

**Автономная некоммерческая общеобразовательная организация  
"Физтех-лицей"  
(АНОО «Физтех-лицей» им. П.Л. Капицы)**

**XX научно-практическая конференция**

**«Старт в инновации»**

**Количественное определение натуральных красителей в продуктах питания  
методом ультрафиолетовой спектрометрии.**

**Выполнили:**

**Иванова Арина, 8Б**

**Орлова Мария, 8А**

**Полякова Юлия, 8В**

**Руководитель:**

**Саранцева Ирина Васильевна, научный сотрудник Научно-технологического  
центра экстремальной и неотложной медицины**

**Московская область, г. Долгопрудный**

**2021**

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СОДЕРЖАНИЕ</b>	2
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	3
<b>ГЛАВА 1 ПОЛУЧЕНИЕ УФ СПЕКТРОВ НАТУРАЛЬНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ</b>	4
<b>1.1 Процесс получения растворов натуральных красителей</b>	4
<b>1.2 Полученные УФ спектры натуральных красителей и таблица сводных данных</b>	4
<b>ГЛАВА 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НАТУРАЛЬНОГО СОКА В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ С ПОМОЩЬЮ ПОЛУЧЕННЫХ КАЛИБРОВОЧНЫХ ГРАФИКОВ</b>	6
<b>2.1 Определение коэффициента корреляции</b>	6
<b>2.2 Определение концентрации сока малины в продуктах питания</b>	7
<b>2.3 Определение концентрации сока черной смородины в продуктах питания</b>	8
<b>2.4 Определение концентрации сока вишни в продуктах питания</b>	11
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	14
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	14

## ВВЕДЕНИЕ

Цвет и вкус являются самыми важными характеристиками продуктов питания. По окраске и запаху потребитель делает вывод о качестве продукта. Поэтому для того чтобы продукт был привлекателен и конкурентно способен, производитель использует всевозможные красители.

Красители широко распространены в природе: они содержатся в плодах, ягодах, семенах, листьях, яичном желтке и т. д. Такие красители называют натуральными, их используют в приготовлении пищи уже тысячи лет. Однако с конца 18 века пищевая промышленность располагает большим выбором синтетических красителей, которые составляют конкуренцию натуральным. Синтетические красители дешевле для производителя, а также имеют более яркую и разнообразную гамму цветов.

Согласно действующим в России технологическим регламентам, разрешено окрашивание многих пищевых продуктов: сладостей, йогуртов, киселей, мороженого, плавленых сыров, мяса, колбас и других изделий. Однако применение искусственных красителей, в отличие от натуральных, все чаще становится причиной проблем со здоровьем среди населения: от аллергических реакций до неправильного функционирования желудочно-кишечного тракта. Этим обусловлена необходимость создания метода точного анализа продукта питания на имеющиеся в нем натуральные красители. Таким методом является УФ спектроскопия.

**Актуальность:** На основе библиотеки УФ спектров натуральных красителей можно анализировать продукты питания на их присутствие, а также с помощью калибровочных графиков определять количество натурального сока в продуктах.

### **Цель:**

Определить содержание натуральных красителей количественно в продуктах питания методом ультрафиолетовой спектрометрии.

### **Задачи:**


1. Снять спектры натуральных красителей и определить их параметры в программе «SPECTRUM»
2. Изучить программу «Photometric» и выполнить количественное определение натуральных красителей в продуктах питания.

# ГЛАВА 1 ПОЛУЧЕНИЕ УФ СПЕКТРОВ НАТУРАЛЬНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

## 1.1 Процесс получения растворов натуральных красителей

Исследовали два продукта питания:

1. йогурт малиновый( iogurt mal )1,3280г/мл)
2. бифилайф(bifil mal 1,2379г/мл)

Поместили навеску 13,280г первого образца в стакан объемом 50 мл, добавили 10 мл растворителя, поставили раствор в ультразвуковую баню при температуре 30 градусов на 10 минут. После экстракции поместили раствор в центрифугу в пробирки „Eppendorf” на 3 минуты. Таким образом, получили отфильтрованный раствор для проведения анализов в УФ спектрофотометре с концентрацией 1,3280г/мл. 

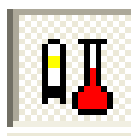
Такую же процедуру проделали для второго образца, где взяли навеску 12,379г, получили раствор с концентрацией 1,2379г/мл.

В качестве растворителя использовали этанол-С<sub>2</sub>Н<sub>5</sub>ОН. Почему мы взяли растворитель этанол? Потому что в предыдущей работе мы использовали три растворителя: 1%-ый раствор муравьиной кислоты в воде (НСООН), 0,01М раствор соляной кислоты (НСl) в воде, этанол (С<sub>2</sub>Н<sub>5</sub>ОН) (95%) и наибольшие различия в спектрах испытуемых растворов были зарегистрированы для растворов в этаноле.

## 1.2 Полученные УФ спектры натуральных красителей и таблица сводных данных



-спектральный режим (Spectrum) снятия данных по оптическим плотностям для определенных диапазонов длин волн (выбранного нами)












- фотометрический режим (Photometric) снятия данных, то есть, мы получаем значение оптической плотности при определенной длине волны

## Overlay Spectrum Graph Report

12/25/202 05:44:54 PM

---

	ch sm_0,0512 mg-ml_2 - Storage 121534
	ch sm_0,1024 mg-ml_1 - Storage 182627
	ch sm_0,2048 mg-ml_01 - Storage 184351
	mal_0,0653 mg-ml_1 - Storage 142724
	mal_0,2612 mg-ml_2 - Storage 133607
	mal_1,305914 mg-ml_1 - Storage 114906
	vish in C2H5OH_0,044325 mg-ml__1 - Storage 141148
	vish in C2H5OH_0,08865 mg-ml__2 - Storage 143704
	vish in C2H5OH_0,1182 mg-ml_1 - Storage 150902

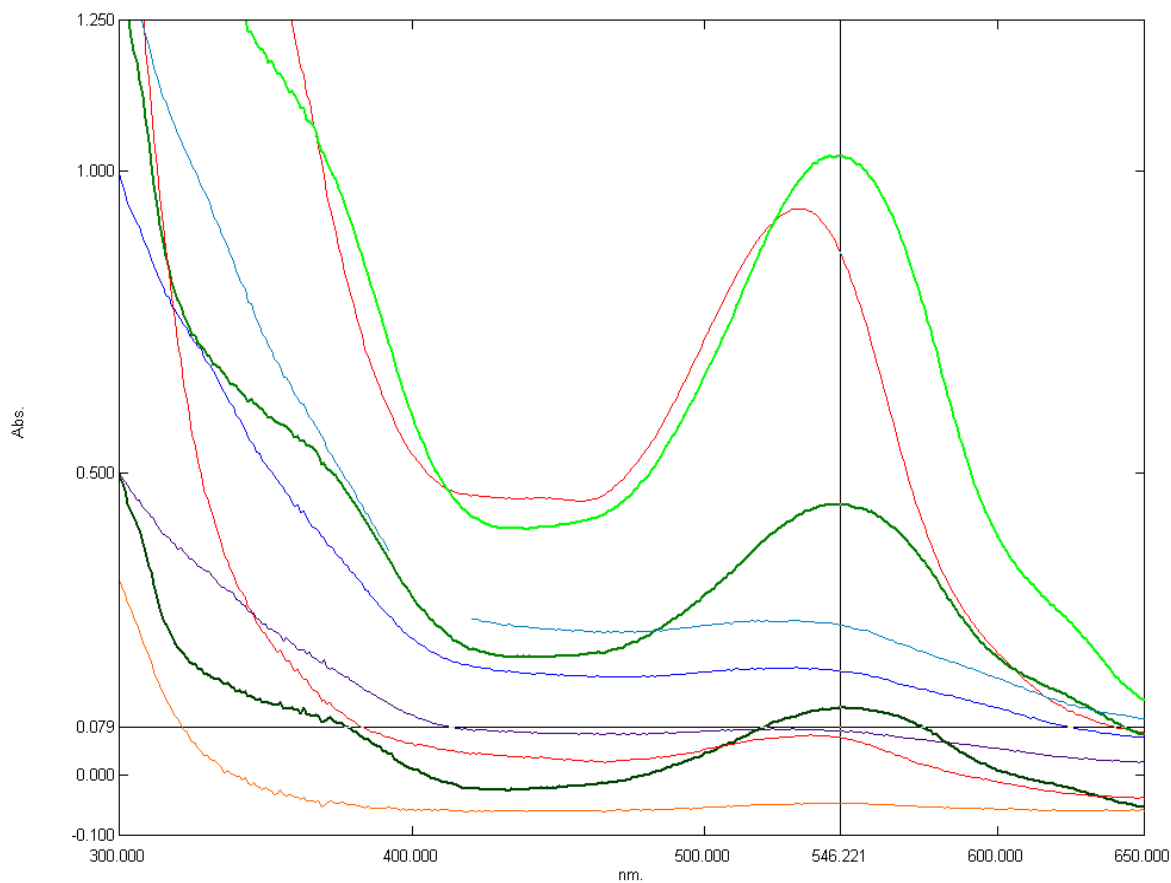


Рисунок А. УФ спектры растворов натуральных красителей в этаноле в диапазоне 300 – 650 нм.

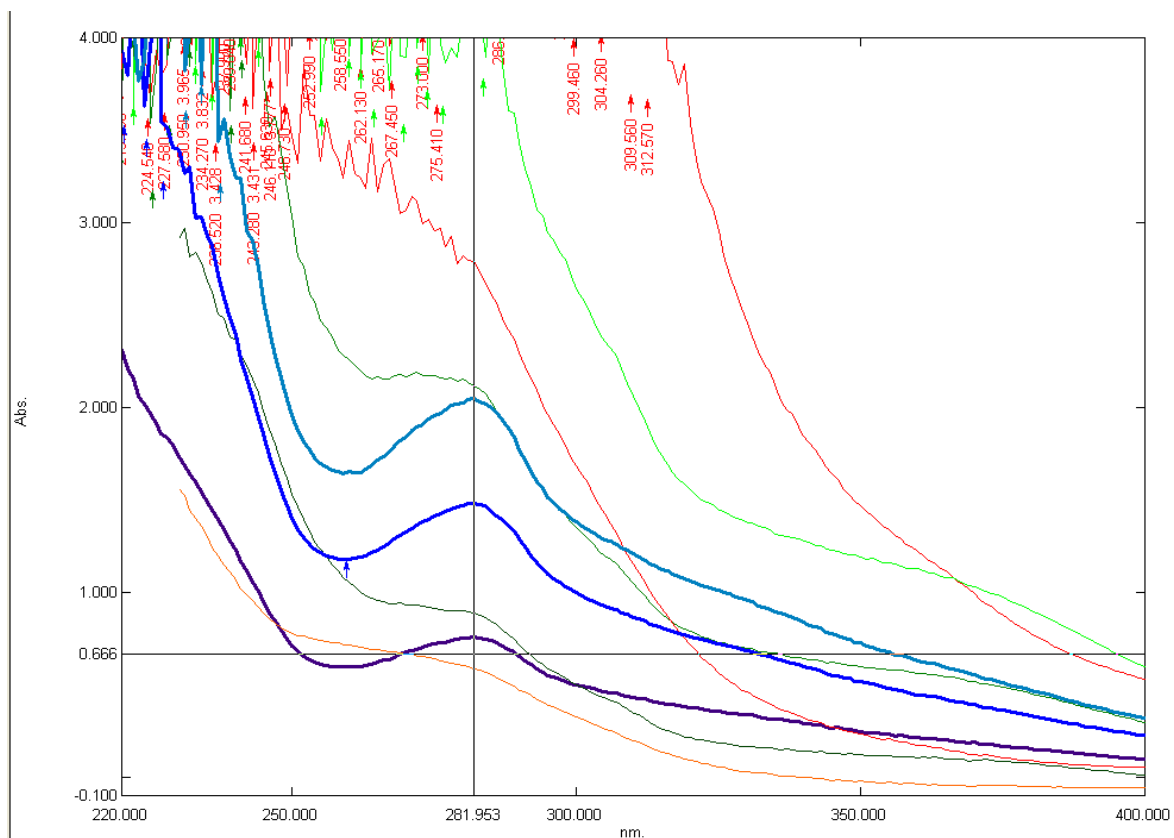


Рисунок Б. УФ спектры растворов натуральных красителей в этаноле в диапазоне 220 – 400 нм.

По полученным УФ спектрам растворов натуральных красителей в этаноле составили таблицу сводных данных (Таблица 1).

Таблица 1. Параметры УФ спектров растворов натуральных красителей в этаноле.

Название	Максимум, нм	Минимум, нм	Плечи, нм
Чёрная смородина	546±2	428±2	261±2 - 282±2 344±2 - 371±2
Вишня	282±2 530±2	259±2 460±3	—
Малина	533±2	470±2	254±2 - 281±2

Таким образом, мы видим несовпадение максимумов, минимумов и плеч для полученных спектров.

Для получения калибровочных графиков мы использовали длины волн:

533 нм для малины, 546 нм для черной смородины, 282 нм для вишни.

## ГЛАВА 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НАТУРАЛЬНОГО СОКА В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ С ПОМОЩЬЮ ПОЛУЧЕННЫХ КАЛИБРОВОЧНЫХ ГРАФИКОВ

### 2.1 Определение коэффициента корреляции

По оси ОХ: Conc.- концентрация.

По оси ОУ: Abs.(перевод-поглощение) – оптическая плотность.

Оптическая плотность - количественная мера поглощения раствором испускаемого излучения при определенной длине волны. Ученым Бером была доказана прямая зависимость между оптической плотностью и концентрацией раствора, что используется для построения калибровочных графиков.

В нашем случае мы получили в программе “Photometric” три калибровочных графика с прилагаемыми к ним уравнениями типа  $y=kx+b$  и значениями квадрата коэффициента корреляции.

Уравнение прямой для малины:

$$Y=0,68713x+0,01874$$

(1)

$$R^2=0,99997$$

$$R=0,99998$$

Уравнение прямой для черной смородины:

$$Y=4,74815x-0,00603$$

(2)

$$R^2=0,99666$$

$$R=0,9983$$

Так как R должно быть  $\geq 0,999$  для доверительного интервала 95%, то было решено провести еще одну калибровку для сока черной смородины, в результате чего было получено другое уравнение прямой:

$$Y=5,23329x-0,15412$$

(3)

$$R^2=0,99912$$

$$R=0,99956$$

Уравнение прямой для вишни:

$$Y=17,39400x-0,04320$$

(4)

$$R^2=0,99804$$

$$R=0,99902$$

Таким образом, для всех трех графиков мы получили  $R \geq 0,999$ .

## 2.2 Определение концентрации сока малины в продуктах питания

### Калибровочный график для малины

Исследовали два продукта питания:

1. йогурт малиновый( iogurt mal )1,3280г/мл)
2. бифилайф(bifil mal 1,2379г/мл)

.....  
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL533.0	Wgt.Factor	Comments
1	001	Standard		0.261	0.201	1.000	
2	002	Standard		0.261	0.201	1.000	
3	003	Standard		0.261	0.198	1.000	
4	004	Standard		1.306	0.915	1.000	
5	005	Standard		1.306	0.917	1.000	
6	006	Standard		1.306	0.916	1.000	
7	007	Standard		0.327	0.241	1.000	
8	008	Standard		0.327	0.242	1.000	
9	009	Standard		0.327	0.241	1.000	

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL533.0	Comments
1	bifil mal 1	Unknown		0.348	0.258	
2	bifil mal 2	Unknown		0.346	0.257	
3	bifil mal 3	Unknown		0.349	0.259	
4	iogurt mal 1	Unknown		0.076	0.071	
5	iogurt mal 2	Unknown		0.077	0.072	
6	iogurt mal 3	Unknown		0.075	0.070	
7						

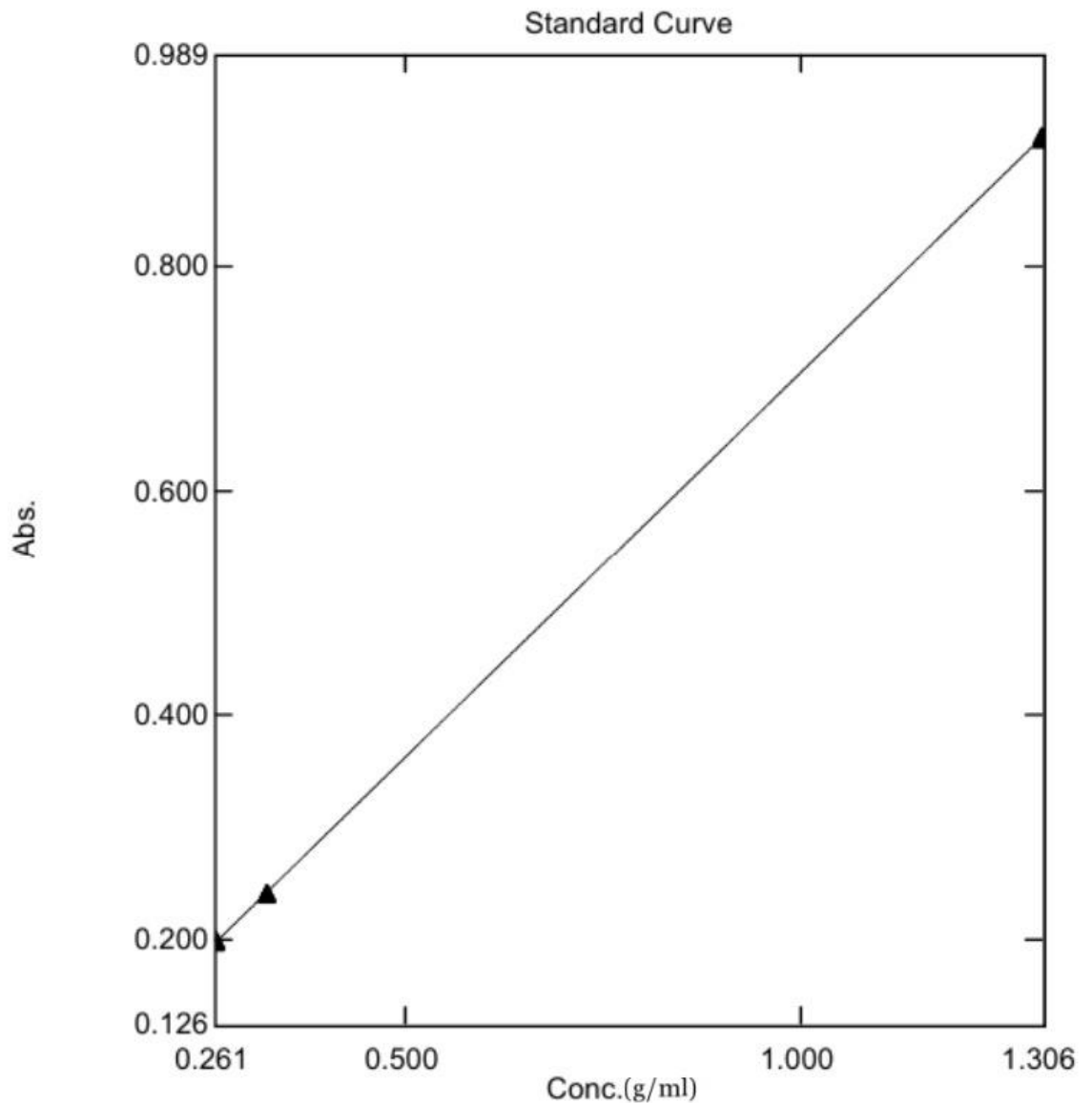


Рисунок 1. Калибровочный график для растворов малины при 533 нм (уравнение 1).

По калибровочному графику были получены данные значений малинового йогурта в исследуемых образцах. Для первого образца получены данные: 0.076; 0.077; 0.075. Ср. арифм.=0.076. Составляем пропорцию:

$$\begin{aligned} 1,3280 \text{ г} &- 0,076 \text{ г} \\ 100 \text{ г} &- x \text{ г} \\ X &= 5,72 \text{ г сока в } 100 \text{ г продукта} \end{aligned}$$

По калибровочному графику были получены искомые значения малинового сока бифилайф в исследуемых образцах: 0.348; 0.346; 0.349. Ср. арифм. = 0,348. Составляем пропорцию:

$$\begin{aligned} 1,2379 \text{ г} &- 0,348 \text{ г} \\ 100 \text{ г} &- x \text{ г} \\ X &= 28,1 \text{ г сока в } 100 \text{ г продукта} \end{aligned}$$

### 2.3 Определение концентрации сока черной смородины в продуктах питания

#### Калибровочный график для черной смородины

Исследовали два раствора продукта питания:



1. Морс, разбавленный спиртом в 8 раз(mors 8 r)
2. Морс, разбавленный в 16 раз (mors 16 r)

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL546.0	Wgt.Factor	Comments
1	1	Standard		0.205	0.976	1.000	
2	2	Standard		0.205	0.979	1.000	
3	3	Standard		0.205	0.980	1.000	
4	4	Standard		0.102	0.452	1.000	
5	5	Standard		0.102	0.452	1.000	
6	6	Standard		0.102	0.452	1.000	
7	7	Standard		0.026	0.132	1.000	
8	8	Standard		0.026	0.132	1.000	
9	9	Standard		0.026	0.132	1.000	

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL546.0	Comments
1	mors 16 r_1	Unknown		0.020	0.087	
2	mors 16 r_2	Unknown		0.020	0.088	
3	mors 16 r_3	Unknown		0.020	0.088	
4	mors 8 r_1	Unknown		0.046	0.212	
5	mors 8 r_2	Unknown		0.046	0.214	
6	mors 8 r_3	Unknown		0.046	0.214	
7						

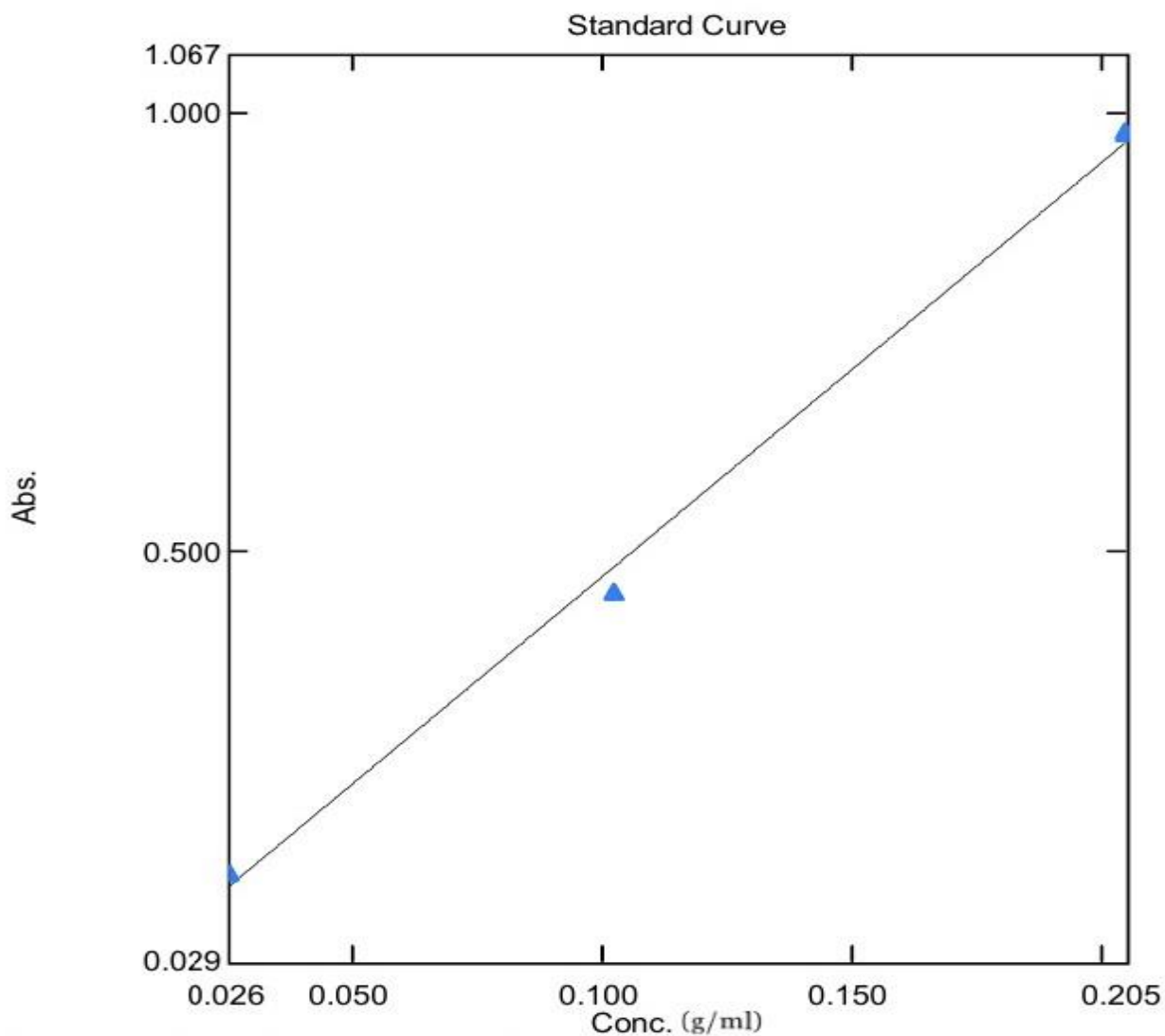


Рисунок 2. Калибровочный график для растворов черной смородины при 546 нм (уравнение 2).

Получили концентрацию сока в напитке:

для образца, разбавленного в 8 раз, получили 368 г/л, а для образца, разбавленного в 16 раз, получили 320 г/л. Вопрос, каким данным верить? Мы должны взглянуть на значения оптических плотностей ( $A$ ) исследуемого образца. Для образца разбавленного в 16 раз:  $A$  меньше 0,1, а для образца, разбавленного в 8 раз,  $A \approx 0,2$ . Для достоверности данных значения  $A$  должны быть от 0,1 до 1,2. Поэтому мы выбираем только напиток, который разбавлен в 8 раз. Таким образом, концентрация сока черной смородины в исследуемом напитке = 368 г/л, только надо иметь в виду, что для этого графика  $R=0,9983$ .

Следующая калибровка дает нам другой график (рисунок 3).

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL546.0	Wgt.Factor	Comments
1	1	Standard		0.202	0.904	1.000	
2	2	Standard		0.202	0.905	1.000	
3	3	Standard		0.202	0.902	1.000	
4	4	Standard		0.051	0.099	1.000	
5	5	Standard		0.051	0.098	1.000	
6	6	Standard		0.051	0.099	1.000	
7	7	Standard		0.034	0.038	1.000	
8	8	Standard		0.034	0.038	1.000	
9	9	Standard		0.034	0.038	1.000	

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL546.0	Comments
1	razb v 2 r	Unknown		0.177	0.774	
2						

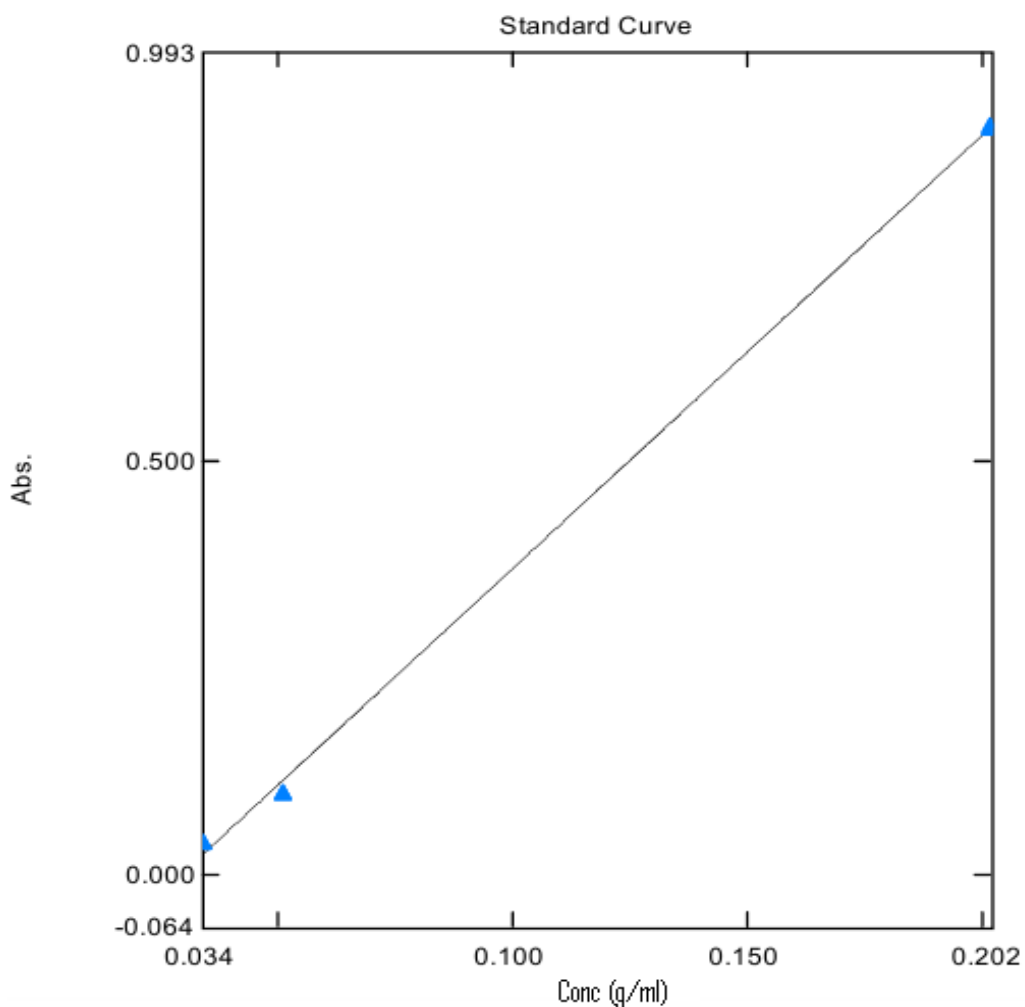


Рисунок 3. Калибровочный график для растворов черной смородины при 456 нм (уравнение 3).

Получили концентрацию сока в напитке: для образца, разбавленного в 2 раза,  $0,177 \cdot 2 = 0,354$  г/мл = 354 г/л.

## 2.4 Определение концентрации сока вишни в продуктах питания

### Калибровочный график для вишни

Исследовали два раствора продукта питания:

1. Вишневый сок, разбавленный в 8 раз (sok raz v 8 r)
2. Вишневый сок, разбавленный в 16 раз (sok raz v 16 r)

Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL280.0	WL282.0	WL284.0	WL528.0	WL530.0	WL53
1	1	Standard		0.044	0.742	0.747	0.735	0.068	0.069	
2	2	Standard		0.044	0.741	0.747	0.734	0.067	0.068	
3	3	Standard		0.044	0.739	0.745	0.733	0.070	0.069	
4	4	Standard		0.089	1.467	1.475	1.456	0.172	0.174	
5	5	Standard		0.089	1.467	1.475	1.457	0.174	0.174	
6	6	Standard		0.089	1.464	1.473	1.454	0.174	0.173	
7	7	Standard		0.118	2.035	2.044	2.020	0.248	0.251	
8	8	Standard		0.118	2.028	2.039	2.012	0.250	0.248	
9	9	Standard		0.118	2.034	2.043	2.017	0.248	0.247	

Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL280.0	WL282.0	WL284.0	WL528.0	WL530.0	WL53
1	sok raz v 8 r_1	Unknown		0.125	2.131	2.141	2.106	0.179	0.178	
2	sok raz v 8 r_2	Unknown		0.125	2.131	2.139	2.106	0.177	0.175	
3	sok raz v 8 r_3	Unknown		0.125	2.128	2.138	2.105	0.180	0.180	
4	sok raz v 16_1 r_1	Unknown		0.069	1.160	1.165	1.144	0.103	0.100	
5	sok raz v 16_2	Unknown		0.069	1.161	1.166	1.146	0.102	0.101	
6	sok raz v 16_3	Unknown		0.069	1.159	1.164	1.144	0.100	0.101	
7										

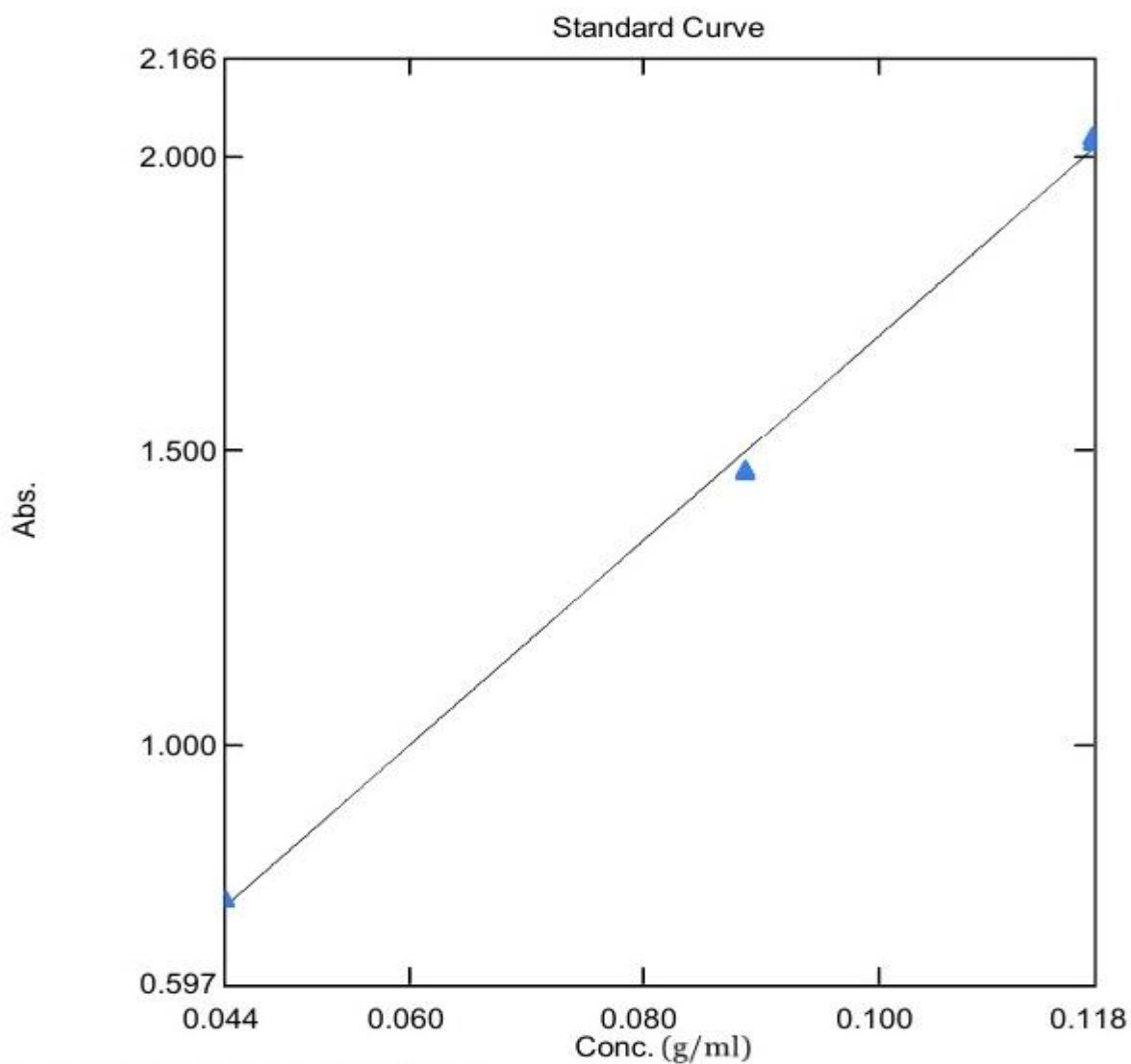


Рисунок 4. Калибровочный график для растворов вишни при 282 нм (уравнение 4).

Получили концентрацию натурального сока с мякотью в напитке:

для образца, разбавленного в 8 раз, получили 1 г/мл, а для образца, разбавленного в 16 раз, получили 1,1 г/мл. Вопрос, каким данным верить? Мы должны взглянуть на значения оптических плотностей ( $A$ ) исследуемого образца. Для образца разбавленного в 16 раз :  $A$  равно 1,16, а для образца, разбавленного в 8 раз,  $A$  равно 2,14. Для достоверности данных значения  $A$  должны быть от 0,1 до 1,2. Поэтому мы выбираем только напиток, который разбавлен в 16 раз. Таким образом, концентрация сока и мякоти вишни в исследуемом напитке = 1,1 кг/л.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Выводы:

1. При правильном выборе растворителя и метода пробоподготовки достигается значимое различие в УФ спектрах исследуемых образцов.
2. Режим «Photometric» для количественного определения концентрации исследуемых образцов дает линейный график с коэффициентом корреляции  $\geq 0,999$ , что позволяет получать данные в доверительном интервале 95%.

### Дальнейшее развитие:

1. Необходимо расширить список натуральных красителей для их количественного определения в продуктах питания.
2. Создать алгоритм работы (стандартная операционная процедура) по количественному определению красителей в продуктах питания.

Поставленная цель определить содержание натуральных красителей количественно в продуктах питания методом ультрафиолетовой спектроскопии с помощью поставленных задач достигнута.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Казицына Л. А., Куплетская Н. Б. Применение УФ-, ИК-, ЯМР и масс-спектроскопии в органической химии. М., Изд-во Моск. ун-та, 1979, 240 с.
2. Якимова Л.С. Метод УФ-спектроскопии и его применение в органической и физической химии / Л.С. Якимова – Казань: Казан. унт, 2015. –19 с.
3. Болотов В. М. Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение / В. М. Болотов, А. П. Нечаев, Л. А. Сарафанова – СПб.: ГИОРД, 2008 – 240 с.
4. Tom Beveridge, Thomas S. C. Li, B. Dave Oomahand Allen Smith «Food Sea Buckthorn Products: Manufacture and Composition», 1999.
5. T. S. Senthil, N. Muthukumarasamy and MisookKang «ZnO Nanorods Based Dye Sensitized Solar Cells Sensitized using Natural Dyes Extracted from Beetroot, Rose and Strawberry», 2014.