

UDC 543.422.3:547.97

DETERMINATION OF FOOD DYES IN BINARY MIXTURES BY ABSORBANCE SUBTRACTION METHOD

Larisa P. Sidorova*¹, Andriy B. Vishnikin^{1,2}, Maryna G. Sydorova¹, Svetlana N. Khudyakova¹¹Oles Honchar Dnipro National University, Chemical Faculty, Department of Analytical Chemistry and Chemical Technology, 72 Gagarin Ave., Dnipro, 49010, Ukraine²University of Pavol Jozef Šafárik in Košice, Moyzesova, 11, Košice, 04001, Slovak Republic

Received 12 March 2023; accepted 20 November 2023; available online 25 January 2024

Abstract

A simple, fast and highly sensitive method for the determination of synthetic food dyes in binary mixtures by the absorbance subtraction method has been developed. In accordance with the requirements of the methodology in the determination of Sunset Yellow (E110), Ponceau 4R (E124) and Tartrazine (E102) dyes, analytical wavelengths $\lambda_{1\text{iso}}=510$ nm and $\lambda_2=560$ nm as well as $\lambda_{1\text{iso}}=450$ nm and $\lambda_2=525$ nm were chosen for the first (E110 and E124) and second (E102 and E110) mixtures, respectively. Simultaneous determination of dyes E124, E110 and E102 is possible with satisfactory accuracy in the range of their concentrations from 1 to 30 $\mu\text{g/ml}$. It was established that the error of the determination of individual dyes by the absorbance subtraction method at isoabsorptive point is at the level of 1–3 % in model mixtures with different ratios of component concentrations. The percentage of the found dye content varied for E110 from 98.7 % to 101.2 %, for E124 – from 98.6 % to 99.2 %, and for E102 – from 98.8 to 101.2 %. It was found that the error of determination of individual dyes by the proposed method is smaller than that obtained by the Firordt method.

Keywords: simultaneous determination; synthetic food dyes; E110 (Sunset Yellow FCF); E124 (Ponceau 4R, Bright red 4R); E102 (Tartrazine) spectrophotometry; absorbance subtraction method.

ВИЗНАЧЕННЯ ХАРЧОВИХ БАРВНИКІВ У БІНАРНИХ СУМІШАХ МЕТОДОМ ВІДНІМАННЯ СВІТЛОПОГЛИНАННЯ В ІЗОАБСОРБЦІЙНІЙ ТОЧЦІ (ABSORBANCE SUBTRACTION METHOD)

Лариса П. Сидорова*,¹ Андрій Б. Вишнікін^{1,2}, Марина Г. Сидорова¹, Світлана М. Худякова¹¹Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, хімічний факультет, кафедра аналітичної хімії та хімічної технології, просп. Гагаріна, 72, Дніпро, 49010, Україна²Університет Павла Йозефа Шафарика у Кошиці, Мойжесова, 11, Кошице, 04001, Словацька Республіка

Анотація

Розроблено просту, експресну та високочутливу методику визначення вмісту синтетичних харчових барвників у бінарних сумішах методом віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці (absorbance subtraction method). При визначенні барвників жовтий «Захід сонця»(E110), Понсо 4R (E124) та Тартразин (E102) у відповідності з вимогами методу обрані наступні аналітичні довжини хвиль $\lambda_{1\text{iso}}=510$ нм, $\lambda_2=560$ нм і $\lambda_{1\text{iso}}=450$ нм, $\lambda_2=525$ нм для першої (E110 і E124) та другої (E102 і E110) суміші відповідно. Одночасне визначення барвників E124, E110 та E102 можливе з задовільною точністю в інтервалі їх концентрацій від 1 до 30 мкг/мл. Встановлено, що похибка визначення індивідуальних барвників методом віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці є на рівні 1–3 % в модельних сумішах з різними концентраційними співвідношеннями компонентів. Відсоток знайдених вмістів барвників варіював для E110 від 98.7 % до 101.2 %, для E124 – від 98.6 % до 99.2 %, для E102 – від 98.8 до 101.2 %. Встановлено, що похибка визначення індивідуальних барвників запропонованим методом нижче, ніж методом Фірордта.

Ключові слова: одночасне визначення; синтетичні харчові барвники; E110 (жовтий «Захід сонця»); E124 (Понсо 4R, Яскраво-червоний 4R); E102 (Тартразин); спектрофотометрія; метод віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці.

*Corresponding author: e-mail: sydorova.lp@gmail.com

© 2023 Oles Honchar Dnipro National University;

doi: 10.15421/jchemtech.v31i4.275326

Вступ

Синтетичні харчові барвники (СХБ) широко застосовуються у харчовій промисловості для надання, посилення або відновлення забарвлення широкого асортименту продуктів харчування. Результати досліджень токсичності СХБ, обумовлені їх (або їх метаболітів) взаємодією із компонентами харчових продуктів і біологічними структурами організму, засвідчують, що практично всі вони здатні, залежно від дози, провокувати небажані токсичні ефекти. В організмі людини СХБ можуть відновлюватися до потенційно небезпечних токсичних сполук, викликати різноманітні алергічні реакції тощо. Так, наприклад, азобарвники Жовтий «Захід сонця» (E110) та Тартразин (E102), які широко застосовуються, можуть відновлюватися до токсичних амінів. Саме через це багато країн світу заборонили використання більшості азобарвників у харчових продуктах. Зважаючи на складну екологічну ситуацію в Україні, вживання харчових продуктів, що містять СХБ (у тому числі азобарвники), сприятиме додатковому хімічному навантаженню на організм, насамперед, дитини. Тому постійний хіміко-токсичний та санітарно-гігієнічний контроль за їх застосуванням у харчовій промисловості постає беззаперечним першочерговим завданням. Згідно із Санітарними правилами і нормами по застосуванню харчових добавок дозволено використання майже 20 найменувань СХБ [1]. Із них 65 % становлять азобарвники, гранично допустимі рівні яких становлять, в залежності від харчового продукту, від 30 до 500 мг/кг (мг/дм³).

Одними з головних методів кількісного визначення азобарвників є хроматографічні [2–5] та вольтамперометричні [6; 7] методи. Втім і спектрофотометрія займає одне з провідних місць [7–13]. Технологія виробництва харчових продуктів передбачає використання не тільки індивідуальних СХБ, але й змішаних композицій. Визначення окремих барвників у цьому разі представляє ряд труднощів. Для випадку, коли спектри речовин дуже сильно або повністю перекриваються, запропоновано багато методів математичної обробки [11–17], але тривають спроби винайти найбільш прості та експресні методи. Тому розробка методів визначення СХБ у сумішах є актуальним аналітичним завданням.

Нещодавно для аналізу бінарних сумішей речовин, спектри яких перекриваються, запропонована група методів, в яких використовується наявність в спектрах ізобестичної або ізобсорбційної точки [10; 13; 18–21]. Одним з найпростіших методів цієї групи є метод віднімання світлопоглинання в ізобсорбційній точці (absorbance subtraction method). Вперше він був запропонований у роботах [18; 21] і далі багато разів використаний у розробці методик аналізу сумішей лікарських речовин. Наскільки нам відомо, для аналізу сумішей барвників або вирішення інших завдань, пов'язаних з аналізом сумішей речовин, спектри яких сильно перекриваються, методи з використанням ізобсорбційної точки поки що не використовувались. Враховуючи зростаючу популярність таких методів і розповсюдженість в продуктах харчування сумішей СХБ, здавалось важливим використати ці методи для розробки методик аналізу бінарних сумішей для трьох часто використовуваних барвників, тобто Понсо 4R (E124), Тартразину (E102) та жовтого «Захід сонця» (E110). Раніше для аналізу сумішей цих барвників був запропонований ряд методик, в тому числі метод багатократних добавок N-Point [11], методи відношення кривих (усередненого центрування та різниці співвідношень) [12], метод похідної спектрофотометрії [8], п'езосенсиори [22] та інші [7]. Частина цих методів потребує великої кількості вимірювань, тобто їх застосування потребує суттєво більших витрат часу. Інші методи характеризуються ускладненою математичною обробкою. Методи з використанням похідних страждають від погіршення точності, яка спричинена операцією диференціювання. Методи, які ґрунтуються на відношенні кривих, сильно залежать від вибору спектру, на який ділять спектри іншого компоненту.

У випадку, коли в спектрах бінарних сумішей в спектрі одного з компонентів є область індивідуального поглинання, методи, які використовують ізобестичну або ізобсорбційну точку, виявляються найбільш простими і точними. Методи даної групи, наскільки нам відомо, досі не використовувались у розробці методик хімічного аналізу в Україні. Мета роботи полягала в розробці простої, експресної спектрофотометричної методики одночасного визначення СХБ в бінарній суміші розрахунковим методом віднімання

світлопоглинання в ізоабсорбційній точці (absorbance subtraction method).

Теоретичні основи методу віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці (absorbance subtraction method)

Цей метод використовується у тих випадках, коли у суміші двох речовин **X** та **Y**, спектри яких перекриваються, є точка перетину за довжини хвилі, яка відповідає ізоабсорбційній точці (обидві речовини мають однаковий коефіцієнт світлопоглинання k за довжини хвилі λ_{iso}), а також в спектрі однієї з речовин (**Y** в даному випадку) є область індивідуального поглинання, тобто в спектрі поглинання речовини **Y** є область за більших довжин хвиль, де світлопоглинанням речовини **X** можна знехтувати.

Ізоабсорбційна точка – це точка перетину в спектрах двох або більше речовин, в якій коефіцієнти світлопоглинання (k) цих речовин є однаковими.

Ізобестична точка – це точка перетину в спектрах двох або більше речовин, в якій молярні коефіцієнти світлопоглинання (ϵ) цих речовин є однаковими.

Коефіцієнт світлопоглинання (absorptivity) – константа, яку отримують, використовуючи закон Бугерта-Ламберта-Бера за умови, що концентрація речовини вимірюється в одиницях г/л, або похідних від неї. Вона чисельно дорівнює оптичній густині розчину з товщиною поглинаючої шару 1 см та концентрації речовини 1 мг/л.

Фактор поглинання F – відношення оптичних густин для речовини, яка має область індивідуального поглинання у суміші (**Y** в даному випадку), за довжини хвилі ізоабсорбційної точки λ_{iso} та довжини хвилі λ_2 , у якій речовина **Y** поглинає, а речовина **X** – ні.

$$F = A_{\lambda_{iso}}^Y / A_{\lambda_2}^Y \quad (1)$$

Положення в спектрі ізоабсорбційної точки знаходять наступними способами. Готують мінімум три розчини сумішей, в яких сума концентрацій речовин (виражені в мг/л) є константою ($C_1 + C_2 = \text{const}$). Це є аналогом ізомолярної серії. Такі спектри можуть перетинатися в одній точці, яка і є ізоабсорбційною точкою ($k_X = k_Y$). Другий спосіб полягає в тому, що будують залежності молярного коефіцієнту світлопоглинання для двох речовин від довжини хвилі і знаходять таким чином ті довжини хвиль, за яких молярні коефіцієнти світлопоглинання двох речовин є однаковими. Перший спосіб є більш наглядним і переважно використовується в літературі [10; 18–21].

У методі, який розглядається, для визначення концентрацій речовин **X** та **Y** у суміші використовується ізоабсорбційна точка в спектрах двох речовин λ_{iso} . У розрахунку використовується фактор поглинання F . За виконання умов методу за рахунок простих математичних операцій отримується вклад в оптичну густину суміші за λ_{iso} обох речовин. Після цього концентрація кожної з речовин розраховується з рівняння градувального графіку, побудованого за λ_{iso} , без необхідності використовувати якийсь інший компліментарний (додатковий) метод.

У процесі виконання експерименту вимірюють світлопоглинання за двох довжин хвиль $\lambda_1 = \lambda_{iso}$ та λ_2 , яким відповідають $A_1 = A_{iso}$ та A_2 . За λ_2 поглинає тільки **Y**, а за λ_{iso} поглинання розчину складається з поглинання двох речовин, тобто $A_1 = A_{iso} = A_X + A_Y$.

Фактор поглинання F розраховується як відношення $A_{\lambda_{iso}}^Y / A_{\lambda_2}^Y$, яке є константою для чистого **Y**. З використанням фактору поглинання можна розрахувати внесок поглинання **Y** та **X** в оптичну густину за λ_{iso} .

$$A_Y = A_2 \times F = A_2 \times A_{\lambda_{iso}}^Y / A_{\lambda_2}^Y, \quad (2)$$

тоді

$$A_X = A_{iso} - A_2 \times F = A_{iso} - A_2 \times A_{\lambda_{iso}}^Y / A_{\lambda_2}^Y \quad (3)$$

Концентрація **X** та **Y** розраховується з об'єднаного рівняння градувального графіку визначення **X** та **Y**, побудованого у ізоабсорбційній точці.

Головним недоліком методу є те, що помилка вимірювання стає надто великою, якщо поглинання компоненту, який має область індивідуального (селективного) поглинання, за вибраної довжини хвилі є малим.

Експериментальна частина

Реагенти і апаратура. У роботі використовували синтетичні харчові барвники: жовтий «Захід сонця» (**E110**), Понсо 4R (**E124**) та Тартразин (**E102**) виробництва Sigma, США. Стандартні розчини барвників з концентрацією 0.1 г/л готували розчиненням точних наважок у дистильованій воді. Робочі розчини готували розведенням безпосередньо перед експериментом. Всі реактиви, використані в роботі, були не нижче кваліфікації «х.ч.». Необхідні значення рН контролювали з використанням універсального іономеру ЕВ-74 зі скляним індикаторним електродом ЕСЛ-63-07 і хлоридносрібним електродом порівняння. Світлопоглинання вимірювали на

спектрофотометрі СФ-46 в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см відносно води. Як

об'єкти аналізу використовували модельні суміші барвників.

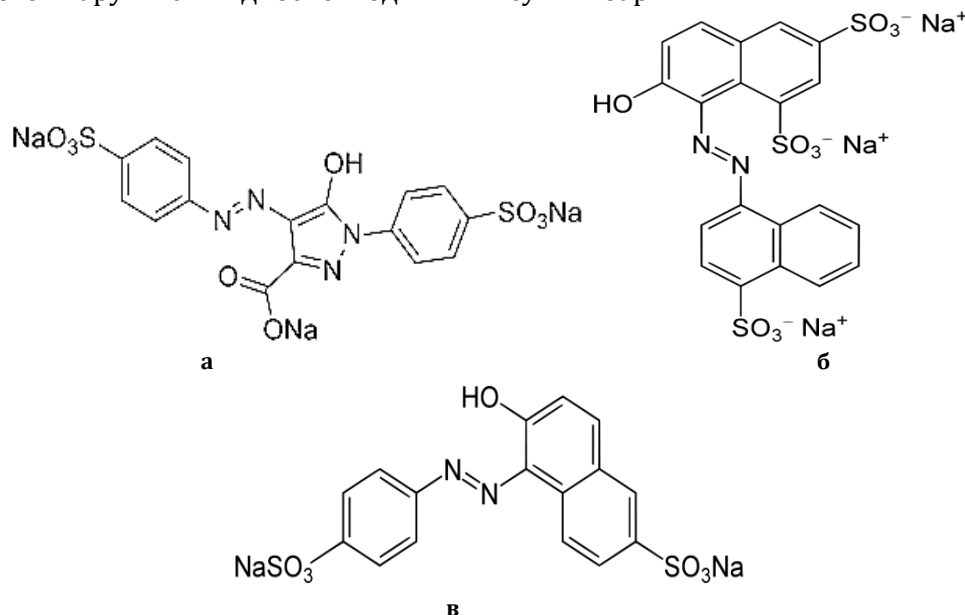


Fig. 1. Structural formulas of dyes: a – E102, б – E124, в – E110
Рис. 1. Структурні формули барвників: а – E102, б – E124, в – E110

Методика аналізу бінарних сумішей синтетичних харчових барвників **E110** і **E124** або **E102** і **E110** методом віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці. Для приготування модельних сумішей барвників (**E110** та **E124**) та (**E102** та **E110**) для кожного з барвників першої суміші в мірні колби ємністю 25 мл відбирали об'єми барвників **E124** і **E110** з концентрацією 0.1 г/л таким чином, щоб отримати розчини з концентрацією від 2 до 16 мг/л з певним співвідношенням. Додаванням 2 мл ацетатного буферного розчину з рН 6.0 створювали необхідну кислотність середовища, доводили об'єм дистильованою водою до позначки, перемішували. У скляній кюветі на 1 см вимірювали світлопоглинання бінарних сумішей за вибраних довжин хвиль 510 нм та 560 нм на спектрофотометрі СФ-46 відносно води. Розраховували фактор поглинання F як відношення $A^{E124}_{\lambda 510}/A^{E124}_{\lambda 560}$, з використанням якого отримували внесок поглинання окремих барвників в оптичну густину бінарної суміші за 510 нм. Концентрацію барвників розраховували з використанням об'єднаного рівняння градувального графіку побудованого для розчинів **E110** та **E124** з відомою концентрацією за 510 нм.

Аналіз суміші інших двох барвників **E102** та **E110** проводили аналогічно, але світлопоглинання бінарних сумішей вимірювали за аналітичних довжин хвиль 450 нм та 525 нм, які були вибрані для

визначення наведених барвників, а фактор поглинання F розраховували як відношення $A^{E110}_{\lambda 450}/A^{E110}_{\lambda 525}$.

Побудова градувальних залежностей. Для побудови градувального графіка для кожного з барвників в мірні колби ємністю 25 мл відбирали певні об'єми розчинів барвників **E124**, **E110** та **E102** з концентрацією 0.1 г/л таким чином, щоб отримати розчини з концентрацією від 1 до 30 мкг/мл. Додаванням 2 мл ацетатного буферного розчину з рН 6.0 створювали необхідну кислотність середовища. Доводили об'єм дистильованою водою до мітки, перемішували. У скляну кювету на 1 см вносили розчини для подальшої реєстрації аналітичного сигналу на спектрофотометрі СФ-46. Світлопоглинання вимірювали за вибраних довжин хвиль, тобто за 510 нм для барвників **E124** і **E110** для першої суміші, та за 450 нм для барвників **E102** і **E110** для другої бінарної суміші. Світлопоглинання розчинів вимірювали відносно води.

Результати та їх обговорення

Застосування методу віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці (absorbance subtraction method) для одночасного спектрофотометричного визначення E110 та E124 та E102 та E110. Для визначення ізоабсорбційної точки готували три бінарні суміші барвників, в яких сумарна концентрація компонентів (мг/л) була константою ($C_{E110} + C_{E124} = 10$ мг/л).

У мірні колби ємністю 25 мл відбирали аликвоти розчинів барвників з концентрацією 0.1 г/л таким чином, щоб отримати розчини з концентрацією **E110** та **E124** (мг/л) відповідно: 10:0 (1); 0:10 (2) та 5:5 (3). Додаванням буферного розчину створювали необхідну кислотність середовища, доводили об'єм до позначки та реєстрували спектри поглинання (Рис. 2а). Точка за 510 нм, в якій перетинаються спектри барвників, і є ізоабсорбційною точкою. Вона була використана для визначення концентрацій окремих барвників у суміші. Для визначення λ_{iso} був застосований і інший спосіб. Для кожного з барвників готували розчини з концентрацією 5 мг/л в мірних колбах на 25 мл з додаванням буферного розчину та будували залежності коефіцієнту світлопоглинання (k , л/(мг см)) для двох речовин від довжини хвилі. Таким чином знаходили $\lambda_{iso} = 510$ нм, за якої коефіцієнти світлопоглинання двох речовин є однаковими. Світлопоглинання модельних сумішей барвників вимірювали за вибраних

довжин хвиль ($\lambda_1 = \lambda_{iso} = 510$ нм та $\lambda_2 = 560$ нм, за якої барвник **E124** поглинає, а **E110** – ні). Для вибору аналітичної довжини хвилі 560 нм враховували, що світлопоглинання барвника **E124** має бути за неї якомога більшим, а внесок в загальне світлопоглинання суміші барвника **E110** є статистично незначущим, тобто менше 0.003 одиниці оптичної густини за всіх концентрацій барвника **E110**, які використовувалися у побудові градувального графіку. Розраховували фактор поглинання F як відношення $A^{E124, \lambda_{iso}}/A^{E124, \lambda_2}$. З використанням F розраховували внесок світлопоглинання барвника **E124** в оптичну густину бінарної суміші за λ_{iso} . Оптичну густину барвника **E110** за $\lambda_{iso} = 510$ нм отримували як різницю оптичної густини суміші за цієї довжини хвилі та оптичної густини барвника **E124**, яка була розрахована раніше. Концентрацію барвників розраховували з об'єднаного рівняння градувального графіку для визначення **E110** та **E124**, побудованого у ізоабсорбційній точці ($\lambda_{iso} = 510$ нм).

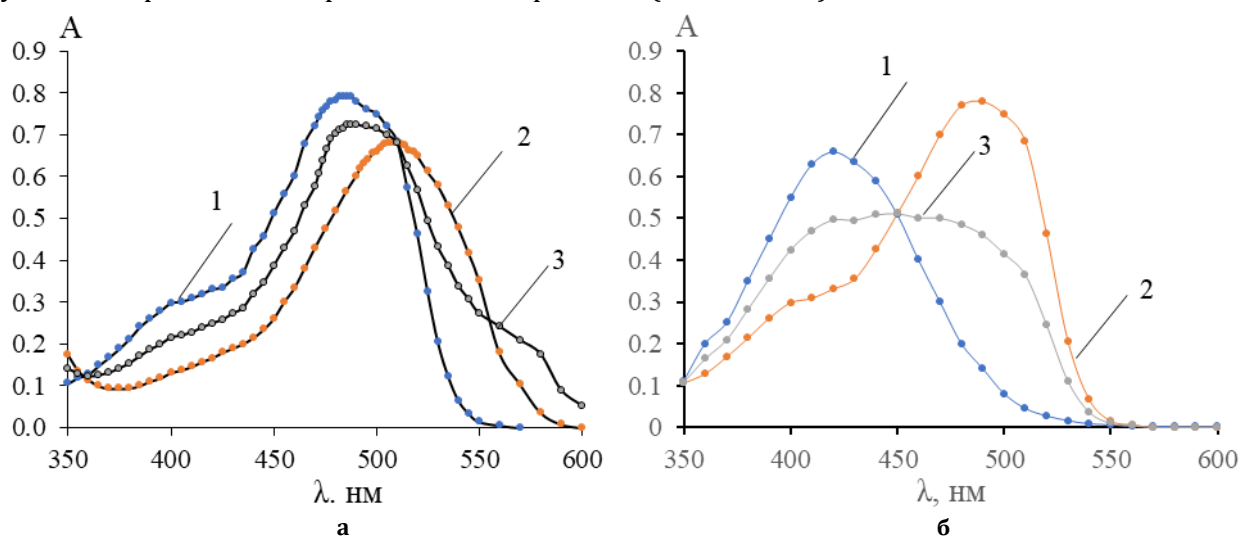


Fig. 2. Absorption spectra of mixtures of dyes E110 and E124 (a) and E102 and E110 (b) with total concentration $C=10 \mu\text{g/ml}$. Composition of mixture a: $C_{E110}=10 \mu\text{g}$, $C_{E124}=0 \mu\text{g}$ (1), $C_{E110}=0 \mu\text{g}$, $C_{E124}=10 \mu\text{g}$ (2), $C_{E110} = 5 \mu\text{g}$, $C_{E124}=5 \mu\text{g}$ (3); Composition of mixture b: $C_{E102}=10 \mu\text{g}$, $C_{E110}=0 \mu\text{g}$ (1), $C_{E102}=0 \mu\text{g}$, $C_{E110}=10 \mu\text{g}$ (2), $C_{E102} = 5 \mu\text{g}$, $C_{E110} = 5 \mu\text{g}$ (3). $\text{pH} = 6$, $\ell = 1 \text{ cm}$. $\lambda_{iso} = 510 \text{ nm}$ (a), $\lambda_{iso} = 450 \text{ nm}$ (b)

Рис. 2. Спектри поглинання сумішей барвників E110 та E124(а) та E102, E110 (б) з сумарною концентрацією $C=10 \text{ мкг/мл}$. Склад суміші а: $C_{E110} = 10 \text{ мкг}$, $C_{E124} = 0 \text{ мкг}$ (1), $C_{E110} = 0 \text{ мкг}$, $C_{E124} = 10 \text{ мкг}$ (2), $C_{E110} = 5 \text{ мкг}$, $C_{E124} = 5 \text{ мкг}$ (3); склад суміші б: $C_{E102} = 10 \text{ мкг}$, $C_{E110} = 0 \text{ мкг}$ (1), $C_{E102} = 0 \text{ мкг}$, $C_{E110} = 10 \text{ мкг}$ (2), $C_{E102} = 5 \text{ мкг}$, $C_{E110} = 5 \text{ мкг}$ (3). $\text{pH} = 6$, $\ell = 1 \text{ см}$. $\lambda_{iso} = 510 \text{ нм}$ (а), $\lambda_{iso} = 450 \text{ нм}$ (б)

Аналіз суміші барвників **E102** та **E110** проводили аналогічно. В індивідуальних спектрах барвників та їх суміші знаходили ізоабсорбційну точку. Вона для даного випадку знаходиться за 450 нм (Рис. 2б). Світлопоглинання модельних сумішей барвників вимірювали за обраних аналітичних довжин хвиль $\lambda_1 = \lambda_{iso} = 450$ нм та $\lambda_2 =$

525 нм, за якої барвник **E110** поглинає, а **E102** – ні. Розраховували фактор поглинання F як відношення $A^{E110, \lambda_{iso}}/A^{E110, \lambda_2}$. Вміст барвників знаходили за градувальними графіками, побудованими за $\lambda_{iso} = 450$ нм.

Рівняння градувальних графіків, діапазон лінійності та коефіцієнти рівняння лінійної регресії представлені у табл. 1. Отримані

рівняння та коефіцієнти кореляції грабую- лінійність у всьому інтервалі досліджуваних вальних залежностей свідчать про їхню концентрацій барвників.

Table 1

Characteristics of calibration graphs for the determination of synthetic food dyes in mixtures by absorbance subtraction method

Таблиця 1

Параметри грабуювальних залежностей для визначення синтетичних харчових барвників у сумішах методом віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці

Барвники	Рівняння	Діапазон концентрацій
E110*	$y = 0.0827x$	2–30
E124*	$y = 0.0760x$	2–30
E102**	$y = 0.0517x$	2–30
E110**	$y = 0.0539x$	2–30

Примітки: * – перша суміш E 110 та E 124 ($\lambda_{iso} = 510$ нм); ** – друга суміш E 102 та E 110 ($\lambda_{iso} = 450$ нм), x – концентрація барвника в мкг/мл.

Для оцінки правильності та визначення, отримані за допомогою методу відтворюваності методики визначення віднімання світлопоглинання в барвників **E124** і **E110** та **E102** і **E110** при їх ізоабсорбційній точці, представлені в спільній присутності нами був проведений таблицях 2 та 3. аналіз модельних сумішей. Результати

Table 2

Results for the determination of E110 and E124 dyes in model mixtures by absorbance subtraction method (n = 5, P = 0.95)

Таблиця 2

Результати визначення барвників E110 та E124 в модельних сумішах методом віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці (n = 5, P = 0.95)

Склад суміші (мкг/мл) (E110: E124)	(C(E110) $\pm\Delta$), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %	(C(E124) $\pm\Delta$), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %
4 : 16	3.98 \pm 0.09 (0.02)	99.5	16.07 \pm 0.25 (0.02)	100.4
6 : 14	6.07 \pm 0.11 (0.02)	101.2	14.04 \pm 0.27(0.02)	100.3
8 : 12	8.09 \pm 0.14 (0.02)	101.1	11.98 \pm 0.21 (0.02)	99.8
10 : 10	9.99 \pm 0.15 (0.02)	99.9	10.02 \pm 0.18 (0.02)	100.2
12 : 8	12.10 \pm 0.17 (0.01)	100.8	8.03 \pm 0.19 (0.02)	100.4
14 : 6	14.09 \pm 0.25 (0.02)	100.6	5.97 \pm 0.13 (0.02)	99.5
16 : 4	16.10 \pm 0.27 (0.02)	100.6	3.97 \pm 0.07 (0.02)	99.3

Table 3

Results for the determination of E102 and E110 dyes in model mixtures by absorbance subtraction method (n = 5, P = 0.95)

Таблиця 3

Результати визначення барвників E102 та E110 в модельних сумішах методом віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці (n = 5, P = 0.95)

Склад суміші (мкг/мл) (E102: E110)	(C(E102) $\pm\Delta$), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %	(C(E110) $\pm\Delta$), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %
4 : 16	3.95 \pm 0.08 (0.02)	98.8	15.91 \pm 0.29 (0.02)	99.4
6 : 14	5.93 \pm 0.12 (0.02)	98.8	14.09 \pm 0.28(0.02)	100.6
8 : 12	8.09 \pm 0.15 (0.02)	101.1	12.15 \pm 0.27 (0.02)	101.2
10 : 10	9.94 \pm 0.16 (0.02)	99.4	10.12 \pm 0.21 (0.02)	101.2
12 : 8	12.14 \pm 0.21 (0.01)	101.2	8.08 \pm 0.18 (0.02)	101.0
14 : 6	14.12 \pm 0.26 (0.02)	100.9	5.92 \pm 0.13 (0.02)	98.7
16 : 4	16.18 \pm 0.31 (0.02)	101.1	3.96 \pm 0.11 (0.03)	99.0

Одночасне визначення барвників **E124** і **E110** та **E102** і **E110** можливе з задовільною точністю в інтервалі їх концентрацій від 1 до 30 мкг/мл. Була оцінена прецизійність одночасного визначення барвників методом віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці (табл. 2, 3). Метод характеризуються задовільною відтворюва-

ністю. Відносне стандартне відхилення знаходилося в інтервалі від 1 до 2 %. Коефіцієнти лінійної кореляції грабуювальних залежностей методу були не нижче 0.998.

Спектрофотометричне визначення барвників E110 та E124 та E102 та E110 у бінарній суміші методом Фірордта. Для

визначення аналітичних довжин хвиль за методом Фірордта вимірювали спектри поглинання індивідуальних барвників з концентрацією 10 мг/л. Розраховували різницю $A(E110) - A(E124)$ та $A(E102) - A(E110)$ за кожної довжини хвилі, будували графік залежності $\Delta A = f(\lambda)$. Максимальне та

мінімальне значення на отриманих кривих були обрані як аналітичні довжини хвиль, що склали 470 та 535 нм для першої суміші та 430 та 505 нм для другої суміші барвників. Концентрацію кожного барвника в модельних сумішах визначали за обраних довжин хвиль за формулами:

$$C_1 = \varepsilon_2 \lambda_2 A_1 - \varepsilon_2 \lambda_1 A_2 / (\varepsilon_1 \lambda_1 \varepsilon_2 \lambda_2 - \varepsilon_1 \lambda_2 \varepsilon_2 \lambda_1) \ell \quad (4)$$

$$C_2 = \varepsilon_1 \lambda_1 A_2 - \varepsilon_1 \lambda_2 A_1 / (\varepsilon_1 \lambda_1 \varepsilon_2 \lambda_2 - \varepsilon_1 \lambda_2 \varepsilon_2 \lambda_1) \ell \quad (5)$$

Результати визначення концентрацій, отриманих за методом Фірордта, представлені в таблицях 4 та 5.

Table 4

Results for the determination of E110 and E124 dyes in model mixtures by Firordt's method (n = 5, P = 0.95)

Таблиця 4

Результати визначення барвників E110 та E124 в модельних сумішах методом Фірордта (n = 5, P = 0.95)

Склад суміші (мкг/мл) (E110: E124)	(C(E110)±Δ), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %	(C(E124)±Δ), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %
4 : 16	4.10±0.09 (0.02)	102.5	15.59±0.45 (0.03)	97.4
6 : 14	6.11±0.15 (0.02)	101.8	13.76±0.39(0.03)	98.3
8 : 12	8.17±0.19 (0.02)	102.1	11.98±0.31 (0.03)	99.8
10 : 10	9.10±0.25 (0.03)	101.1	10.08±0.28 (0.03)	100.8
12 : 8	12.33±0.37 (0.03)	102.8	8.19±0.21 (0.03)	102.4
14 : 6	14.22±0.45 (0.03)	101.6	6.21±0.17 (0.03)	103.5
16 : 4	16.41±0.59 (0.04)	102.6	4.17±0.11 (0.03)	104.3

Table 5

Results for the determination of E102 and E110 dyes in model mixtures by Firordt's method (n = 5, P = 0.95)

Таблиця 5

Результати визначення барвників E102 та E110 в модельних сумішах методом Фірордта (n = 5, P = 0.95)

Склад суміші (мкг/мл) (E102: E110)	(C(E102)±Δ), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %	(C(E110)±Δ), мкг/мл, (S _r)	Сзнайдено/Свведено, %
4 : 16	3.95±0.11 (0.03)	97.8	15.74±0.49 (0.03)	98.4
6 : 14	5.93±0.19 (0.03)	98.8	14.22±0.38(0.03)	101.6
8 : 12	8.09±0.25 (0.03)	101.1	12.26±0.32 (0.03)	102.2
10 : 10	9.94±0.36 (0.04)	100.4	10.12±0.29 (0.03)	101.2
12 : 8	12.14±0.41 (0.03)	101.2	8.16±0.25 (0.03)	102.0
14 : 6	14.12±0.46 (0.03)	102.9	5.92±0.19 (0.03)	98.7
16 : 4	16.18±0.51 (0.03)	103.1	3.96±0.15 (0.04)	99.2

Як видно з представлених даних, відсоток знайдених вмістів барвників у сумішах методом Фірордта варіював від 97.4 до 104.3 %. Тобто відносна похибка визначення для барвників становила в середньому від 2 до 3%, а відносне стандартне відхилення, як правило, знаходилось в інтервалі від 2 до 4 %. Це каже про те, що використання стандартного методу аналізу сумішей не привело до покращення точності і відтворюваності визначення, а навіть супроводжувалося деяким погіршенням цих параметрів у порівнянні з запропонованим методом.

Висновки

Підтверджено, що метод віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці

може бути успішно застосований для аналізу бінарних сумішей речовин, спектри яких перекриваються. В методі використовуються прості математичні маніпуляції, які враховують наявність у спектрах суміші ізоабсорбційної точки, з тим, щоб визначити внесок кожного компоненту. Після цього кожна речовина може бути визначена окремо за допомогою одного й того ж рівняння регресії (уніфіковане рівняння регресії) без необхідності використання додаткового спектрофотометричного методу. Метод обмежений випадками аналізу сумішей, в яких для однієї з речовин є область індивідуального поглинання. Також передумовою є достатньо високе поглинання другої речовини в цій області. Зі зменшенням

ступеню поглинання відповідної речовини в області її індивідуального поглинання відносна помилка визначення обох речовин має зростати. Метод потребує мінімально можливої кількості вимірювань, є простим і відносно експресним.

Показано, що у випадку аналізу бінарних сумішей барвників **E124** і **E110** та **E102** і **E110** відносна похибка визначення виявилася меншою, ніж за використання стандартного методу Фірордта. Це каже про перспективність подальшого застосування використаного підходу для аналізу сумішей харчових барвників. Розроблена методика одночасного визначення барвників у модельних бінарних сумішах **E124** і **E110** та **E102** і **E110** характеризується високою чутливістю, відтворюваністю та експресністю. Використання даної методики дозволяє визначити барвники в їх сумісній присутності

у бінарних сумішах **E124** і **E110** та **E102** і **E110** в інтервалі їх концентрацій від 1 до 30 мкг/мл. Похибка визначення барвників в більшості випадків не перевищувала 1.5 %.

Враховуючи доступність обладнання, простоту, експресність запропонованої методики визначення індивідуальних барвників у суміші без попереднього розділення, застосування методу віднімання світлопоглинання в ізоабсорбційній точці може бути ефективним у контролі вмісту синтетичних харчових барвників у напоях, сиропках, цукерках, кисляках тощо.

Acknowledgments

Funded by the EU NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under the project No. 09103-03-V01-00106 (Andriy Vyshnikin).

References

- [1] [Sanitary norms and rules for the use of food additives]. (1996). No. 222 (In Ukrainian).
- [2] Chmilenko, F.A., Sidorova, L.P., Minaeva, Y.A., Shkurovskaya, K.V. (2014). [Extraction-chromatographic determination of the content of synthetic dyes in food]. *Issues of Chemistry and Chemical Technology*, (2), 45–49 (in Ukrainian).
- [3] Minaeva, N. P., Sandomirskii, A. V., Sidorova, L. P., Chmilenko, F. A. (2009). Speedy technique of chromatographic determination of toxic metals in drinking water. *J. Water Chem. Technol.* 31(5), 305–309. <https://doi.org/10.3103/S1063455X09050051>
- [4] Chmylenko, F. O., Minayeva, N. P., Sandomyrs'kyi, O. V., Sidorova, L.P. (2008). [Identification of dyes in beverages by high-performance liquid chromatography]. *Kharchova promyslovist'*, (7), 17–19 (in Ukrainian).
- [5] Bibik, O. V., Stets, N. V., Boyko Ye. S. (2003). [Study of the possibility of determining dyes in drinks by capillary electrophoresis with photometric detection]. *Issues of Chemistry and Chemical Technology*, (6), 9–11 (in Ukrainian).
- [6] Bevziuk K., Chebotarev, A., Koicheva, A., Snigur, D. (2018). Adsorption of anionic food azo dyes from aqueous solution by silica modified with cetylpyridinium chloride. *Monatsh. Chem.* 149(12), 2153–2160. <http://dx.doi.org/10.1007/s00706-018-2301-0>
- [7] Dubenska, L. O., Dmukhailo, A. V., Tvorynska, S. I., Rydchuk, P. V., Dubenska, L. V. (2020). Synthetic food dyes – some aspects of use and methods of determination. *Methods and Objects of Chemical Analysis* 15(1), 5–20. <https://doi.org/10.17721/moca.2020.5-20>
- [8] Sidorova, L., Bokhan, Yu., Kormosh, Zh., Plonsak, P., Pavlenko Yu. (2020) Simultaneous determination of the content of synthetic dyes E110 and E124 in the mixture. *Forensic Bulletin*, 33(1), 81–93. [doi: 10.37025/1992-4437/2020-33-1-81](https://doi.org/10.37025/1992-4437/2020-33-1-81)
- [9] Osman, E. E. A. (2018). Analytical investigation of different mathematical approaches utilizing manipulation of ratio spectra. *Spectrochim. Acta A* 188, 469–477. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.07.024>
- [10] Salem, H., Mohamed, D. A. (2015). Comparative study of smart spectrophotometric methods for simultaneous determination of a skeletal muscle relaxant and an analgesic in combined dosage form. *Spectrochim. Acta A* 140, 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.12.099>
- [11] Sidorova, L. P., Vishnikin, A. B., Voloboy, A. O. (2019). Simultaneous spectrophotometric determination of food dyes in binary mixtures by H-point standard addition method. *J. Chem. Technologies* 27(2), 276–284. <https://doi.org/10.15421/081928>
- [12] Sidorova, L. P., Vishnikin, A. B., Sidorova, M. G. (2022). Simultaneous determination of synthetic food dyes in binary mixtures by Mean centering and Ratio difference methods. *J. Chem. Technologies* 30(2), 298–306. <https://doi.org/10.15421/jchemtech.v30i2.259255>
- [13] Lotfy, H. M., Amer, S. M., Zaazaa, H. E., Mostafa, N. S. (2015). A comparative study of the novel spectrophotometric methods versus conventional ones for the simultaneous determination of Esomeprazole magnesium trihydrate and Naproxen in their binary mixture. *Spectrochim. Acta A* 151, 538–546. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.07.007>
- [14] Vishnikin, A. B., Miekh, Yu. V., Bazal, Ya. R., Al-Shwaiyat, M. E. A., Petrushina, G. O. (2019). Simultaneous kinetic spectrophotometric determination of ascorbic acid and cysteine with an optical probe by mean centering of Ratio Kinetic Profiles method. *Methods Objects Chem. Anal.* 14(3), 163–170. <https://doi.org/10.17721/moca.2019.163-170>
- [15] Vishnikin, A., Miekh, Yu., Denisenko, T., Bazal, Ya., Andruch, V. (2018). Use of sequential injection analysis with lab-at-valve and optical probe for simultaneous spectrophotometric determination of ascorbic acid and cysteine by mean centering of ratio kinetic profiles. *Talanta*, 188, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.056>
- [16] Al-Shwaiyat, M. K. E. A., Miekh, Y. V., Denisenko, T. A., Vishnikin, A. B., Andruch, V., Bazal, Ya. R. (2018).

- Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid in a sequential injection lab-at-valve system. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 149, 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.006>
- [17] Al-Shwaiyat, M. E. A., Denisenko, T. A., Miekh, Yu. V., Vishnikin, A. B., Bazel, Ya. R. (2017). Simultaneous kinetic determination of ascorbic acid and analgin in pharmaceuticals by H-point standard addition method. *Bulletin of Dnipropetrovsk university. Series Chemistry* 25(2), 93–102. <https://doi.org/10.15421/081713>
- [18] Lotfy, H. M. (2014). Absorbance subtraction and amplitude modulation as novel spectrophotometric methods for the analysis of binary mixtures. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 6(1), 735–741.
- [19] Lotfy, A. M., Erk N., Rostom Y. (2019). Developing spectral numerical factor technique for the determination of amlodipine besylate and the latest generation of statins in their new pharmaceutical combination. *Spectrochim. Acta A* 218, 320–330. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.04.017>
- [20] Lotfy, H. M., Saleh, S. S., Hassan, N. Y., Salem, H. A. (2014). Comparative study of novel spectrophotometric methods based on isosbestic points; application on a pharmaceutical ternary mixture. *Spectrochim. Acta A* 126, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.01.130>
- [21] Lotfy, H. M., Hegazy, M. A., Rezk, M. R., Omran, Y. R. (2014). Novel spectrophotometric methods for simultaneous determination of timolol and dorzolamide in their binary mixture. *Spectrochim. Acta A* 126, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.02.005>
- [22] Khalzova, S. A., Krivonosova, D. A., Zyablov, A. N., Duvanova, O. V. (2017). Determination of E102, E110, E122, E124 synthetic dyes in soft drinks by modified piezosensors. *Analytics and control*, 21(2), 85–92 (in Russian). <https://doi.org/10.15826/analitika.2017.21.2.006>