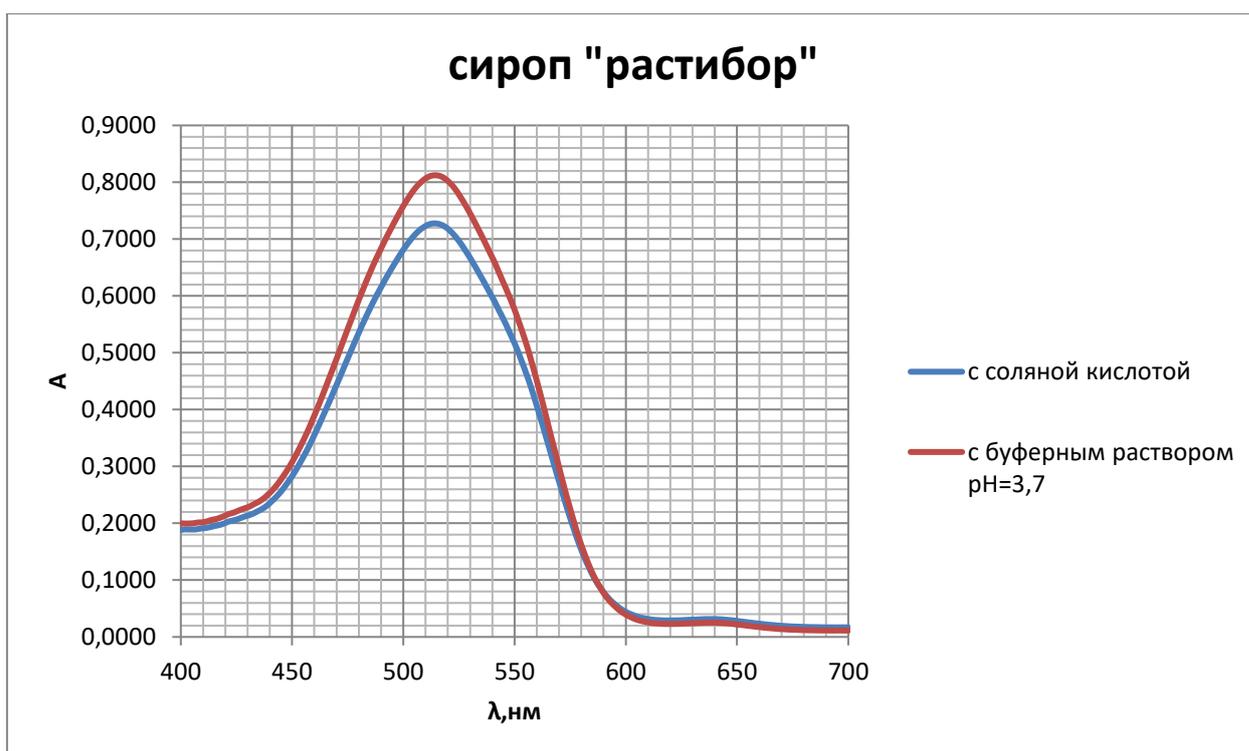


Рис.3.9. ЭМ спектры поглощения сиропа «Растибор» в буферном растворе $\text{pH}=3,7$ и 0,1м растворе соляной кислоты

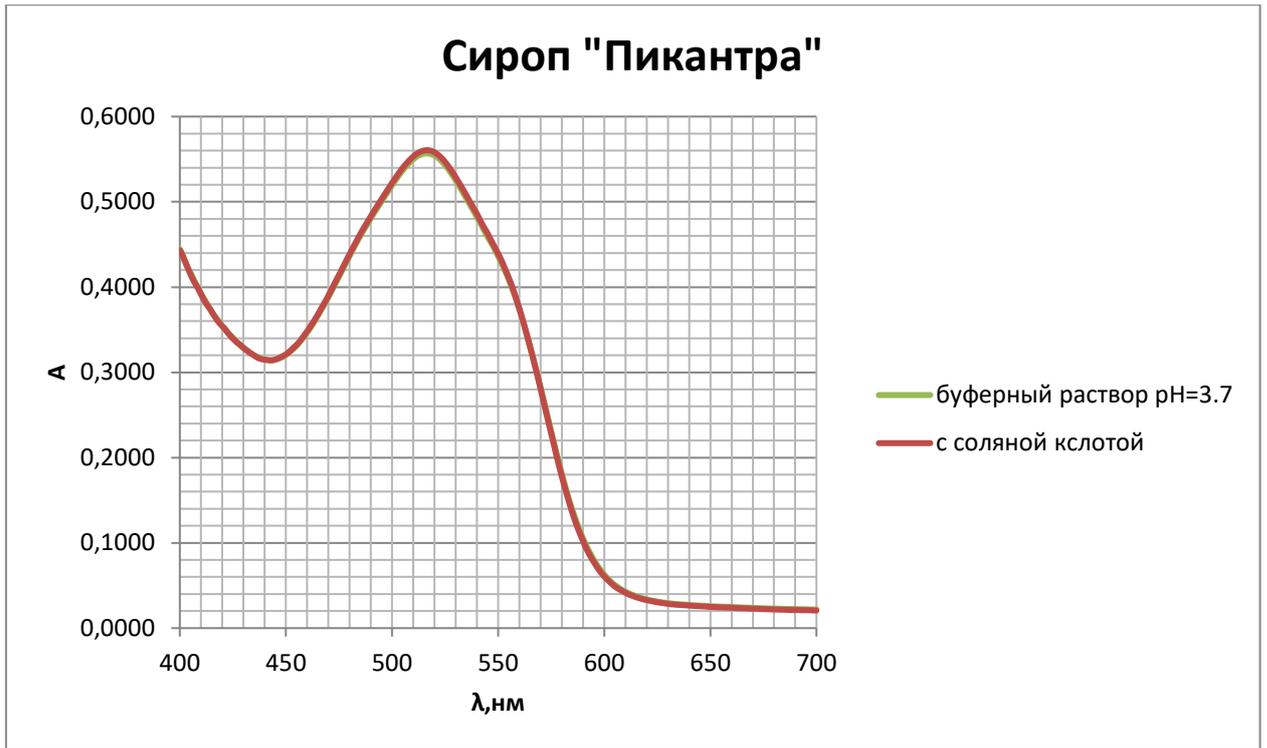


Рис.3.10. ЭМ спектры поглощения сиропа «Пикантра» в буферном растворе рН=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

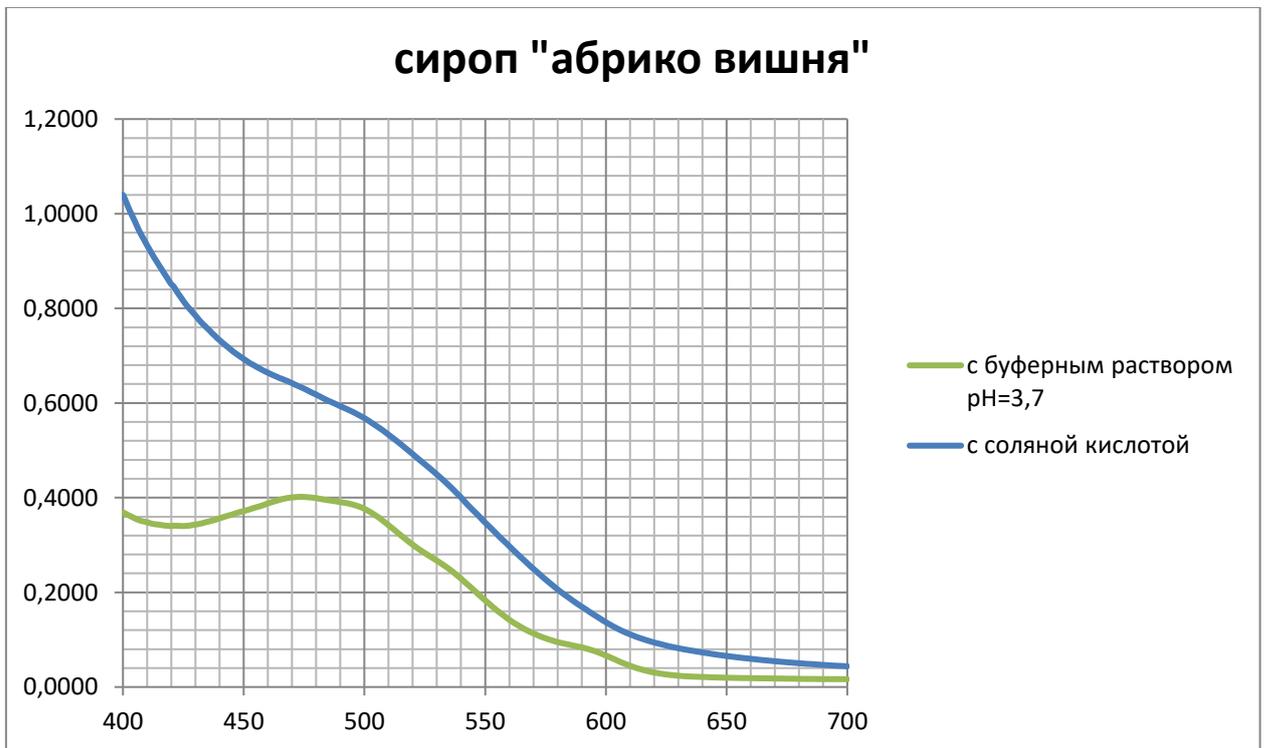


Рис.3.11. ЭМ спектры поглощения сиропа «Абрико вишня» в буферном растворе рН=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

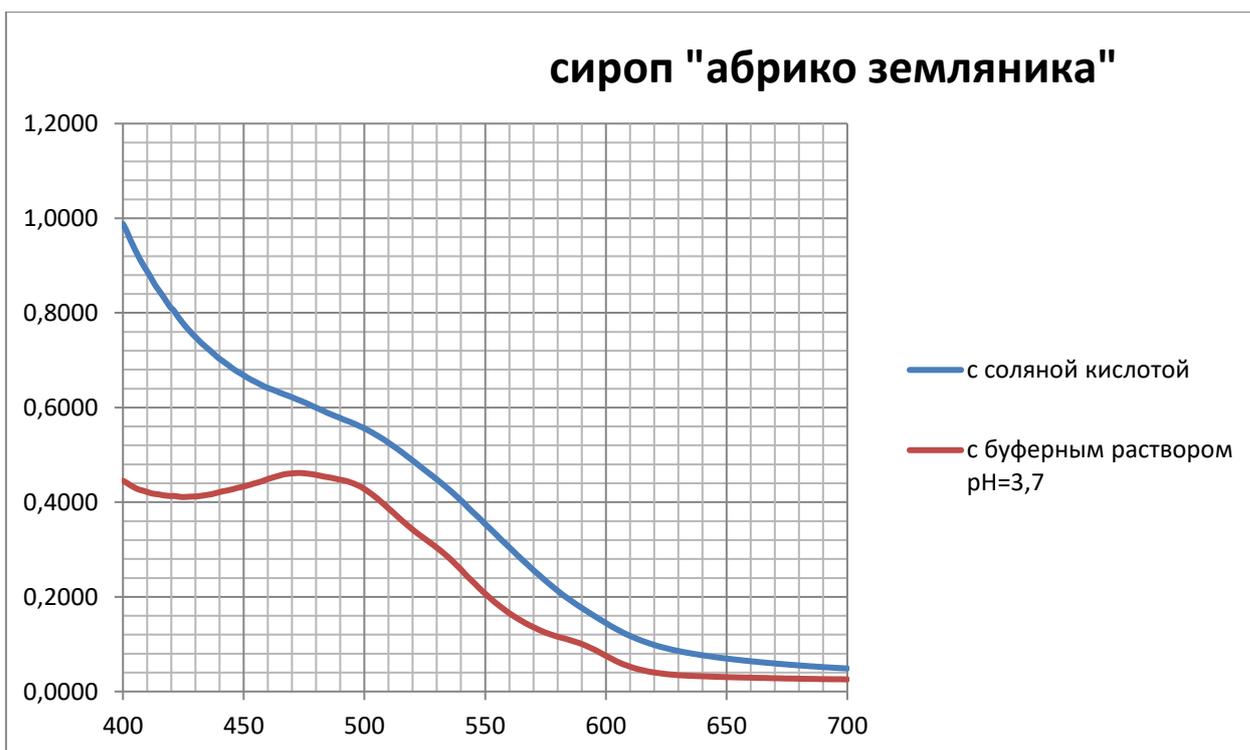


Рис.3.12. ЭМ спектры поглощения сиропа «Абрико земляника» в буферном растворе рН=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

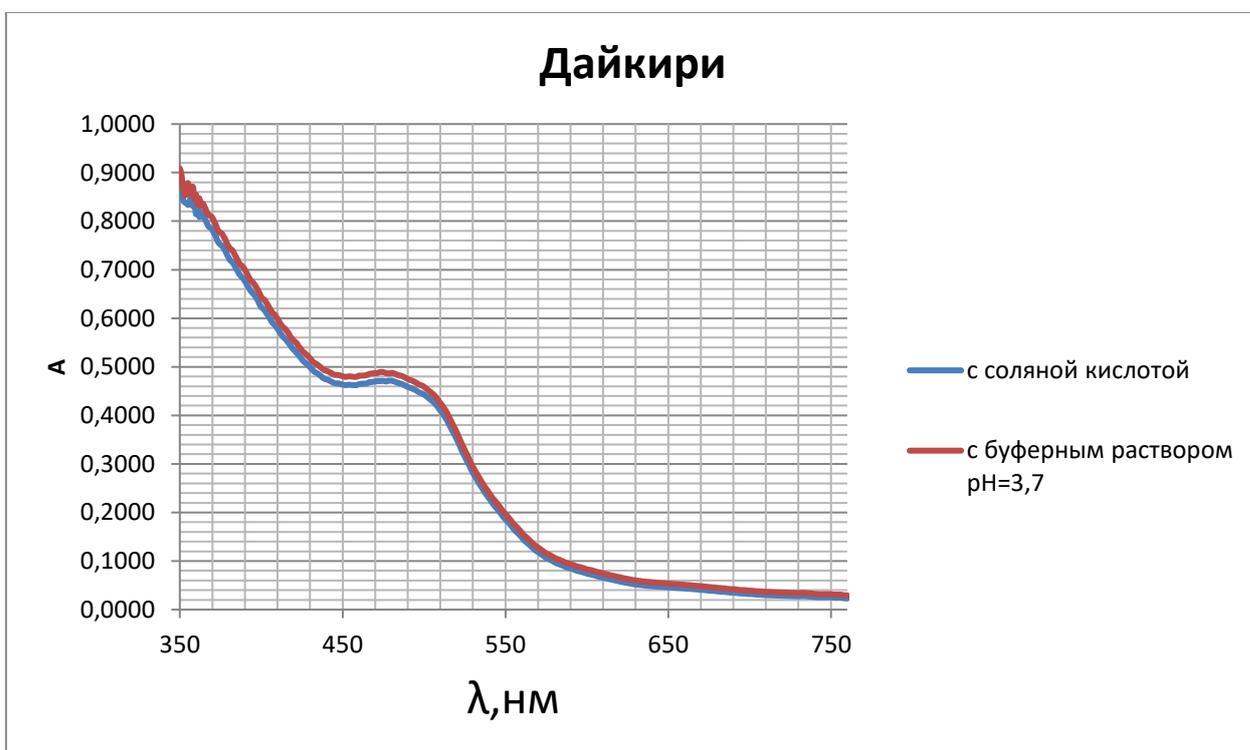


Рис.3.13. ЭМ спектры поглощения лимонада «Хрусталь Белогорья Люкс» «Дайкири» в буферном растворе рН=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

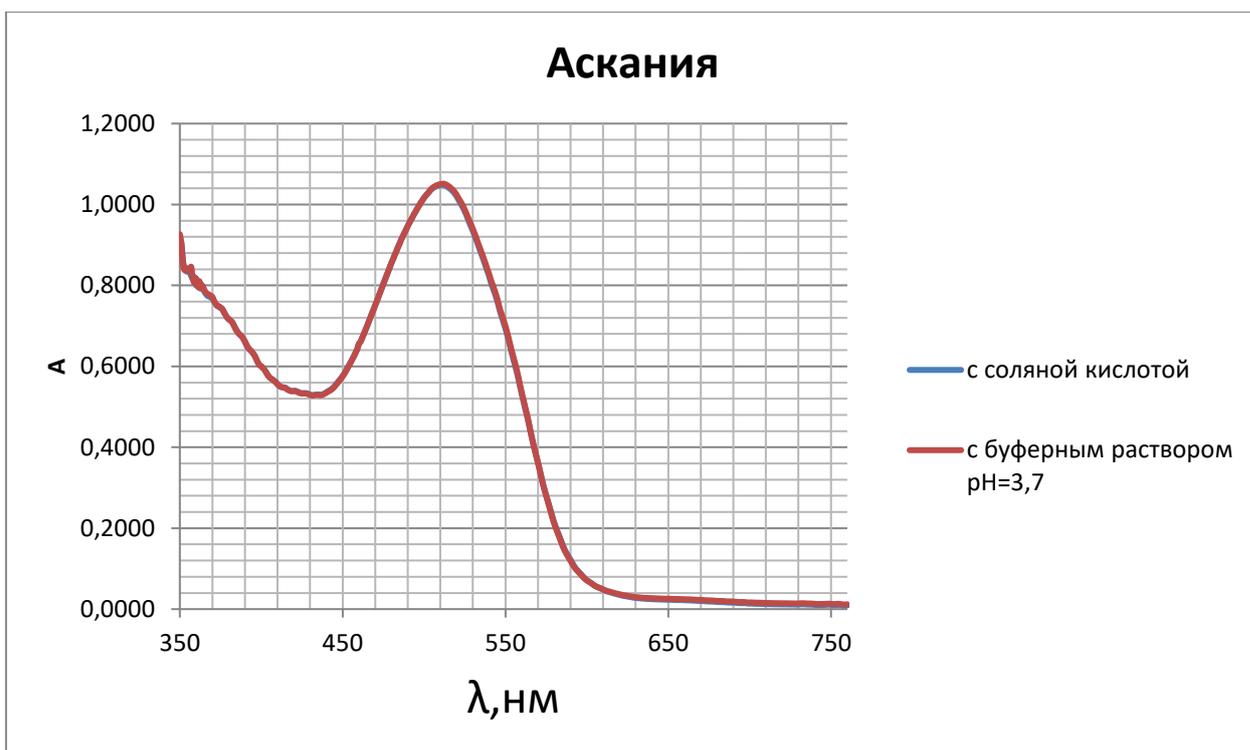


Рис.3.14. ЭМ спектры поглощения лимонада «Ascania» «гранат» в буферном растворе pH=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

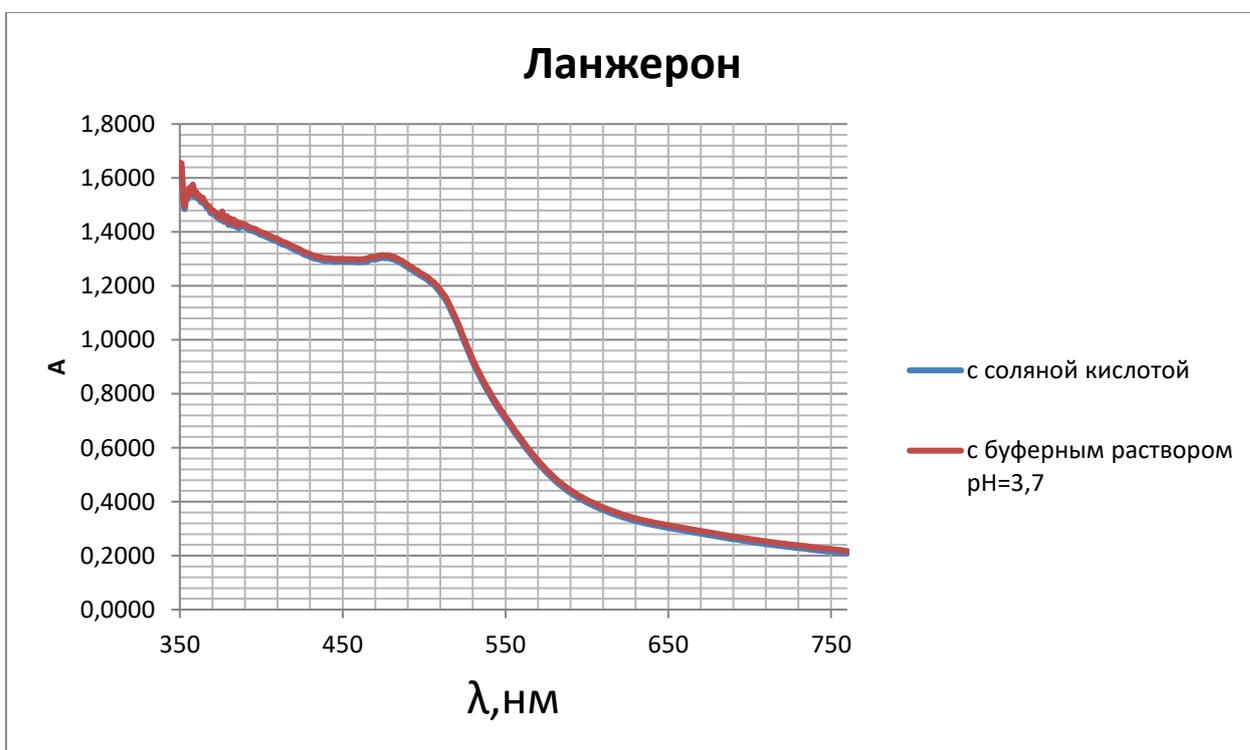


Рис.3.15. ЭМ спектры поглощения лимонада «Здоровые продукты» «Ланжерон» премиум в буферном растворе pH=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

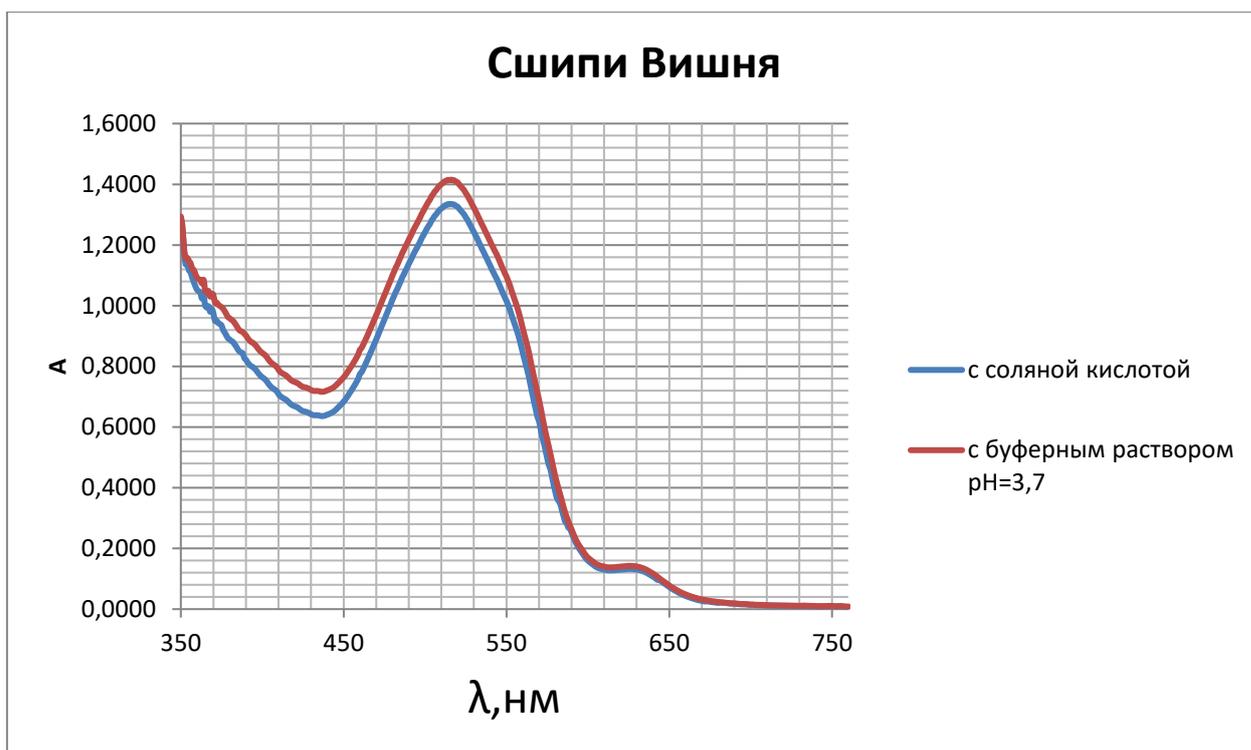


Рис.3.16. ЭМ спектры поглощения лимонада «Старый город» «сшипн» «вишня» в буферном растворе pH=3,7 и 0,1м растворе соляной кислоты

Таблица 3.8.

Спектрофотометрические характеристики объектов исследования

краситель	Длина волны, соответствующая максимуму светопоглощения, нм	A -оптическая плотность раствора при длине волны, указанной в таблице
Сироп «Растибор» (вишня)- E131, E124, E122	516, 505 и 638	0,7214 и 0,7408
Сироп «Пикантна» (малина)- кармуазин	516	0,5569
« Хрусталь Белогорья Люкс» «Дайкири» (понсо 4R, E 150d)	505	0,4296
«Здоровые продукты»	485, 426	1,3277 и 1,2968

краситель	Длина волны, соответствующая максимуму поглощения, нм	A -оптическая плотность раствора при длине волны, указанной в таблице
«Ланжерон» премиум (солнечный закат, тартразин,соки яблочный, белый виноград,грушевый,концентрат черной моркови)		
«Ascania» «гранат» (кармуазин, понсо 4R,гранатовый сок)	505 и 516	
Кармин Водная компания «Старый город» «сшипипи» «вишня» (соки вишневый, яблочный,E150d, E122, E133)	516 и 630	1,4154 и 0,1406

В ЭМ спектрах поглощения лимонадов и сиропов на графиках между кривыми каждого образца небольшие изменения, что говорит о том ,что они являются искусственными красителями.

Исключение составляет образец, содержащий в качестве красителя антоциан.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе была проанализирована специальная литература о красителях и электрофорезе. Также был проведен ряд опытов исследования электрофоретической подвижности взятых образцом красителей, сиропов и готовых очищенных экстрактов антоцианов. В данном случае образцы антоцианов движутся к отрицательно заряженному электроду - к катоду, значит это катафорез. А красители и сиропы движутся к положительно заряженному электроду - к аноду, аналогично это анафорез. Из полученных данных видно, что подвижность антоцианов уменьшается с увеличением рН; подвижность сиропов увеличивается с увеличением рН, а у красителей высокая подвижность при рН=6 (при рН=2,4 и 9 значения приблизительно равны). Также мы можем из эксперимента увидеть в каком направлении движутся заряженные частицы каждого из образцов.

Исходя из полученных данных видно, что натуральные красители содержатся только в одном образце «Абрико вишня», в других синтетические красители.

В лимонадах в составе заявлены натуральные соки и концентраты, но исходя из полученных данных наблюдается только искусственные красители. Отсюда следует, что красителей в их составе нет либо они находятся в нейтральной среде, где их окраска отсутствует (псевдооснования).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андросов. В.Ф., Голомб А.М. Синтетические красители в текстильной промышленности. М.: Лёгкая промышленность, 1968.399с.
2. Винюкова Г.М. Химия красителей. М.: Химия, 1979.296с.
3. Ворожцова Н.Н. Основы химии промежуточных продуктов и красителей Москва: Гос.Тех.Хим.Издат., 1955. 534 с
4. Венкатараман К. Химия синтетических красителей Т. 1-6. Л.: ГНТИ Хим. лит. , 1956., 804 с.
5. Коган И.М. Химия красителей. Изд. 3-е М.: Государственное научно-техническое издательство химической литературы, 1956.696с.
6. Лантев Н.Г. Богословский Б.М. химия красителей. Изд. 2-е М.: Химия, 1970. 424с.
7. Степанов Б.И. Введение в химию и технологию органических красителей. М.: Химия 1977.804 с.
8. Чекалин М.А., Пассет Б.В., Иоффе Б.А. Технология органических красителей и промежуточных продуктов Л.: Химия, 1972.472 с
9. Болотов В.М., Нечаев А.П., Сарафанова Л.А. Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение СПб.: ГИОРД, 2008. 240 с.
10. Сомма М., Кверчи М. Анализ образцов пищевых продуктов на присутствие генетически модифицированных организмов. Электрофорез в агарозном геле. Люксембург: Бюро официальных изданий ЕЭС, 2007.345 с.
11. Коновалова О.Ю., Тимченко В.В., Никитина Н.А. Разделение и определение пищевых красителей Е 110 и Е 122 методом гель-электрофореза, 2014.

12. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М.: Наука, 1981. 548 с.
13. Смирнов Е. В. Пищевые красители. Справочник. — СПб.: Издательство «Профессия», 2009. 352 с.
14. ГОСТ 32050-2013 Продукты пищевые. Методы идентификации и определения массовой доли синтетических красителей в карамели. 11 с.
15. Тыняная И.И. диссертация Разделение, концентрирование и анализ антоцианов и бетацианинов в экстрактах растительного сырья с применением оптических и хроматографических методов.
16. Чибисова М.В., Березкин В.Г. Определение синтетических красителей в пищевых продуктах методами тонкослойной хроматографии, УФ- и ИК-спектроскопии, 2010 г.
17. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений [Текст] : Практ. руководство / Пер. с англ. канд. хим. наук Н. Б. Куплетской и Л. М. Эпштейн ; Под ред. канд. хим. наук А. А. Мальцева. - Москва : Мир, 1965. - 216 с.
18. Пацовский А.П., Рудометова Н. В., Каменцев Я. С. Электрофоретическое определение синтетических красителей в алкогольных напитках // Журнал аналитической химии. 2003. Т.58. № 12. С. 170-175.
19. Натуральные пищевые красители. Харламова О. А., Кафка Б. В., 1979. 190с.
20. Скурихина И. М., Тутельяна В. А. .Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов . М.: Брандес-Медицина, 1998.- 341 с.

21. Тутельян В. А., Суханов Б. П., Австриевских А. Н., Поздняковский В. М. Биологически активные добавки в питании человека. Томск: Издательство науч-но-технической литературы, 1999. 294 с.