

УДК 543.422.3

## СПОСОБ ПРОБОПОДГОТОВКИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ВОДОРАСТВОРИМЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ТРИАРИЛМЕТАНОВОГО РЯДА

© 2022 г. А. Н. Зяблов<sup>а</sup>, \*, С. А. Хальзова<sup>б</sup>, О. В. Дуванова<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Воронежский государственный университет, химический факультет  
Университетская пл., 1, Воронеж, 394018 Россия

<sup>б</sup>МУП «Очистные сооружения» Борисоглебского городского округа Воронежской области  
ул. Привольная, 2, Борисоглебск, Борисоглебский р-н, Воронежская обл., 397166 Россия

\*e-mail: alex-n-z@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.05.2021 г.

После доработки 14.07.2021 г.

Принята к публикации 14.07.2021 г.

Предложен способ пробоподготовки при определении водорастворимых красителей триарилметанового ряда с помощью твердофазной экстракции на  $\gamma$ -оксиде алюминия. Спектрофотометрически определены константы протолиза функциональных групп триарилметановых красителей. Установлена зависимость извлечения красителей оксидом алюминия от pH раствора. Показано, что степень извлечения триарилметановых красителей максимальна при pH 4 и зависит от наличия ионизированных сульфогрупп и количества конденсированных бензольных колец в молекуле.

**Ключевые слова:** триарилметановые красители, оксид алюминия, твердофазная экстракция, константы протолиза.

**DOI:** 10.31857/S0044450222010182

Синтетические красители находят широкое применение в различных сферах промышленности благодаря высокой красящей способности при малом количестве красителя, стабильности к нагреванию и свету, устойчивости окраски при хранении продукта, а также их низкой себестоимости по сравнению с натуральными красителями. В частности, их используют в качестве заменителей натуральных пигментов в безалкогольных напитках. Наибольшую опасность представляет превышение дозировки и применение запрещенных красителей [1], поэтому контроль содержания синтетических красителей в продуктах питания – весьма актуальная задача. Основная проблема при определении красителей в пищевых продуктах и других объектах заключается в необходимости их экстракции из сложных матриц различными сорбентами [2–11]. Твердофазная экстракция (ТФЭ) обладает широкими возможностями варьирования природы и силы специфических взаимодействий между сорбентом и сорбатом, что позволяет проводить селективное выделение целевых компонентов из пищевых матриц. Однако часто извлечение проходит неполно, поскольку не учитывается влияние pH, и происходит разрушение молекул красителя. Для повышения степени извлечения и выбора оптимальных условий твердофазной экстракции син-

тетических красителей необходимо изучить их кислотно-основные свойства и сорбционное поведение при изменении pH. Кроме того, анализ литературы показал отсутствие данных по величинам констант протолиза (pK) функциональных групп красителей триарилметанового ряда.

Цель настоящей работы – разработка способа извлечения красителей из водных растворов сорбентом оксидом алюминия для их спектрофотометрического определения.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реагенты и аппаратура.** Использовали красители синий патентованный V (E131) (Roха, Индия), синий блестящий FCF (E133) и зеленый S (E142) (Fluka® Analytical, США) со степенью чистоты 80–85%. Исходные растворы красителей (1 г/л) готовили растворением точной навески в дистиллированной воде. Рабочие растворы (0.005 г/л) получали разбавлением исходного раствора. Для создания необходимого pH использовали 0.1 М HCl и 0.1 М раствор NaOH, стандарт-титры для pH-метрии (ЗАО НП и ИП «Уралхиминвест», Россия).

Для экстракции синтетических красителей из водных растворов использовали твердофазный патрон, заполненный оксидом алюминия для высокоэффективной жидкостной хроматографии

( $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ , размер частиц 0.1–0.25 мм, ТУ 2163-011-51444844-2005).

Синтетические красители экстрагировали из модельных водных растворов следующим образом: 10 мл исследуемого раствора с необходимым значением pH (pH раствора доводили до нужного значения 0.1 М HCl) пропускали через патрон, заполненный оксидом алюминия массой 7 г, а затем промывали 20 мл дистиллированной воды. Красители десорбировали 20 мл 14.7 М водного раствора аммиака. Собранный элюат выпаривали досуха на водяной бане. Остаток растворяли в 10 мл дистиллированной воды для спектрофотометрического определения красителей.

Аналогично экстрагировали красители из безалкогольных напитков. Однако поскольку пищевые матрицы характеризуются высоким содержанием добавок (сахар – 300 г/л; лимонная кислота – 4 г/л и др.), затрудняющих сорбцию красителей, для устранения их влияния после сорбции сорбент промывали 1%-ным раствором уксусной кислоты. Обработка раствором уксусной кислоты способствует более полному удалению из сорбента добавок, входящих в состав безалкогольных напитков [12].

Красители определяли в водных растворах по градуировочным графикам на спектрофотометре ПЭ-5300В (ПромЭкоЛаб, Санкт-Петербург, Россия). Спектральный диапазон 325–1000 нм. Погрешность установки длины волны не более  $\pm 2$  нм. Пределы абсолютной погрешности при измерении спектральных коэффициентов направленного пропускания не более  $\pm 0.5\%$   $T$ . Для построения градуировочных графиков готовили стандартные растворы выбранных красителей из исходных растворов методом последовательного разбавления в диапазоне концентраций 0.001–0.02 г/л.

По полученным данным рассчитывали степень извлечения ( $R$ , %):

$$R, \% = \frac{c_0 - c}{c_0} \times 100\%, \quad (1)$$

где  $c_0$  – концентрация определяемого вещества в растворе до экстракции, г/л;  $c$  – концентрация вещества в растворе после экстракции, г/л.

Значения коэффициентов распределения красителей ( $D$ ) находили по уравнению:

$$D = \frac{R, \%}{(100 - R, \%)} \frac{V}{m}, \quad (2)$$

где  $V$  – объем анализируемого раствора, л;  $m$  – масса навески сорбента, г.

Значения pH контролировали pH-метром МАРК-901 (Н. Новгород, Россия). Пределы допускаемой основной абсолютной погрешности  $\pm 0.1$  ед. pH.

**Методика эксперимента.** Триарилметановые красители имеют хромофорную группу (хиноидное ядро), поэтому для определения констант протолиза применяли спектрофотометрический метод. Для создания необходимого значения pH раствора использовали 0.1 М HCl, 0.1 М раствор NaOH и буферные растворы, приготовленные из стандарт-титров для pH-метрии (гидротартрат калия  $\text{K}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ , насыщенный при 25°C с pH 3.56; гидрофталат калия  $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4\text{K}$  0.05 моль/кг с pH 4.01; дигидрофосфат калия  $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$  0.025 моль/кг и гидрофосфат натрия  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.025 моль/кг с pH 6.86; тетраборат натрия  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  0.01 моль/кг с pH 9.18). Затем снимали спектры поглощения индивидуальных растворов, содержащих только один вид ионов, находящихся в равновесии с недиссоциированной формой, при длине волны 640 нм. По экспериментальным данным рассчитывали константы протолиза по уравнениям (3) и (4). Если определяемая функциональная группа кислотная, то использовали уравнение (3), если основная, то уравнение (4):

$$\text{pKa} = \text{pH} + \lg \frac{A_1 - A}{A - A_m}, \quad (3)$$

$$\text{pKa} = \text{pH} + \lg \frac{A - A_m}{A_1 - A}, \quad (4)$$

где  $A$  – оптическая плотность раствора, содержащего обе ионные формы при одной и той же длине волны;  $A_m$  и  $A_1$  – оптические плотности при выбранной длине волны, отвечающие полному превращению в одну из крайних ионных форм [13].

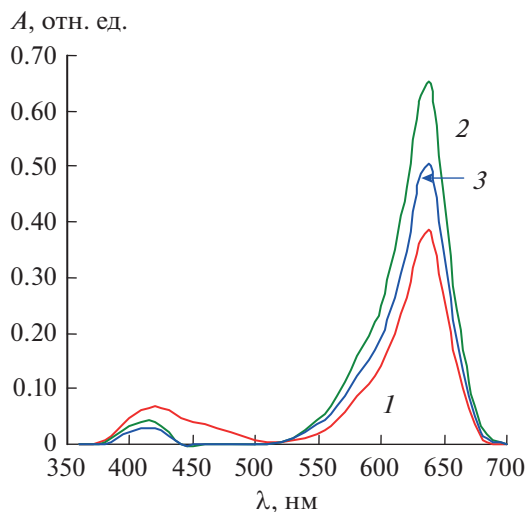
В работе также использовали метод добавок [14]:

$$c_x = \frac{c_{\text{доб}} A_x V_{\text{доб}}}{(A_{x+\text{доб}} - A_x) V_{x+a}}, \quad (5)$$

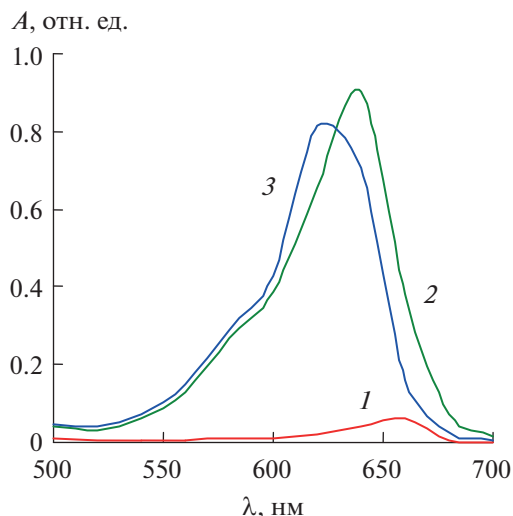
где  $A_x$  – оптическая плотность исследуемого раствора;  $A_{x+\text{доб}}$  – оптическая плотность исследуемого раствора с добавкой;  $c_x$  – неизвестная концентрация определяемого вещества в исследуемом окрашенном растворе;  $c_{\text{доб}}$  – концентрация добавки в исследуемом растворе (из расчета только добавленного количества);  $V_{\text{доб}}$  – объем раствора добавки, мл;  $V_{x+a}$  – объем окрашенного исследуемого раствора с добавкой, мл.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Триарилметановые красители представляют собой соли слабых оснований. При действии воды они гидролизуются. В зависимости от pH среды равновесие может быть сдвинуто либо в сторону бесцветной недиссоциированной ( $\text{pH} > 7$ ), либо окрашенной диссоциированной ( $\text{pH} < 7$ ) формы. Наличие окраски триарилметановых красителей обусловлено цепью сопряжения, вклю-



**Рис. 1.** Спектры поглощения водных растворов красителя синего блестящего FCF E133 при значениях pH 0.97 (1), 4.86 (2), 13.01 (3).



**Рис. 2.** Спектры поглощения водных растворов красителя синего патентованного V E131 при значениях pH 2.16 (1), 6.31 (2), 13.61 (3).

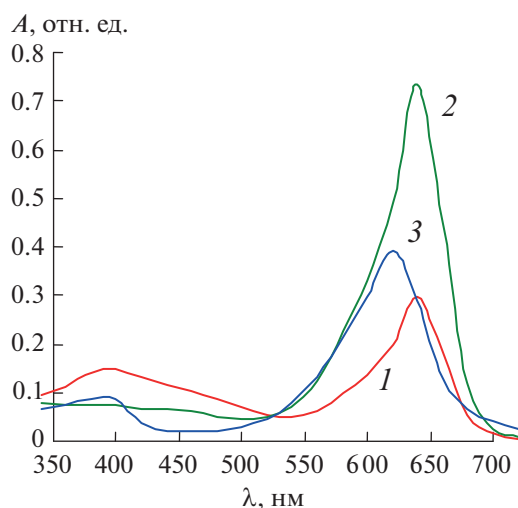
чающей бензольные кольца, и присутствием донорно-акцепторных заместителей, вызывающих ионизацию молекулы [15, 16]. Установлено, что все ионные формы красителя E133 (рис. 1) имеют полосы поглощения при длине волны 640 нм (табл. 1), в случае красителей E131 и E142 в щелочной среде происходит гипсохромное смещение полос поглощения (рис. 2, 3). Такое смещение можно объяснить перераспределением электронной плотности при отщеплении протона от гидроксильной группы, которая находится у E131 в *мета*-, а у E142 в *орто*-положении к центральному атому углерода. При pH < 7 наблюдается гиперхромный эффект (увеличение интенсивности поглощения), который связан с нарушением пространственной симметрии молекулы из-за протонирования сульфогрупп и перераспределением электронной плотности в хиноидном кольце [17, 18]. При увеличении pH от 7 до 10 происходит снижение интенсивности поглощения, связанное с диссоциацией второй сульфогруппы и восстановлением пространственной симметрии молекулы.

Диаграммы распределения ионных форм красителей представлены на рис. 4. Рассчитанные по уравнениям (3) и (4) константы протолиза синтетических красителей приведены в табл. 2.

Таким образом, все изученные триарилметановые красители в зависимости от pH находятся в водном растворе в виде однозарядных катионов, биполярных ионов или одно-двухзарядных анионов.

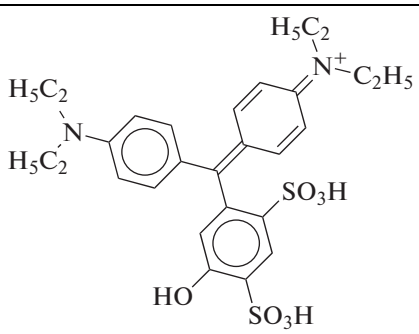
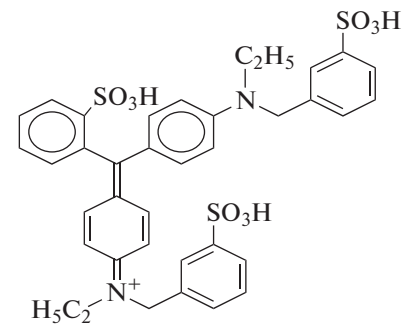
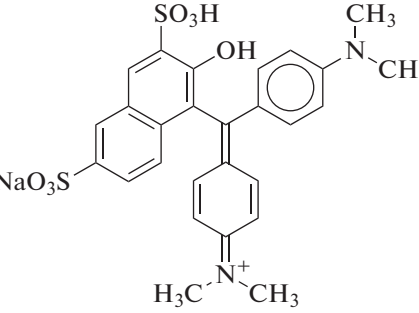
Оксид алюминия представляет собой полярный адсорбент с гетерогенной поверхностью, имеющий активные кислотные и основные брэнстедовские, кислотные льюисовские центры. За-

висимость степени извлечения красителей на оксиде алюминия от pH раствора представлена на рис. 5. На сорбцию триарилметановых красителей на поверхности оксида алюминия влияет pH среды. При уменьшении pH увеличивается число брэнстедовских кислотных центров на поверхности, что приводит к росту общего положительного заряда [19, 20] и существенно отражается на сорбции красителей. По формулам (1) и (2) рассчитали степени извлечения и коэффициенты распределения красителей на оксиде алюминия. Данные представлены в табл. 3.



**Рис. 3.** Спектры поглощения водных растворов красителя зеленого S E142 при значениях pH 1.02 (1), 5.45 (2), 12.94 (3).

**Таблица 1.** Значение  $\lambda_{\max}$  и коэффициента молярного поглощения ( $\epsilon$ ) красителей при разных условиях

Краситель	Формула	pH ( $\pm 0.1$ )	$\lambda_{\max}$ , нм	$\epsilon \times 10^{-4}$ , л моль $^{-1}$ см $^{-1}$
Синий патентованный V; E131		2.16	660	0.75
		6.31	638	10.51
		13.61	620	9.47
Синий блестящий FCF; E133		0.97	640	6.06
		4.86	640	10.29
		13.01	640	7.98
Зеленый S; E142		1.02	640	3.40
		5.45	640	8.48
		12.94	620	4.51

На основании полученных данных можно предложить следующую схему процессов сорбции: в кислой области преобладают электростатические взаимодействия между положительно заряженной поверхностью оксида алюминия и биполярными ионами или анионами красителей (рис. 6а). Так, для E142 увеличение сорбции при  $\text{pH} < 2$  связано с взаимодействием OH-групп с ионами алюминия по механизму комплексообразования (рис. 6б) [21, 22]. Степень извлечения красителей E131 и E133 максимальна при  $\text{pH} 4$ , для E142 при  $\text{pH} 1-4$  (табл. 3). При увеличении  $\text{pH}$  сорбция триарилметановых красителей уменьшается, что связано с перераспределением электронной плотности в структуре молекулы и уменьшением доли электростатических взаимодействий. Вблизи точки нулевого заряда (для  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  это  $\text{pH} 7.4$ ) преобладает сорбция за счет специфических взаимодействий сопряженной  $\pi$ -системы

красителей и гидроксильных групп поверхности (рис. 6в) [23]. Этим можно объяснить близость коэффициентов распределения красителей E133 и E142 при  $\text{pH} 7.5-9.0$  (табл. 3). Сорбция красителя E131 с увеличением  $\text{pH}$  раствора уменьшается незначительно. Вероятно, это связано с тем, что молекула этого красителя более симметричная и возможно дополнительное взаимодействие иона  $=\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_2$  в водном растворе с основными центрами оксида алюминия (рис. 6г). При  $\text{pH} > 9$  поверхность оксида алюминия заряжается отрицательно, что приводит к падению сорбции, так как в этих условиях триарилметановые красители отрицательно заряжены.

Степень извлечения триарилметановых красителей при  $\text{pH} 2-4$  зависит от наличия ионизированных сульфогрупп и количества бензольных колец. Максимальная степень извлечения триарилметановых красителей наблюдается при  $\text{pH} 4$ ,

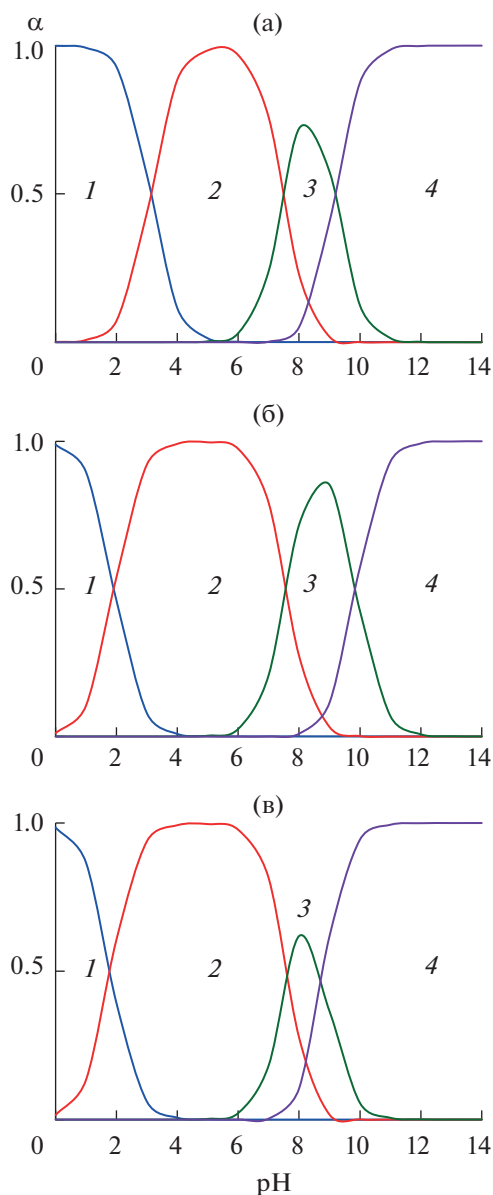


Рис. 4. Диаграммы распределения ионных форм триарилметановых красителей E131 (а), E133 (б), E142 (в): 1 –  $\text{H}_3\text{R}^+$ , 2 –  $\text{H}_2\text{R}^{\pm}$ , 3 –  $\text{HR}^-$ , 4 –  $\text{R}^{2-}$ .

когда красители в растворе находятся преимущественно в форме биполярных ионов. В этом случае сорбция осуществляется за счет электростатических взаимодействий биполярных ионов с положительно заряженной поверхностью оксида алюминия.

В отличие от методики ГОСТ [24], разработанный нами способ пробоподготовки при определении водорастворимых красителей триарилметанового ряда проще в исполнении, не требует предварительного промывания твердофазного патрона раствором уксусной кислоты, что позволяет сократить количество используемых реакти-

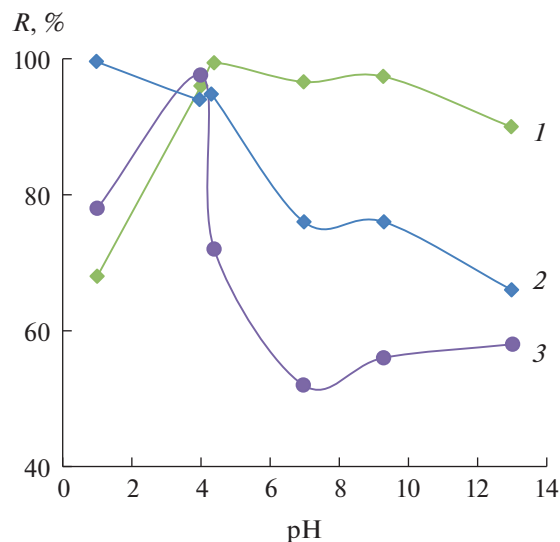


Рис. 5. Зависимость степени извлечения красителей на оксиде алюминия от pH: 1 – синий патентованный V E131, 2 – зеленый S E142, 3 – синий блестящий FCF E133.

вов и соответственно время пробоподготовки. Правильность определения красителей в модельных растворах с использованием предложенного способа пробоподготовки проверяли методом введено–найдено (табл. 4). Установлено, что относительное стандартное отклонение не превышает 10%.

С помощью предложенного способа провели пробоподготовку безалкогольных напитков: морса “Северная ягода” (Фруктовый сад), “Сочни со вкусом малины и черники” (АкваТрайпл), “Тархун Star Bar” (ООО “ФКПЧФ Бобимэкс тм”) с последующим спектрофотометрическим определением красителей. В исследованных напитках обнаружили красители E131 и E133 в дозировках, не превышающих рекомендуемые 10–15 мг/мл (табл. 5).

Для оценки правильности спектрофотометрического определения красителей в безалкогольных напитках применяли метод добавок (табл. 6). Установили, что относительное стандартное отклонение не превышает 8%, кроме того, данный способ пробоподготовки позволяет избежать потери красителей при извлечении из безалкогольных напитков.

\*\*\*

Таким образом, установлено, что использование твердофазной экстракции синтетических триарилметановых красителей оксидом алюминия при pH 4 позволяет селективно извлекать их из водных растворов при полноте сорбции >94%. При этом сорбция осуществляется за счет электро-

**Таблица 2.** Величины рК функциональных групп триарилметановых красителей ( $n = 3, P = 0.95$ )

Краситель	рК	Функциональная группа	Форма иона
E 131	$3.11 \pm 0.09$	HSO <sub>3</sub>	Переход однозарядного катиона в биполярный ион
	$7.50 \pm 0.23$	HSO <sub>3</sub>	Переход из биполярного иона в однозарядный анион
	$8.49 \pm 0.25$	ОН	Переход из одно- в двухзарядный анион
E133	$1.93 \pm 0.06$	HSO <sub>3</sub>	Переход однозарядного катиона в биполярный ион
	$7.58 \pm 0.23$	HSO <sub>3</sub>	Переход из биполярного иона в однозарядный анион
	$9.87 \pm 0.30$	HSO <sub>3</sub>	Переход из одно- в двухзарядный анион
E142	$1.81 \pm 0.05$	HSO <sub>3</sub>	Переход однозарядного катиона в биполярный ион
	$7.65 \pm 0.23$	HSO <sub>3</sub>	Переход из биполярного иона в однозарядный анион
	$8.77 \pm 0.26$	ОН	Переход из одно- в двухзарядный анион

**Таблица 3.** Параметры сорбции красителей на оксиде алюминия при различных значениях рН раствора ( $n = 3, P = 0.95$ )

Краситель	рН 1		рН 4		рН 7		рН 9		$s_r, \%$
	$R, \%$	$D, \text{л/г}$	$R, \%$	$D, \text{л/г}$	$R, \%$	$D, \text{л/г}$	$R, \%$	$D, \text{л/г}$	
E131	68.0	0.003	99.4	0.237	96.6	0.041	97.4	0.054	3.3
E133	78.0	0.005	97.6	0.058	52.0	0.002	56.0	0.002	4.1
E142	99.6	0.356	94.8	0.026	76.0	0.005	76.0	0.005	3.6

**Таблица 4.** Результаты (г/л) определения красителей в модельных растворах методом введено–найдено ( $n = 5, P = 0.95$ )

Объект анализа	Введено	Найдено	$s_r, \%$
Модельный раствор E131	0.005	$0.0023 \pm 0.0002$	8.7
	0.05	$0.048 \pm 0.002$	4.2
	0.1	$0.088 \pm 0.006$	5.7
Модельный раствор E133	0.01	$0.0099 \pm 0.0006$	5.1
	0.05	$0.039 \pm 0.004$	7.7
	0.1	$0.113 \pm 0.006$	4.4
Модельный раствор E142	0.01	$0.0088 \pm 0.0007$	5.9
	0.05	$0.052 \pm 0.005$	3.2
	0.1	$0.097 \pm 0.011$	2.8

**Таблица 5.** Содержание триарилметановых красителей в безалкогольных напитках ( $n = 3, P = 0.95$ )

Напиток	Краситель	$c, \text{мг/л}$	$s_r, \%$
Морс “Северная ягода”	E131	$1.00 \pm 0.03$	1.2
“Соччи со вкусом малины и черники”	E131	$5.22 \pm 0.16$	6.4
“Тархун Star Bar”	E133	$2.31 \pm 0.07$	2.8

статических взаимодействий между положительно заряженной поверхностью оксида алюминия и биполярными ионами красителей, специфических взаимодействий сопряженной  $\pi$ -системы красителей и гидроксильных групп поверхности, взаимодействия ОН-групп с ионами алюминия по механизму комплексообразования, а также за счет взаимодействия четвертичного атома азота

**Таблица 6.** Результаты (мг/л) определения красителей в безалкогольных напитках методом добавок ( $n = 5, P = 0.95$ )

Напиток	Краситель	$c$ красителя в соке	$c_{\text{доб}}$	$c_x$	$s_r, \%$
Морс “Северная ягода”	E131	$1.00 \pm 0.03$	1.5	$1.12 \pm 0.06$	7.8
“Соччи со вкусом малины и черники”	E131	$5.22 \pm 0.16$	10.0	$4.81 \pm 0.07$	6.9
“Тархун Star Bar”	E133	$2.31 \pm 0.07$	5.0	$2.13 \pm 0.09$	7.1



- тика и контроль. 2017. Т. 21. № 2. С. 85.  
<https://doi.org/10.15826/analitika.2017.21.2.006>
10. *Пацовский А.П., Рудометова Н.В., Каменцев Я.С.* Электрофоретическое определение синтетических красителей в алкогольных напитках // Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58. № 12. С. 170. (*Patsovskii A.P., Rudometova N.V., Kamentsev Ya.S.* Electrophoretic determination of synthetic dyes in alcoholic beverages // J. Anal. Chem. 2004. V. 59. № 2. P. 150.)
  11. *Киселева М.Г., Пименова В.В., Эллер К.И.* Оптимизация условий определения синтетических красителей в пищевых продуктах методом ВЭЖХ // Журн. аналит. химии. 2003. Т. 58. № 7. С. 766. (*Kiseleva M.G., Pimenova V.V., Eller K.I.* Optimization of conditions for the hplc determination of synthetic dyes in food // J. Anal. Chem. 2003. V. 58. № 7. P. 685.)
  12. *Рудометова Н.В.* Особенности выделения синтетических красителей из консервированных компотов // Хранение и переработка сельхозсырья. 2012. № 2. С. 47.
  13. *Альберт А., Сержент Е.* Константы ионизации кислот и оснований. М.: Химия, 1964. 180 с.
  14. *Булатов М.И., Калинин И.П.* Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. Л.: Химия, 1976. 384 с.
  15. *Красовицкий Б.М., Болотин Б.М.* Органические люминофоры. М.: Химия, 1984. 334 с.
  16. *Гордон П.Ф., Грегори П.* Органическая химия красителей. М.: Мир, 1987. 344 с.
  17. *Свердлова О.В.* Электронные спектры в органической химии. Л.: Химия, 1985. 248 с.
  18. *Венкатараман К.* Аналитическая химия синтетических красителей. Л.: Химия, 1979. 576 с.
  19. *Танабе К.* Твердые кислоты и основания. М.: Мир, 1973. 184 с.
  20. *Иконникова К.В., Саркисов Ю.С., Иконникова Л.Ф.* Диагностика фазовых превращений по кислотно-основным параметрам гидроксоаквакомплексов // Материаловедение. 2005. № 5. С. 16.
  21. *Тихомирова Т.И., Кубышев С.С., Иванов А.В., Нестеренко П.Н.* Сорбент на основе оксида алюминия, модифицированного тайроном // Журн. физ. химии. 2009. Т. 83. № 7. С. 1360. (*Tikhomirova T.I., Kubyshev S.S., Ivanov A.V., Nesterenko P.N.* Sorbent based on aluminum oxide modified with Tiron // J. Phys. Chem. A. 2009. V. 83. № 7. P. 1208.)
  22. *Хальзова С.А.* Определение синтетических красителей в жидких средах пьезоэлектрическими сенсорами, модифицированными полимерами с молекулярными отпечатками. Дис... канд. хим. наук. Воронеж: Воронежский государственный университет, 2018. 156 с.
  23. *Тихомирова Т.И., Кубышев С.С., Иванов А.В.* Модифицирование поверхности оксида алюминия полифункциональными органическими реагентами // Журн. физ. химии. 2013. Т. 87. № 8. С. 1366. DOI (*Tikhomirova T.I., Kubyshev S.S., Ivanov A.V.* Modification of the alumina surface with polyfunctional organic reagents // J. Phys. Chem. A. 2013. V. 87. № 8. P. 1357.)  
<https://doi.org/10.7868/S0044453713070340>
  24. ГОСТ Р 54491-2011. Консервы фруктовые. Метод определения наличия хинолиновых, триарилметановых и азокрасителей. М.: Стандартинформ, 2012. 12 с.