

Simultaneous Determination of Tartrazine, Patented Blue V and Brilliant Blue FCF by Spectrophotometry with Chemometric Algorithms

O.O. Lukianova, A.N. Chebotarev, D.V. Snigur*

Odessa I.I. Mechnikov National University, Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65082, Ukraine; *e-mail: 270892denis@gmail.com

Received: August 14, 2019; Accepted: September 12, 2019

DOI: 10.17721/moca.2019.153-162

Mixtures containing tartrazine (TAN) and brilliant blue (BB) or patented blue (PB) were investigated in this work. The optimal pH for the simultaneous determination of these dyes is 1.5 and 7 (for pH=7: $\epsilon^{430}(\text{TAN})=3.2 \cdot 10^4$, $\epsilon^{635}(\text{TAN})=5.3 \cdot 10^2$, $\epsilon^{430}(\text{PB})=3.3 \cdot 10^3$, $\epsilon^{635}(\text{PB})=8.7 \cdot 10^4$; for pH=1.5: $\epsilon^{430}(\text{TAN})=2.1 \cdot 10^4$, $\epsilon^{630}(\text{TAN})=9.6 \cdot 10^2$, $\epsilon^{430}(\text{BB})=9.3 \cdot 10^3$, $\epsilon^{630}(\text{BB})=8.3 \cdot 10^4$). Classification models, that allow to identify mixtures containing TAN and BB, TAN and PB, chlorophyll and quinoline yellow with BB or PB, have been developed using methods of hierarchical cluster analysis, factor analysis (FA), partial least squares (PLS) and principal component analysis (PCA). Model solutions of dyes and 12 real objects (tarkhun, low-alcohol drinks, tonics and absinthe of various brands) were used for the classification. The best classification results were achieved at pH 1.5 using PLS and PCA. Quantitative models, based on the additivity of spectral signals and PLS, have been developed for determining the permittivity of these dyes in the simultaneous presence. In order to make it possible to analyse alcoholic drinks, the dependence of the molar attenuation coefficient on the dielectric conductivity of solvents was studied. The obtained regression equations were taken into account in the calibration for absorbance additivity. Methods for the quantitative determination of the investigated dyes were developed for the concentration range $0.2\text{--}2.0 \cdot 10^{-5}$ M.

Keywords: patented blue V, brilliant blue FCF, tartrazine, spectrophotometry, chemometrics

Одновременное спектрофотометрическое определение тартразина, патентованного синего и бриллиантового голубого с использованием хемометрических алгоритмов

Е.А. Лукьянова, А.Н. Чеботарев, Д.В. Снигур*

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина;

*e-mail: 270892denis@gmail.com

Поступила: 14 августа 2019 г; Принята: 12 сентября 2019 г

DOI: 10.17721/moca.2019.153-162

В данной работе исследованы смеси, содержащие тартразин (ТАН) и бриллиантовый голубой (БГ) или патентованный синий (ПС). Установлено, что оптимальное значение pH для одновременного определения этих красителей составляет 1.5 и 7.0 соответственно (при pH=7: $\epsilon^{430}(\text{ТАН})=3.2 \cdot 10^4$, $\epsilon^{635}(\text{ТАН})=5.3 \cdot 10^2$, $\epsilon^{430}(\text{ПС})=3.3 \cdot 10^3$, $\epsilon^{635}(\text{ПС})=8.7 \cdot 10^4$; при pH=1.5: $\epsilon^{430}(\text{ТАН})=2.1 \cdot 10^4$, $\epsilon^{630}(\text{ТАН})=9.6 \cdot 10^2$, $\epsilon^{430}(\text{БГ})=9.3 \cdot 10^3$, $\epsilon^{630}(\text{БГ})=8.3 \cdot 10^4$). С использованием методов иерархического кластерного анализа, факторного анализа (ФА), частичных наименьших квадратов (PLS) и метода главных компонент (PCA) разработаны классифицирующие модели, позволяющие отличить смеси, содержащие ТАН и БГ, ТАН и ПС, хлорофилл и хинолиновый желтый совместно с БГ или ПС. В классификации были задействованы модельные растворы красителей и 12 реальных объектов (тархун, слабоалкогольные напитки, тоники и абсент различных марок). Наилучшие результаты классификации достигнуты при pH 1.5 методами PLS и PCA. На основании аддитивности спектральных сигналов и PLS разработаны количественные методы определения концентрации исследуемых красителей при совместном присутствии. Для модификации методики при анализе алкогольных напитков была исследована зависимость молярного коэффициента светопоглощения от диэлектрической проницаемости растворителей, а полученные регрессионные уравнения учитывались в калибровке по аддитивности оптической плотности. Разработаны методики количественного определения исследуемых красителей в диапазоне концентраций $0.2\text{--}2.0 \cdot 10^{-5}$ М.

Ключевые слова: патентованный синий, бриллиантовый голубой, тартразин, спектрофотометрия, хемометрика

Хеометрические алгоритмы постепенно развиваются как альтернатива методам разделения веществ в химическом анализе, ведь их использование не требует дополнительного оборудования, реактивов и существенных затрат времени, а их большое разнообразие позволяет решить широкий круг аналитических задач. Они широко используются для одновременного определения компонентов смеси без предварительного разделения, расчета констант равновесий при наличии нескольких форм одного вещества или нескольких соединений в растворах. Хеометрические алгоритмы сочетают с различными методами анализа, но в силу универсальности и экспрессности спектрофотометрических методов именно в этой области они стали наиболее востребованными [1-6]. Отдельно следует отметить значительный вклад хеометрических алгоритмов в создании различных классифицирующих моделей, позволяющих в том числе идентифицировать определяемые компоненты [7-12].

Смеси пищевых красителей часто используется в производстве сладких газированных и алкогольных напитков. Однако некоторые из красителей, в том числе Е102 тартразин (ТАН), Е133 патентованный синий (ПС) и Е131 бриллиантовый голубой (БГ), структуры которых приведены на рис.1, могут представлять угрозу здоровью и самочувствию человека, вызывая аллергические реакции или синдром гиперактивности у детей [13-16].

Существующие на данный момент методы определения красителей (жидкостная хроматография, вольтамперометрия и капиллярный электрофорез) требуют дорогостоящего оборудования, высококвалифицированного обслуживающего персонала и значительных затрат времени [17-19]. Также была показана возможность анализа смесей некоторых красителей с использованием производной спектрофотометрии [20].

В связи с этим актуальным является вопрос разработки экспрессных, простых и доступных методик определения пищевых красителей при

их совместном присутствии. Для создания таких методик необходимо оперировать данными об оптимальных условиях существования ионных форм красителей и декомпозиции их спектральных сигналов при совместном присутствии. Состояние в растворах и ионно-молекулярные равновесия ряда пищевых красителей детально исследованы нами в работах [21-25].

Таким образом, цель настоящей работы состоит в изучении возможности одновременного спектрофотометрического определения ТАН, БГ и ПС с использованием хеометрических алгоритмов. В данной работе использованы следующие алгоритмы: PLS (Partial Least squares), FA (Factor Analysis), MILCA (Mutual information least dependent component analysis), SIMPLISMA (Simple-to-use interactive self-modelling mixture analysis), PCA (Principal Component Analysis), CA (Cluster analysis), реализованные в программах STATISTICA Advanced и модуль MILCA для MatLab.

Экспериментальная часть

Спектры светопоглощения регистрировали на спектрофотометре СФ-56 в кварцевых кюветах ($l=1$ см) в диапазоне длин волн 300-780 нм с дискретностью 5 нм (1 нм при исследовании сольватохромии). Для определения pH использовали иономер ЭВ-74 (электроды: хлорсеребряный (ЭВЛ-1МЗ), стеклянный (ЭСЛ-43-07)).

Для выбора оптимального pH при одновременном определении ТАН и ПС или ТАН и БГ в одиннадцать мерных цилиндров на 10 мл вносят красители патентованный синий или бриллиантовый голубой и тартразин с концентрацией $1.0 \cdot 10^{-4}$ М с шагом в 0.2 мл так, чтобы суммарная концентрация красителей составляла $2.0 \cdot 10^{-5}$ М. В каждый цилиндр добавляют 3 мл дистиллированной воды и устанавливают значение pH раствора в диапазоне от 1 до 12 ($\Delta pH = 0.5$) путем добавления 5 мл универсального буферного раствора (УБР) с определенным pH. Спектры светопоглощения регистрируют относительно соответствующего раствора холостого опыта.

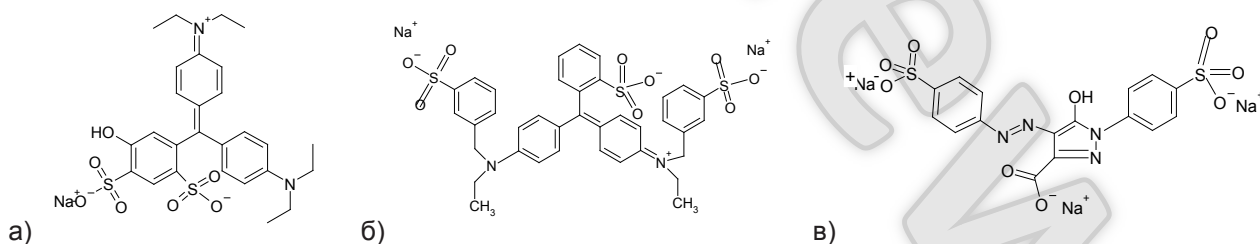


Рис. 1. Структурные формулы исследованных красителей: а – патентованный синий, б – бриллиантовый голубой, в – тартразин.

Для определения интервалов концентраций красителей, в которых выполняется закон Бугера-Ламберта-Бера, в мерные колбы на 25 мл вносят 4.0 3.6; 3.2; 2.8; 2.4; 2.0; 1.6; 1.2; 0.8; 0.4; 0 мл растворов ПС или ТАН с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ М. Объем в колбах доводят УБР с pH=1.5 (ТАН и БГ) или pH=7 (ТАН и ПС). Полученные спектры позже используют для выявления отклонений от закона Бугера-Ламберта-Бера на длинах волн, соответствующих максимумам светопоглощения растворов красителей.

Для изучения сольватохромии ТАН, БГ и ПС в ряд пробирок вносили 0.15 мл раствора красителя с концентрацией $1 \cdot 10^{-4}$ М и добавляли 5 мл растворителя: ацетона, бутанола, бутилацетата, воды, диоксана, ДМФА, изо-пентанола, пентанола, ТГФ, формамида, этанола или этилацетата — и регистрируют спектры светопоглощения относительно соответствующего органического растворителя.

Основной стадией пробоподготовки анализируемых напитков является их дегазация. Стакан, содержащий исследуемый напиток, помещают на водяную баню при температуре 80–90 °С на 30 минут. Отбирают аликвоту 5 мл и доводят до pH=1.5 или 7 путем добавления 5 мл соответствующего УБР. Спектры снимают относительно соответствующего раствора сравнения.

Результаты и обсуждение

Исследование оптимальных условий декомпозиции спектральных сигналов ТАН, ПС и БГ проводили по оценке погрешности их определения при совместном присутствии с учетом аддитивности спектральных сигналов красителей. Принимая во внимание отношение молярных коэффициентов светопоглощения на разных длинах волн, следует заключить о невозможности пренебрежения светопоглощением ТАН при $\lambda=630-635$ нм, и ПС и БГ при $\lambda=430$ нм (Рис. 2).

Для полученных данных строили объемные

диаграммы в координатах $\Delta_{\%}=f(C, pH)$ в программе Surfer v.12 (Рис.3), а в качестве метода интерполяции была выбрана линейная триангуляция.

Критерием однозначного выбора оптимального pH выступает минимальное значение коэффициента вариации при повторном исследовании спектров растворов ТАН+ПС pH=6.5-8.5; ТАН+БГ – 1.5-2.5. Наилучшая воспроизводимость наблюдается при pH=7 и 1.5, соответственно, именно эти значения были выбраны в качестве оптимальных для определения концентраций красителей.

В алкогольных и сладких газированных напитках зеленая окраска может быть обусловлена наличием смесей желтых (ТАН или хинолинового желтого) и синих (БГ или ПС) пищевых красителей, или наличием хлорофилла. В данной работе проанализирована возможность разделения напитков на 4 группы по составу красителей с помощью хемометричных алгоритмов. Всего было проанализировано 12 реальных объектов. Напитки № 1-3 содержали БГ и ТАН, № 6-9 - ТАН и ПС, № 10 - ПС и хинолиновый желтый, № 11,12 - хлорофилл. Для напитков № 4 и 5 - состав красителей был предварительно неизвестен. Среди данных объектов было два алкогольных напитка (№ 3 и 10), 7 различных марок тархуна (№ 1-3, 5-9), 2 спортивных напитка (№ 11,12) и сироп фейхоа (№4). Наличие хлорофилла в напитках предварительно подтверждали качественной реакцией с HCl, при которой наблюдается изменение зеленого цвета на коричневый результате преобразования хлорофилла в феофитин. Для двух напитков: сиропа фейхоа (№4) и тархуна (№5), были выявлены отклонения от указанного на этикетке состава, а именно отсутствие в них хлорофилла, в то время как другие красители указаны не были. Таким образом, отдельной задачей при создании классификаторных моделей стало выявление состава данных объектов.

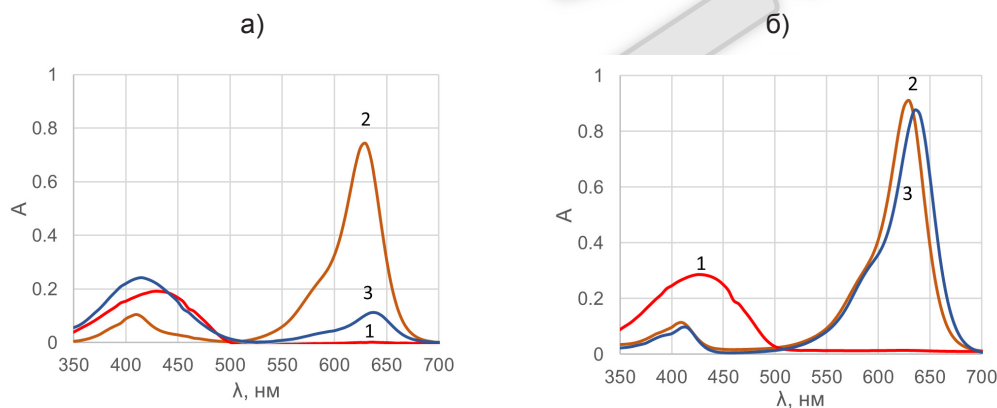


Рис. 2. Спектры поглощения $1.0 \cdot 10^{-5}$ М растворов ТАН (1), БГ (2), ПС (3) при pH: а) 1.5; б) 7.0.

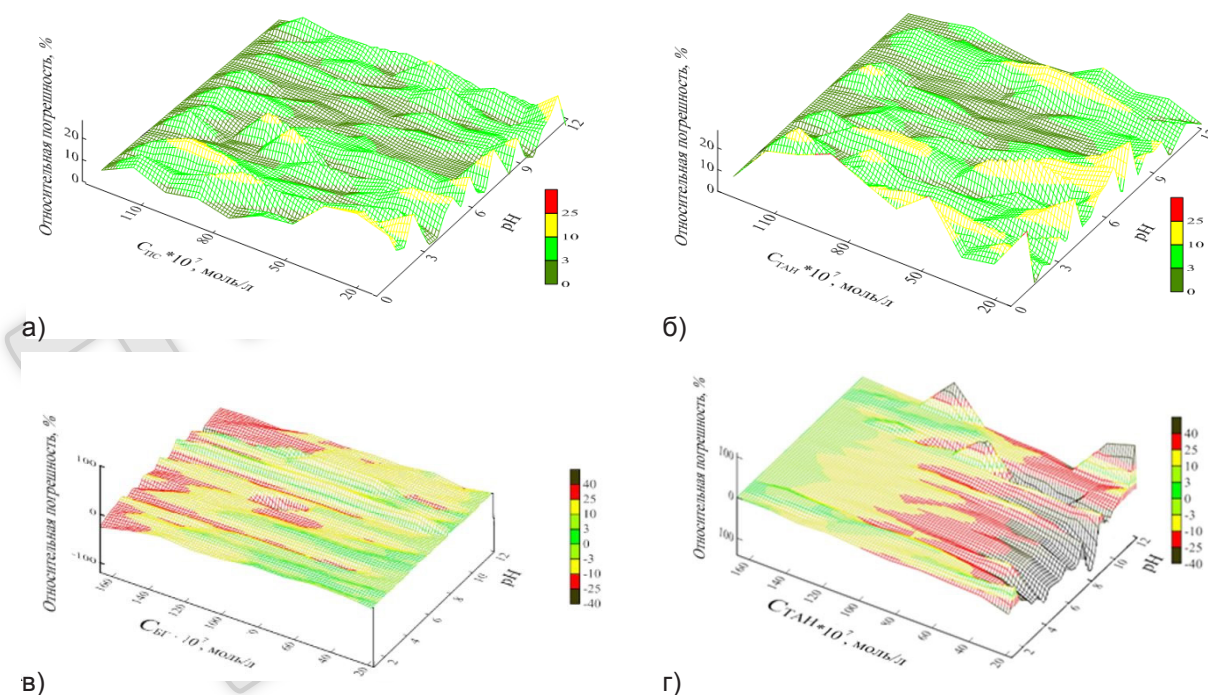


Рис. 3. Диаграмма зависимости относительной погрешности определения красителя (а – ПС в системе ТАН+ПС, б – ТАН (ТАН+ПС), в – БГ (ТАН+БГ), г – ТАН (ТАН+БГ)) от концентрации и рН раствора.

Создание подобных моделей позволяет использовать двухступенчатую калибровку для спектрофотометров, на первом этапе которой устанавливается тип смеси красителей, а на втором определяется их концентрация. Поскольку оптимальными условиями разделения спектральных сигналов ТАН и БГ является рН 1.5, а ТАН и ПС рН 7, то проверяли возможность создания классифицирующих моделей при обоих значениях рН. При создании классифицирующих моделей сначала были использованы алгоритмы без «учителя»: факторный (ФА) и кластерный анализы (СА), и метод главных компонент (РСА), а также последующий анализ полученных распределений для определения признаков класса.

Обычно факторный анализ и метод главных компонент применяют для выявления наиболее значимых переменных с целью сокращения массива используемых данных, однако выявляемая в ходе анализа структура взаимосвязи переменных может служить основой для классификации объектов, что использовано в работах [6, 17, 19]. Принцип отбора данных в РСА базируется на выделении компонент, первая из которых объясняет основные вариации исходных переменных, вторая – наибольшую долю дисперсии, которая не объясняется первой компонентой, и т.д. В случае факторного анализа критерием объединения в одну группу являлось значение коэффициента корреляции по фактору более 0.75, а количество факторов соответствует количеству групп. При

использовании спектров реальных объектов при рН 7 наблюдалась ошибочная классификация объектов, содержащих БГ, а при рН 1.5 наблюдалась верная классификация всех напитков, кроме № 4 и 5 которые не были отнесены ни к одному классу. Следует отметить, что по первому фактору всегда определялись напитки, содержащие ТАН и ПС при совместном присутствии, что указывает на высокое сродство видимых спектров смесей такого состава.

В отличие от факторного анализа кластерный анализ является наиболее простым и распространенным методом классификации данных на основании простых корреляционных параметров и часто используется для предварительной оценки возможности разделения выборки на группы и выявления проблем классификации отдельных объектов. Для иерархического кластерного анализа были использованы методы единичной и полной связи, Варда, взвешенные и невзвешенные центроидные методы и различные критерии: Евклидово расстояние, квадрат Евклидова расстояния, Манхэттенское расстояние, 1-г Пирсона и процент несогласованности. Наилучшие результаты были получены при использовании критерия 1-г Пирсона и метода полной связи. При анализе спектров, полученных при рН 1.5, достигается 100% правильность классификации, а при рН 7 наблюдается ошибочное отнесение объекта № 3 к хлорофиллсодержащим напиткам (Рис. 4).

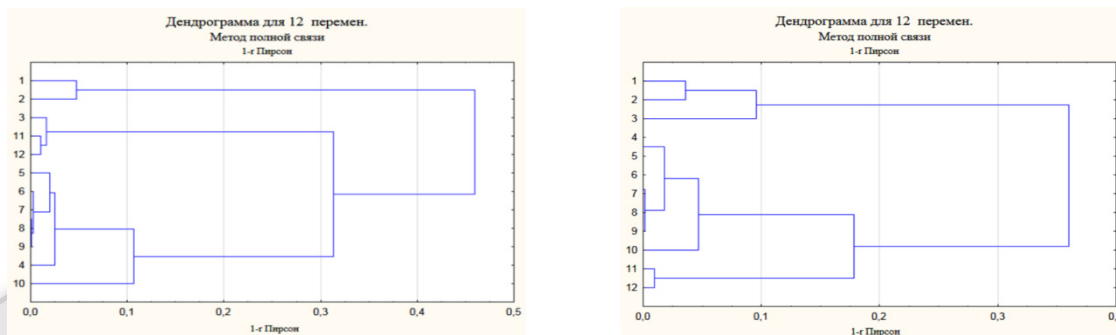


Рис. 4. Результаты иерархического кластерного анализа реальных объектов, содержащих смесь красителей (№1-3: ТАН + БГ; №4-5: неизвестный состав; №6-9: ТАН + ПС; №10: ХЖ; №11, 12: ХФ) методом полной связи по критерию 1-г Пирсона при pH: а) 1.5; б) 7.0.

Мера объединения в класс в первом случае 1-г Пирсона < 0.04 , а во втором - 1-г Пирсона < 0.1 . Таким образом, при pH=7 наблюдаются большие различия между различными классами. По данному методу напитки №4 и 5 были классифицированы как объекты, содержащие ТАН и ПС.

Удовлетворительные результаты классификации были получены методом главных компонент (Рис. 5). Наибольшее расхождение наблюдается в группе, соответствующей напиткам, содержащим ТАН и БГ. Стоит отметить, что вероятные области, соответствующие различным классам, находятся на значительных расстояниях друг от друга, но правильность классификации спектров при pH=1.5 может быть нарушена для объектов, содержащих ПС и ТАН или хинолиновый желтый. По данному методу напитки №4 и 5 были классифицированы как объекты, содержащие ТАН и ПС.

В качестве хемометрического алгоритма с «учителем» был использован метод PLS, основанный на формировании латентных переменных с целью максимизации ковариации матрицы исходных предикторов и откликов. PLS является инструментом не только классификации, но и расчета значения исследуемого параметра для нового объекта с заданными значениями переменных, что позволяет использовать данный

алгоритм как на этапе определения типа смеси, так и при расчете концентрации красителей в ней. Каждому типу объектов было назначено определенное значение переменной «класс»: 0 - для смеси ТАН и ПС, 1 - для ТАН и БГ, 1 - ХЖ и ПС, 2 - хлорофилл. В обучающую выборку отбирались по 1 представителю каждого класса. Для систем, содержащих хинолиновый желтый и ПС, была применена процедура трансформации выборки чтобы имитировать дополнительный образец, который мог бы принимать участие в обучении. В каждом случае 6 спектров были использованы как внешняя выборка и не принимали участия в расчете коэффициентов PLS-регрессии и ранжировании полученных моделей. Спектры объектов № 4 и 5 всегда были включены во внешнюю выборку. Другие 3 набора переменных составляли тестовую выборку. По данному распределению была проведена процедура бутстрэпа, использование которого привело к удовлетворительным результатам при работе с малыми выборками [26]. Чтобы избежать «оверфитинга», в данном анализе была использована только одна латентная переменная, которая формировалась с помощью метода «имитации отжига» по минимизации PRESS за 1000 итераций.

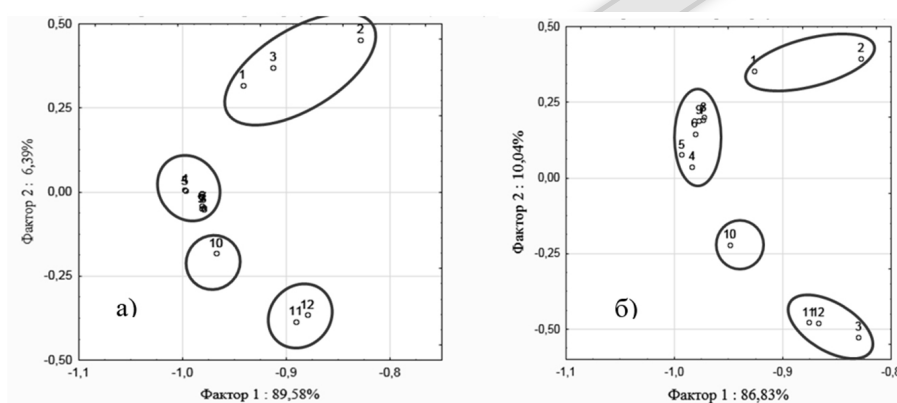


Рис. 5. Результаты анализа главных компонент реальных объектов, содержащих смесь красителей (№1-3: ТАН + БГ; №4-5: неизвестный состав; №6-9: ТАН + ПС; №10: ХЖ; №11, 12: ХФ): а) при pH 1.5; б) при pH 7.

Всего было получено более 50 удовлетворительных моделей, которые в дальнейшем можно использовать как выборочно, так и вместе, для получения решения о классификации по большинству выборов. При отнесении объекта тестовой или внешней выборки к определенному типу рассчитанное значение переменной «класс» округляли. Правильность классификации для этого метода составляла 100 и 90 % для анализа спектров при pH = 1.5 и 7 соответственно, а объекты № 4 и 5 были классифицированы как содержащие ТАН и ПС. Лучшие классифицирующие модели были получены при анализе спектров реальных объектов, полученных при pH = 1.5, алгоритмами

иерархического кластерного анализа, анализа главных компонент и методом регрессии на латентных переменных. Наибольшее количество ошибок классификации наблюдается для слабоалкогольного напитка №3, что может быть связано с наличием в нем незначительного количества хлорофилла, что было подтверждено качественной реакцией. Объекты, для которых было установлено отклонение от состава, указанного на этикетке, большинством алгоритмов были отнесены к напиткам, содержащим ТАН и ПС. Сравнение полученных классифицирующих моделей приведено в табл. 1.

Таблица 1. Результаты классификации реальных объектов по составу красителей различными хемометрическими алгоритмами.

№ объекта	pH = 1.5				pH = 7			
	CLA	FA	PCA	PLS	CLA	FA	PCA	PLS
1	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	-	+	+
3	+	+	+	+	-	-	-	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+
4	ТАН+ПС	-	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС
5	ТАН+ПС	-	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС	ТАН+ПС
Правильность классификации	100	100	100	100	90	80	90	90

С учетом хороших результатов классификации смесей красителей методом PLS также разработаны количественные методики определения концентраций ТАН, ПС и БГ в растворах на базе этого алгоритма. Общая выборка включает по 11 спектров для смесей ТАН + БГ и ТАН + ПС при pH = 1.5 и 7 соответственно, среди которых 4 выступают в качестве обучающей выборки, 3 - тестовой, 4 - внешней. При разработке количественной модели расчета концентраций использовался тот же подход к процедуре формирования подвыборки поиска регрессионных уравнений, как и в классифицирующих моделях. Результаты определения концентраций красителей при их совместном присутствии приведены в табл. 2. Также применяли и алгоритм SIMPLISMA,

который является одним из самых простых методов расчета концентраций и индивидуальных спектров из спектров смесей с использованием непосредственно измеренных переменных. Матрица данных $D = C \times P^T + E$, где C - матрица концентрации, P - спектры компонентов смеси, E - матрица погрешностей. Этот алгоритм часто используется для предварительной оценки возможности декомпозиции спектральных сигналов [27]. Для уточнения формул расчета возможно введение дополнительных коэффициентов, соответствующих свободным членам уравнений регрессии. Так как для определения значения коэффициентов поправки нужно знать состав смеси, задача их подбора решалась минимизацией погрешностей.

Таблица 2. Максимальные ошибки определения концентрации красителей при их совместном присутствии.

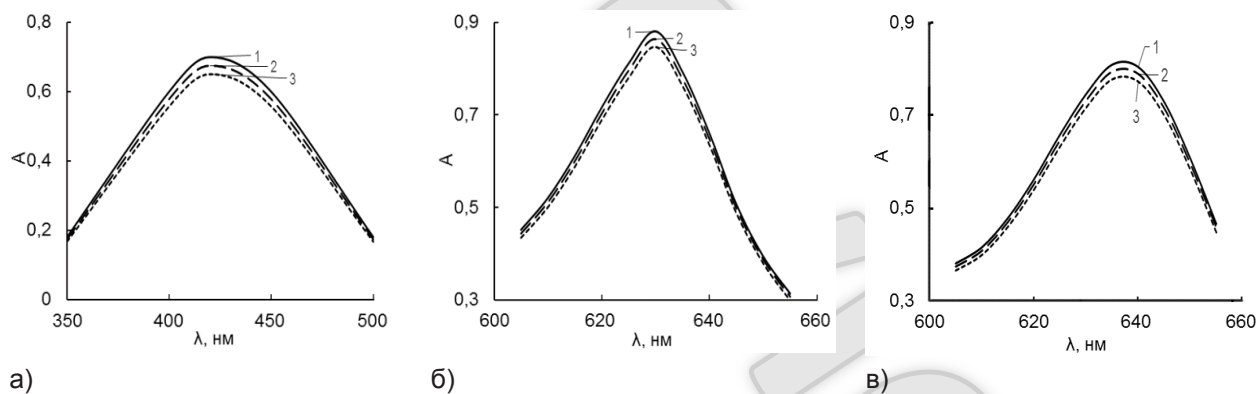
Алгоритм	Смесь ТАН-БГ		Смесь ТАН-ПС	
	$\Delta C_{\text{ТАН}}, \%$	$\Delta C_{\text{БГ}}, \%$	$\Delta C_{\text{ТАН}}, \%$	$\Delta C_{\text{ПС}}, \%$
Аддитивность по А	3.23	2.55	5.4	3.4
Аддитивность по А (с учетом поправочных коэффициентов)	1.27	0.92	1.41	0.88
Аддитивность по $dA/d\lambda$	13.1	1.1	8	0.96
Аддитивность по $dA^2/d^2\lambda$	16.2	28.4	18.2	8.5
MILCA	23.5	11.2	10.3	5.4
PLS	1.56	1.54	0.67	0.64

Наименьшие ошибки определения красителей в концентрационном диапазоне $0.2 \cdot 10^{-5}$ М достигались при использовании алгоритмов аддитивности с учетом матрицы остатков и PLS.

Использование MILCA зачастую приводит к улучшению расчетных моделей, что показано в ряде работ [28-30]. MILCA использует точные численные значения аппроксимации значений взаимной информации поиском ближайших соседей (по типу KNN) различного уровня, декомпозицию исходной матрицы вращений компонент на матрице обращений в двумерных подпространствах. При разложении спектра смеси на компоненты будет в простейшем случае сначала сформирована матрица с наименьшим перекрытием спектров компонентов. Однако в рамках данной работы использование вариаций

производной спектрофотометрии не привело к улучшению результатов.

Для адаптации методики для определения исследуемых красителей в алкогольных напитках изучено влияние органических растворителей и, в первую очередь, этанола на их спектрофотометрические характеристики. Установлено, что величины молярных коэффициентов светопоглощения красителей в органических растворителях практически линейно растут с увеличением их диэлектрической проницаемости. Отмечено, что этанол не влияет на положение максимума поглощения красителей, но требуется учет изменения молярного коэффициента светопоглощения в зависимости от содержания спирта (Рис.6).

**Рис. 6.** Спектры поглощения растворов красителей: а) ТАН ($C = 2 \cdot 10^{-5}$ М), б) ПС ($C = 1 \cdot 10^{-5}$ М), в) БГ ($C = 1 \cdot 10^{-5}$ М) в: 1 – воде, 2 – 50% растворе этанола, 3 – этаноле.

В полученные уравнения $\lg \epsilon_\lambda = f(\epsilon_0)$ была подставлена зависимость диэлектрической проницаемости раствора от доли этанола в нем: $\epsilon_0 = -0.5725 \omega_{C_2H_5OH} + 81.832$ ($R^2 = 0.99$). Из полученных таким образом выражений были получены

формулы для расчета концентраций исследуемых красителей при их совместном присутствии в алкогольных напитках в зависимости от содержания этанола в них:

а) Для объектов, содержащих ТАН и БГ:

$$C_{\text{ПС}} = \frac{A_{635} \cdot 10^{-0.0024 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 4.15} - A_{430} \cdot 10^{-0.0016 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 2.78}}{10^{-0.0043 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 9.44} - 10^{-0.0036 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 6.30}} \quad (2.7)$$

$$C_{\text{ТАН}} = \frac{A_{430} - C_{\text{БГ}} \cdot 10^{-0.0021 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 3.97}}{10^{-0.0024 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 4.15}} \quad (2.8)$$

б) Для объектов, содержащих ТАН и ПС:

$$C_{\text{ПС}} = \frac{A_{635} \cdot 10^{-0.0024 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 4.15} - A_{430} \cdot 10^{-0.0016 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 2.78}}{10^{-0.0043 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 9.44} - 10^{-0.0041 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 6.30}} \quad (2.9)$$

$$C_{\text{ТАН}} = \frac{A_{430} - C_{\text{БГ}} \cdot 10^{-0.0025 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 3.52}}{10^{-0.0024 \cdot \omega_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} + 4.15}} \quad (2.10)$$

В качестве реальных объектов были выбраны сладкие газированные напитки «Тархун», спортивные и алкогольные напитки разных торговых марок. Концентрации тартразина и патентованного синего или бриллиантового голубого определяли по методу аддитивности в максимумах светопоглощения и уравнениями PLS-регрессии. Полученные значения концентраций приведены в табл. 3.

Согласно данным, приведенным в табл. 3,

можно заключить, что найденные концентрации красителей не превышают установленные нормы (100 мг/кг), что для ТАН соответствует концентрации в $1.9 \cdot 10^{-4}$ М, а для ПС – $1.7 \cdot 10^{-4}$ М [31]. В целом, результаты, полученные обоими методами, близки между собой, а доверительные интервалы пересекаются, что указывает на их правильность. В свою очередь, низкие значения погрешностей свидетельствуют о приемлемой воспроизводимости результатов.

Таблица 3. Определенные концентрации ТАН и ПС или БГ в реальных объектах (n=3, P=0.95).

Номер объекта	SIMPLISMA			PLS		
	$C_{\text{ТАН}} \cdot 10^5, \text{М}$	$C_{\text{БГ}} \cdot 10^5, \text{М}$	$C_{\text{ПС}} \cdot 10^5, \text{М}$	$C_{\text{ТАН}} \cdot 10^5, \text{М}$	$C_{\text{БГ}} \cdot 10^5, \text{М}$	$C_{\text{ПС}} \cdot 10^5, \text{М}$
1	2.48±0.03	0.27±0.01	-	2.50±0.03	0.26±0.01	-
2	1.18±0.01	0.23±0.01	-	1.20±0.01	0.22±0.01	-
3	2.61±0.03	0.30±0.01	-	2.57±0.03	0.30±0.01	-
13	3.23±0.03	0.25±0.01	-	3.31±0.03	0.26±0.01	-
14	2.20±0.02	0.45±0.01	-	2.21±0.02	0.46±0.01	-
6	2.36±0.03	-	0.47±0.01	2.35±0.03	-	0.45±0.01
7	2.57±0.03	-	0.53±0.01	2.55±0.03	-	0.53±0.01
8	2.70±0.03	-	0.56±0.01	2.65±0.03	-	0.55±0.01
9	2.32±0.03	-	0.50±0.01	2.3±0.03	-	0.50±0.01
4	3.27±0.04	-	0.43±0.01	3.25±0.04	-	0.45±0.01
5	2.83±0.03	-	0.65±0.01	2.75±0.03	-	0.67±0.01

Выводы

В результате данной работы оптимизированы условия определения тартразина и патентованного синего V или бриллиантового голубого FCF при их совместном присутствии (pH 7, концентрационный интервал $(0.2-2.0) \cdot 10^{-5}$ М). На основании аддитивности спектральных сигналов и PLS разработаны методики определения исследуемых красителей при их совместном присутствии с учетом содержания этанола в растворе, сравнимые по чувствительности с менее экспрессными методами. Показано, что производная спектрофотометрия, а, следовательно, и хемометрические алгоритмы, основанные на производной спектрофотометрии (MILCA), не пригодны для декомпозиции аналитического сигнала в данном случае. На основании алгоритмов PCA, FA, PLS, CA созданы классифицирующие модели, позволяющие

различить типы смесей красителей. Наибольшую правильность классификации удалось достигнуть с использованием алгоритмов PLS и PCA. Однако использование PLS является предпочтительным в связи с возможностью классификации как единичными моделями так и совокупностью отдельных моделей, что позволяет уточнить результат определения. Предложенная методика одновременного определения тартразина и патентованного синего или бриллиантового голубого апробирована на сладких газированных и алкогольных напитках. Показано, что предложенная методика характеризуется удовлетворительной воспроизводимостью и отсутствием систематических погрешностей, что доказано с использованием статистических критериев.

Литература

1. Amador-Hernandez J.; Rojas-Hernandez, A.; Colunga-Urbina, E. M.; et al. New Chemometric Strategies in the Spectrophotometric Determination of pK_a . *Eur. J. Chem.* **2014**, 5 (1), 1–5.
2. Di Anibal, C. V.; Odena, M.; Ruisánchez, I.; et al. Determining the Adulteration of Spices with Sudan I-II-III-IV Dyes by UV-Visible Spectroscopy and Multivariate Classification Techniques. *Talanta*. **2009**, 79 (3), 887–892.
3. Fearn, T. Chemometrics: An Enabling Tool for NIR. *NIR news* 2013, 16 (7), 17–19.
4. Kumar, N.; Bansal, A.; Sarma, G. S.; et al. Chemometrics Tools Used in Analytical Chemistry: An Overview. *Talanta*. **2014**, pp 186–199.
5. Llamas, N. E.; Garrido, M.; Nezio, M. S. Di; et al. Second Order Advantage in the Determination of Amaranth, Sunset Yellow FCF and Tartrazine by UV-Vis and Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares. *Anal. Chim. Acta*. **2009**, 655 (1–2), 38–42.
6. Parastar, H.; Shaye, H. Comparative Study of Partial Least Squares and Multivariate Curve Resolution for Simultaneous Spectrophotometric Determination of Pharmaceuticals in Environmental Samples. *RSC Adv.* **2015**, 5 (86), 70017–70024.
7. Bevilacqua, M.; Bucci, R.; Magri, A. D.; et al. Tracing the Origin of Extra Virgin Olive Oils by Infrared Spectroscopy and Chemometrics: A Case Study. *Anal. Chim. Acta*. **2012**, 717, 39–51.
8. Borba, F. de S. L.; Honorato, R. S.; Juan, A. de. Use of Raman Spectroscopy and Chemometrics to Distinguish Blue Ballpoint Pen Inks. *Forensic Sci. Int.* **2015**, 249, 73–82.
9. El-Kosasy, A. M.; Abdel-Aziz, O.; Magdy, N.; et al. Spectrophotometric and Chemometric Methods for Determination of Imipenem, Ciprofloxacin Hydrochloride, Dexamethasone Sodium Phosphate, Paracetamol and Cilastatin Sodium in Human Urine. *Spectrochim. Acta. - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2016**, 157, 26–33.
10. Feng, F.; Zhao, Y.; Yong, W.; et al. Highly Sensitive and Accurate Screening of 40 Dyes in Soft Drinks by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2011**, 879 (20), 1813–1818.
11. Ghanbari, K.; Roushani, M.; Farzadfar, F.; et al. Developing a Four-Dimensional Voltammetry as a Powerful Electroanalytical Methodology for Simultaneous Determination of Three Colorants in the Presence of an Uncalibrated Interference. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2019**, 189, 27–38.
12. Hudari, F. F.; Brugnera, M. F.; Zaroni, M. V. B. Advances and Trends in Voltammetric Analysis of Dyes. In *Applications of the Voltammetry*; **2017**; p 75.
13. Amchova, P.; Kotolova, H.; Ruda-Kucerova, J. Health Safety Issues of Synthetic Food Colorants. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2015**, 73 (3), 914–922.
14. Kamel, M. M.; El Saharty, S. The Potential Health Hazard of Tartrazine and Levels of Hyperactivity, Anxiety-like Symptoms, Depression and Anti-Social Behaviour in Rats. *J. Am. Sci.* **2011**, 7 (6), 1211–1218.
15. Khayyat, L.; Essawy, A.; Sorour, J.; et al. Tartrazine Induces Structural and Functional Aberrations and Genotoxic Effects in Vivo. *PeerJ.* **2017**, 5, e3041.
16. Reyes, F. G.; Valim, M. F.; Vercesi, A. E. Effect of Organic Synthetic Food Colours on Mitochondrial Respiration. *Food Addit. Contam.* **1996**, 13 (1), 5–11.
17. Parpinello, G. P.; Ricci, A.; Laghi, L.; et al. Progress in Authentication, Typification and Traceability of Grapes and Wines by Chemometric Approaches. *Food Res. Int.* **2014**, 60, 2–18.
18. Roggo, Y.; Degardin, K.; Margot, P. Identification of Pharmaceutical Tablets by Raman Spectroscopy and Chemometrics. *Talanta*. **2010**, 81 (3), 988–995.
19. Shen, F.; Yang, D.; Ying, Y.; et al. Discrimination Between Shaoxing Wines and Other Chinese Rice Wines by Near-Infrared Spectroscopy and Chemomet-

rics. *Food Bioprocess Technol.* **2012**, 5 (2), 786–795.

20. Shestopalova, N. B.; Petrovich, M. V.; Chernova, R. K. Simultaneous Determination of Synthetic Food Dyes E102 and E110. *Izv. Sar. Un.* **2016**, 16(3), 242–257.

21. Chebotarev, A.N.; Bevziuk, K.V.; Snigur, D.V. Kislotno-osnovni ta spektrofotometrični harakteristiki 5-gidroksi-1-(p-sul'fofenil)-4-[(p-sul'fofenil)-azo]-pirazol-3-karbonovoï kisloti v rozchinah. *Ukr. Chem. J.* **2014**, 80(6), 79–84.

22. Bevziuk, K.; Chebotarev, A.; Snigur, D.; Bazel, Y.; Fizer, M.; Sidey, V. Spectrophotometric and theoretical studies of the protonation of Allura Red AC and Ponceau 4R. *J. Mol. Struct.* **2017**, 1144, 216–224.

23. Bevziuk, K.; Chebotarev, A.; Fizer, M.; Klochkova, A.; Pliuta, K.; Snigur, D. Protonation of Patented Blue V in aqueous solutions: theoretical and experimental studies. *J. Chem. Sci.* **2018**, 130(2), 12.

24. Chebotarev, A.N.; Efimova, I.S. Kislotno-osnovnye svoystva funktsional'no-analiticheskikh grupp 4-sul'fo-2(4'-sul'fonaftalin-1'-azo)naftola-1 v vodnom i vodno-organicheskikh rastvorah. *Methods Objects Chem. Anal.* **2009**, 4(1), 11–17.

25. Chebotarev, A.N.; Bevziuk, K.V.; Snigur, D.V.; Bazel, Y. R. The brilliant blue FCF ion-molecular forms in solutions according to the spectrophotometry

data. *Russian Journal of Physical Chemistry A.* **2017**, 91(10), 1907–1912.

26. Lukianova, E. A.; Ognichenko, L. N.; Yurpalova, T. A.; et al. QSAR Analysis of Complexation of Ethers of 7-Brom-3-Hydroxy-5-(2'-Chloro) Phenyl-1,2-Dihydro-3H-1,4-Benzodiazepin-2-Ones with Central Benzodiazepine Receptors CNS. *Odesa Natl. Univ. Herald. Chem.* **2018**, 23 (1(65)), 48–57.

27. Windig, W.; Antalek, B.; Lippert, J. L.; et al. Combined use of conventional and second-derivative data in the SIMPLISMA self-modeling mixture analysis approach. *Analytical Chemistry.* **2002**, 74 (6), 1371–1379.

28. Monakhova, Y. B.; Astakhov, S. A.; Kraskov, A.; et al. Independent components in spectroscopic analysis of complex mixtures. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.* **2010**, 103 (2), 108–115.

29. Monakhova, Y. B.; Kuznetsova, I. V.; Mushtakova, S. P. Application of modern chemometric methods to the study of equilibria in solutions. *Journal of Analytical Chemistry.* **2011**, 66 (6), 565–571.

30. Monakhova, Y. B.; Kuballa, T.; Lachenmeier, D. W. Chemometric methods in NMR spectroscopic analysis of food products. *Journal of Analytical Chemistry.* **2013**, 68 (9), 755–766.

31. General Standard for food additives. **2018**. 475 p.