

АНАЛІЗ ІНСТРУМЕНТАЛЬНИХ МЕТОДІВ
ВИЯВЛЕННЯ СИНТЕТИЧНИХ ХАРЧОВИХ БАРВНИКІВ

Боднарчук О. В.¹, д.т.н., с.н.с., зав. відділу,
<https://orcid.org/0000-0002-9521-0662>

Петров П. І.¹, заст. зав. відділу,
<https://orcid.org/0000-0002-0736-3547>

¹Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

<https://doi.org/10.31073/foodresources2020-15-03>

Синтетичні барвники гарантують інтенсивний і стійкий колір харчових продуктів, а витрати на виробничий процес є набагато нижчими в порівнянні з виробництвом природних барвників. Ці переваги заохочують виробників використовувати їх, незважаючи на багато даних, які підтверджують їх негативний вплив на організм людини. Незважаючи на регламентоване застосування барвників в харчовій продукції, існуючі випадки їх безконтрольного використання призводять до перевищення допустимих концентрацій і фальсифікації продуктів. Дана ситуація призвела до необхідності розробки сучасних і оперативних методів їх якісного і кількісного контролю, що є складним завданням, пов'язаного з труднощами їх екстракції зі складних харчових матриксів. Метою даної оглядової статті був аналіз інструментальних методів виявлення синтетичних харчових барвників. Для цього використовується широкий спектр аналітичних методів, таких як тонкошарова хроматографія, спектрометрія та інші спектрофотометричні методи, поєднані з хемометричною обробкою даних, наприклад, метод гібридного лінійного аналізу калібрування, адсорбційна вольтамперометрія, диференціальна імпульсна полярографія, капілярний електрофорез, високоефективна рідинна хроматографія. Найпопулярнішим видом техніки високоефективної рідинної хроматографії для визначення харчових барвників є зворотна-обернена та іонно-обмінна. Першим етапом аналізу вмісту синтетичних барвників є їх вилучення із зразків харчових продуктів, що іноді може бути складним процесом в залежності від матриці продукту та барвників, які вона містить. Вибір методу пробопідготовки також міцно пов'язаний з аналітичною технікою, яка буде використовуватись для визначення харчових барвників. У багатьох випадках цей етап є складнішим, ніж сам інструментальний аналіз. При пробопідготовці продуктів зі складною матрицею необхідно враховувати фактори стабілізації білка – наявність гідратної оболонки та вільних заряджених груп. Для усунення гідратної оболонки широко застосовують висолювання, а заряд білкової молекули усувають, наблизивши рН середовища до ізоелектричної точки. Найважливішими характеристиками, які необхідно враховувати під час вибору умов аналізу, є гідрофобні властивості барвників та наявність у цих молекул кислотних груп.

Ключові слова: високоефективна рідинна хроматографія, контроль якості, синтетичні харчові барвники

ANALYSIS OF INSTRUMENTAL METHODS OF DETECTION
OF SYNTHETIC FOOD DYES

Oksana Bodnarchuk¹, D-r of -Sciences, Senior Research, Head of the Department,
<https://orcid.org/0000-0002-9521-0662>

Pylyp Petrov¹, Deputy Head of the Department
<https://orcid.org/0000-0002-0736-3547>

¹Institute of Food Resources NAAS, Kyiv, Ukraine

<https://doi.org/10.31073/foodresources2020-15-03>

Synthetic dyes guarantee an intense and stable color of food, and the cost of the production process is much lower compared to the production of natural dyes. These benefits encourage manufacturers to use them, despite a lot of data that confirm their negative impact on the human body. Despite the regulated use of dyes in food products, the existing cases of their uncontrolled use lead to exceeding the permissible concentrations and falsification of products. This situation has led to the need to develop modern and rapid methods for their qualitative and quantitative control, which is a difficult task associated with the difficulties of their extraction from complex food matrices. The aim of this review article was to analyze the instrumental methods for detecting synthetic food dyes. This uses a wide range of analytical methods, such as thin layer chromatography, spectrometry and other spectrophotometric methods combined with chemometric data processing, for example, the method of hybrid linear calibration analysis, adsorption voltammetry, differential pulse polarography, capillary electrophoresis. The most popular technique of high performance liquid chromatography for the determination of food dyes is reverse-phased and ion-exchange. The first step in analyzing the content of synthetic dyes is extracting from food samples, which can sometimes be a complex process depending on the matrix of the product and the dyes it contains. The choice of sample preparation method is also strongly related to the analytical technique that will be used to determine food dyes. In many cases, this stage is more complex than the instrumental analysis itself. When sample preparation of products with a complex matrix, it is necessary to take into account the factors of protein stabilization - the presence of a hydrated shell and free charged groups. Salting is widely used to remove the hydrate shell, and the charge of the protein molecule is removed by bringing the pH of the medium closer to the isoelectric point. The most important characteristics that must be taken into account when choosing the conditions of analysis are the hydrophobic properties of dyes and the presence of acid groups in these molecules.

Key words: high performance liquid chromatography, quality control, synthetic food dyes

Вступ. Харчові барвники – найцікавіша група харчових добавок. Часто колір продукту визначає його привабливість для споживача. Однак, природні барвники нестійкі і легко піддаються деградації під час переробки їжі. Саме тому настільки широко використовуються синтетичні харчові барвники. Найбільш популярними синтетичними харчовими барвниками є тартразин (E102), хіноліновий жовтий (E104); захід сонця жовтий (E110), кармоїзин (E122), амарант (E123), Понсо 4R (E124), еритрозин (E127); спеціальний червоний AG (E129), синій патентований V (E131), індіго кармін (E132), блискучий синій FCF (E133), коричневий HT (E155) [1].

Синтетичні барвники гарантують інтенсивний і стійкий колір харчових продуктів, а витрати на виробничий процес є набагато нижчими в порівнянні з виробництвом природних барвників. Ці переваги заохочують виробників використовувати їх, незважаючи на багато даних, які підтверджують їх негативний вплив на організм людини. Наприклад, азобарвники (група сполук, у складі яких є азогрупа $-N=N-$) розкладаються природною флорою кишечника до ароматичних амінів [2], які є причиною частих головних болей у дорослих, тоді як діти часто стають гіперактивними [3]. Також,

синтетичні барвники здатні викликати різні алергічні реакції. Незважаючи на їх регламентоване застосування в харчовій продукції, існуючі випадки безконтрольного використання синтетичних барвників призводять до перевищення допустимих концентрацій і фальсифікації продуктів. Водночас, в ряді країн використання окремих синтетичних барвників заборонено (табл.1). В Україні, частка застосовуваних вітчизняними виробниками синтетичних барвників, які заборонені в інших країнах, становить 36,3 % [4].

Таблиця 1

Харчові барвники, заборонені до використання в деяких країнах [4]

Код	Країни, в яких барвник заборонений
E 102, Тартразин	Швейцарія
E 104, Жовтий хіноліновий	США, Японії, Норвегія
E 110, Жовтий "сонячний захід"	Норвегія, Фінляндія, США та багато ін.
E 120, Кармін	Італія
E 122, Азорубін	Японія, Канада, США, Австрія, Швеція
E 124, Понсо 4R	США, Норвегія, Фінляндія та ін.
E 129, Червоний 2G	9 країн Європи
E 131, Синій патентований	Австралія, США, Норвегія
E 133, Синій блискучий	Бельгія, Франція, Данія, Норвегія, Німеччина, деякі ін.
E 152, Вугілля синтетичне	Країни ЄС, США та деякі ін.
E 153, Вугілля рослинне	США, Росія, країни ЄС
E 160 с, Олієсмоли паприки	Австралія
E 175, Золото	Австралія, Росія
E 181, Таніни харчові	Австралія

Широке застосування харчових синтетичних барвників у виробництві продуктів харчування призвело до необхідності розробки сучасних і оперативних методів їх якісного і кількісного контролю, що є складним завданням, пов'язаного з труднощами їх екстракції зі складних харчових матриксів [5].

З цією метою використовується широкий спектр аналітичних методів, таких як тонкошарова хроматографія, спектрометрія [6] та інші спектрофотометричні методи, поєднані з хеометричною обробкою даних [7-8]. Наприклад метод гібридного лінійного аналізу калібрування [9], адсорбційна вольтамперометрія, диференціальна імпульсна полярографія [10-11], капілярний електрофорез [12-13], високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) та іонна хроматографія.

Підготовка зразків також є дуже важливою проблемою при аналізі харчових барвників. Їх екстракція з різних видів матриць є нелегким завданням. Речовини, що містяться у зразках харчових продуктів, можуть унеможливити визначення барвників. Саме тому етап попередньої обробки необхідний для отримання задовільних результатів [3].

Метою даної роботи був аналіз інструментальних методів виявлення синтетичних харчових барвників.

Результати та обговорення. Використання харчових синтетичних барвників для додання необхідної кольорової гами молочної продукції з хімічної точки зору тісно пов'язане з взаємодією сульфонатрієвих груп, що входять до складу всіх дозволених на сьогодні в харчовій промисловості синтетичних барвників з радикалами амінокислот [14].

Спочатку передбачалося, що барвники повинні бути відокремлені від білкової матриці або в процесі проведення підготовки проб, або, якщо не вдасться підібрати умови для кількісного вилучення, безпосередньо на колонці. Основна перевага останнього підходу полягає в прискоренні аналізу в цілому, а істотні недоліки – часта зміна

передколонок і наявність неінформативних піків, що ускладнюють обробку хроматографічних даних.

Першим етапом аналізу вмісту синтетичних барвників є їх вилучення із зразків харчових продуктів, що іноді може бути складним процесом в залежності від матриці продукту та барвників, які вона містить. Вибір методу пробопідготовки також міцно пов'язаний з аналітичною технікою, яка буде використовуватись для визначення харчових барвників. У багатьох випадках цей етап є складнішим, ніж сам інструментальний аналіз [3].

Наприклад, для аналізу методом тонкошарової хроматографії екстракти барвників повинні бути очищені від цукрів, жирів та інших речовин, які можуть унеможливити поділ барвників. Найефективнішим методом є кип'ятіння оцтовокислих розчинів зразків з білою вовною. Потім вовна промивається водою для видалення домішок. Барвники відділяють від вовни кип'ятінням з розведеним аміаком. Потім випарюють до майже сухого екстракту, який хроматографується [15]. Аналіз досліджень показав багато модифікацій цього методу, наприклад, заміни вовни на поліамідне волокно або порошок [16]. Останній може використовуватися для заповнення колонки.

За допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) можливе якісне та кількісне визначення синтетичних харчових барвників. Дана методика забезпечує розділення будь-яких сумішей до компонентних речовин, а відповідний детектор дозволяє їх ідентифікувати та кількісно визначити. Досліджувані речовини також можна ідентифікувати за допомогою детектора шляхом порівняння зі стандартом. Основою розділення є відмінності у спорідненості компонентів до стаціонарної та мобільної фази. Барвники мають різну спорідненість до нерухої фази. Це впливає з відмінностей їх маси, структурного простору і наявності функціональних груп у молекулі кожного барвника [3].

Найпопулярнішим видом техніки ВЕРХ є зворотна-обернена та іонно-обмінна. У системі з оберненою фазою нерухома фаза трохи полярна або неполярна, тоді як рухома фаза має сильнішу полярність (наприклад, тетрагідрофуран, ацетонітрил, метанол, вода) [17]. Застосування відповідних умов дозволяє аналізувати більшість харчових барвників. Іонізовані зразки повинні мати можливість утворювати нейтральні молекули.

Найважливішими характеристиками, які необхідно враховувати під час вибору умов аналізу, є гідрофобні властивості барвників та наявність у цих молекул кислотних груп. Гідрофобність азобарвників більша, ніж у інших, що також характерно для барвників з нафталіновим кільцем порівняно з барвниками з бензольним кільцем.

З метою поліпшення відділення та скорочення часу аналізу неорганічний електроліт додається до рухої фази. Часто різновидом модифікатора є амонієвий ацетатний буфер в оптимальному варіанті концентрації вищої за 0,1 моль/л. Більша концентрація викликає збільшення часу утримання. Можливо, причиною цього є ефект "засолювання". Випробовувана речовина випадає в осад на поверхні нерухої фази. Ліміт детектування в такому випадку становить приблизно від 2 мкг/л для тартразину до 22 мкг/л для Понсо 4R [18].

Іонно-обмінна ВЕРХ полягає у додаванні гідрофобної іонної речовини до мобільної фази. Це може бути четвертинний катіон амонію (наприклад, ацетатно-амонійний буфер), алкіло- або арилсульфонієвий аніон (наприклад, $C_7H_{15}SO_3$). В результаті реакції між зразком та елюентом нейтральної іонної пари утворюються і розділяються хроматографічно в зворотно-обернену фазову систему. Інший спосіб - підготовка зразка, яка дозволяє проведення аналізу на іонному обміннику або модифікація рухої фази, яка забезпечує отримання іонообмінника [17].

У разі відсутності елюції іонного з'єднання багатьох барвників (наприклад, E102, E124, E132) з колонки відбувається дуже швидко. Додавання іонної субстанції значно збільшує час утримання сполук, що містять у своїх молекулах кислотні групи. Це забезпечує одночасне розділення багатьох барвників [Kiseleva 2003]. Для цієї меті

використовується тетрабутиламмонійфосфат, що сприяє найкращому розділенню синтетичних барвників у присутності природних барвників. Це також продовжує час використання хроматографічної колонки. Іонні пари утворюються в рухомій фазі, а утримання контролюється взаємодією з поверхнею сорбенту. Коли концентрація тетрабутиламмонійфосфату збільшується, частина молекул барвників, які також зустрічаються у формі іонних пар збільшується, що забезпечує краще відділення. Значна роль у визначенні барвників цим методом має рН. Для колонки, заповненої силікагелем, оптимальний рН повинен бути в межах 4–6, що є результатом низької гідролітичної стабільності гелю. Наступним важливим параметром є пропорція органічної фази до буфера. З метою запобігання перекривання піків необхідно збільшувати концентрацію органічного розчинника [19].

У більшості методів рідинної хроматографії використовується органічні розчинники. Ці речовини негативно впливають на навколишнє середовище та здоров'я людини. Ось чому виправданим є використання інших, «зелених» методів. Один з них передбачає використання розчину супфектанту 4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)- феніл-поліетиленгліколю (Тритон X-100), як рухомої фази. Це з'єднання змінює полярність води і характеристики колонки C_{18} . За його присутності колонка стає більш полярною, поки заряди молекул барвника стабілізуються.

Використання цих методів було проаналізовано на прикладі трьох барвників – бриліантового синього, «сонячного заходу» і тартразину. Оптимальна концентрація супфектанту повинна бути в діапазон 0,25–1%. Занадто низька концентрація Тритону X-100 унеможлиблює правильну підготовку колонки, хоча занадто висока концентрація викликає неточне розділення та кількісне визначення кожної суміші сполук. Також, важливу роль відіграє рівень рН, який повинен дорівнювати 7. Нижче цього значення спостерігалось зникнення піків і було необхідним додавання фосфатного буфера. Заряди буферних компонентів врівноважують заряди молекул барвників. Цей метод дозволяє отримати задовільний результат через 8 хв з використанням 15 мг Тритону X-100 та 38,8 мг буфера. Це дешевий і швидкий спосіб аналізу барвників. Однак, якщо різниці в концентрації речовин в зразку значна, можуть бути труднощі в його застосуванні [20].

Високоєфективна іонна хроматографія також використовується для аналізу харчових барвників. Вона полягає у використанні спеціальної колонки, заповненою смолою з функціональними групами з постійними зарядами іонів. У безпосередньому оточенні ядра є протиіони, які забезпечують інертність системи. Іони зразка обмінюються протиіонами і зв'язками зі стаціонарною фазою на конкретний час. Цей час залежить від спорідненості іонів до серцевини колонки. На цьому процесі і засновується розділення зразка [21].

Теоретично, високоєфективну іонну хроматографію не слід використовувати для розділення органічних, багатовалентних, гідрофобних іонів, оскільки вони дуже сильно пов'язуються зі стаціонарною фазою, що призводить до тривалого часу елюції. Однак, використання аніонообмінної колонки з незначними гідрофобними властивостями і сильноокислим елюентом витримує іонізацію та забезпечує задовільне розділення зразка. Це було доведено на прикладі аналізу восьми барвників, серед яких були E102, E110, E123, E129, E132 та E133 за використання колонки Dione IonPac AS11, стабільної в діапазоні значень рН від 0 до 14. Мобільною фазою була суміш 2 моль/л HCl / ацетонітрил/вода із застосування градієнтного елюенту. Вибір соляної кислоти пояснюється її кращою розчинністю в ацетонітрилі, який гарантує краще розділення в порівнянні з метанолом [3].

Наявні наукові дані про конфігурацію і конформації білкових матриксів свідчать про те, що в глобулярних білках гідрофобні ділянки молекули знаходяться в глибині молекули [22-23]. З'єднуючись між собою, гідрофобні радикали утворюють кластери, що є проявом подвійності властивостей білкової молекули: на поверхні молекули – гідрофільні угруповання, тому молекула в цілому гідрофільна, а в глибині молекули – приховані гідрофобні радикали. Взаємодія білка з інгредієнтами харчових продуктів часто

призводить до сорбції молекули цих речовин молекулами білка. У молоці міститься в середньому близько 3,2% білків. Основним білком молока є казеїн, вміст якого в молоці становить від 2,3 до 2,9% [4].

До факторів стабілізації білка в розчині слід віднести: *наявність гідратної оболонки* – шару молекул води, певним чином орієнтованих на поверхні білкової молекули (вода гідратної оболонки має особливу властивість: оточуючи молекули білка, вона не дає їм зблизитися, з'єднатися і випасти в осад); *наявність вільних заряджених груп* (ізоелектрична точка, тобто кислотність середовища, за якої поверхня не несе електричного заряду, більшість білків знаходиться в слабнокислому середовищі, для казеїну вона становить 4,6, що означає, що кількість кислотних груп в ньому більше кількості основних).

При осадженні білків в розчині необхідно позбавити його обох факторів стабілізації: і заряду, і гідратної оболонки. Для усунення гідратної оболонки широко застосовують висолювання, тобто осадження білків високими концентраціями нейтральних солей лужних і лужноземельних металів, оскільки такі солі дуже гідрофільні і мають у високих концентраціях водовіднімаючі властивості. По мірі додавання до розчину білка вони спочатку розчиняються у вільній воді, а потім, при подальшому підвищенні концентрації, солі конкурують з білками за володіння водою, яка входить до складу гідратних оболонок [24].

Проте, в сильнокислому або сильнолужному середовищах молекули білка в осад не випадають, оскільки у них залишається один з чинників стабілізації - заряд. Заряд білкової молекули усувають, наблизивши рН середовища до ізоелектричної точки [4].

Було встановлено, що при фільтрації проб молочних продуктів через мембранний фільтр з діаметром пор 0,2 мкм можлива значна втрата барвників, що спостерігається і при центрифугуванні аналізованих проб, і при впливі фізичних факторів денатурації білків – обробці ультразвуком з робочою частотою 40 кГц та нагріванні до 60 °С. Водночас, подальше промивання фільтра і осаду після центрифугування також не сприяє повній екстракції барвників. Відмова від багатостадійної пробопідготовки та підбір хроматографічних умов підвищувало ефективність методу ВЕРХ для ідентифікації і визначення вмісту в молочних продуктах харчових синтетичних барвників азо-, трифенілметанового і індигоїдного рядів, дозволених до застосування в харчовій промисловості.

Ступінь вилучення дев'яти досліджуваних барвників, що визначається шляхом розрахунку площ піків аналізованих зразків і зразків порівняння, складала 74,7-99,2% для всіх видів досліджуваних молочних продуктів – модельних зразків молока, йогурту та біокефіру. При цьому час хроматографування складав 15 хв, а відносні стандартні відхилення площ і часу утримування піків барвників складали не більше 5%, що робить придатною хроматографічну систему [4].

Висновки. Таким чином, незважаючи на регламентоване застосування барвників в харчовій продукції, існуючі випадки їх безконтрольного використання призводять до перевищення допустимих концентрацій і фальсифікації продуктів. Дана ситуація призвела до необхідності розробки сучасних і оперативних методів їх якісного і кількісного контролю, що є складним завданням, пов'язаного з труднощами їх екстракції зі складних харчових матриксів. Найпопулярнішим видом техніки високоефективної рідинної хроматографії для визначення харчових барвників є зворотна-обернена та іонно-обмінна. Першим етапом аналізу вмісту синтетичних барвників є їх вилучення із зразків харчових продуктів, що іноді може бути складним процесом в залежності від матриці продукту та барвників, які вона містить. Вибір методу пробопідготовки також суворо пов'язаний з аналітичною технікою, яка буде використовуватись для визначення харчових барвників. У багатьох випадках цей етап є складнішим, ніж сам інструментальний аналіз. При пробі підготовці продуктів зі складною матрицею необхідно враховувати фактори стабілізації білка – наявність гідратної оболонки та вільних заряджених груп. Для усунення гідратної

оболонки широко застосовують висолювання, а заряд білкової молекули усувають, наблизивши рН середовища до ізоелектричної точки. Найважливішими характеристиками, які необхідно враховувати під час вибору умов аналізу, є гідрофобні властивості барвників та наявність у цих молекул кислотних груп.

Бібліографія

1. European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on colours for use in foodstuffs. Official Journal. 1994. L. 237(10/09). P. 0013-0029.
2. Rafii F., Hall J., Cerniglia, C. Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by *Clostridium* species from the human intestinal tract. Food and chemical Toxicology. 1997. 35(9). P. 897-901.
3. Kucharska M., Grabka, J. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes. Talanta. 2010. №80(3). P. 1045-1051.
4. Пацовский А. П., Назарова В. В. Отработка условий хроматографического разделения в методике измерения синтетических красителей в молочных продуктах. Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2016. №4.
5. Гуменюк О. Л., Шупило К. О., Семенюк О. Ю., Зінченко Ю. С. (2013). Використання барвників вітчизняними виробниками харчової продукції. Вісник Чернігівського державного технологічного університету. Серія: Технічні науки. 2013. № 2. С. 244-248.
6. Grabka J., Sztekmiller-Szymanska A. Habit modification of dyed saccharose crystals as functions of supersaturation and dye concentration. Listy cukrovarnicke a reparske. 2008. №124(1). P.27-31.
7. Ni Y., Wang Y., Kokot S. Simultaneous kinetic spectrophotometric analysis of five synthetic food colorants with the aid of chemometrics. Talanta, 2009, 78(2), 432-441.
8. Reinholds I., Bartkevics V., Silvis I., van Ruth S., Esslinger S. Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. Journal of Food Composition and Analysis, 2015, 44, 56-72.
9. Al-Degs Y. Determination of three dyes in commercial soft drinks using HPLC/GO and liquid chromatography. Food Chemistry. 2009. №117(3). P. 485-490.
10. Combeau S., Chatelut M., Vittori O. Identification and simultaneous determination of Azorubin, Allura red and Ponceau 4R by differential pulse polarography: application to soft drinks. Talanta. 2002. №56(1). P.115-122.
11. Chanlon S., Joly-Pottuz L., Chatelut M., Vittori O., Cretier J. Determination of Carmoisine, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by Differential Pulse Polarography. Journal of Food Composition and Analysis. 2005. №18(6). P.503-515.
12. Dossi N., Toniolo R., Pizzariello A., Susmel S., Perennes F., Bontempelli G. A capillary electrophoresis microsystem for the rapid in-channel amperometric detection of synthetic dyes in food. Journal of Electroanalytical Chemistry. 2007. 601(1-2). P.1-7.
13. Ryvolová M., Tábořský P., Vrábel P., Krásenský P., Preisler J. Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. Journal of chromatography A. 2007. №1141(2). P. 206-211.
14. Пацовский А. П., Рудометова Н. В., Каменцев Я. С. Электрофоретическое определение синтетических красителей в алкогольных напитках. Журнал аналитической химии. 2004. №59(2). С. 170-175.
15. Zahra N., Alim-un-Nisa Z., Kalim I., Saeed K. Identification of synthetic food dyes in beverages by thin layer chromatography. Pakistan Journal of Food Sciences, 2015, 25(4), 178-181.
16. Nambiar A., Sanyal M., Shrivastav P. Simultaneous densitometric determination of eight food colors and four sweeteners in candies, jellies, beverages and pharmaceuticals by normal-phase high performance thin-layer chromatography using a single elution

protocol. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1572, 152-161.

17. Witkiewicz Z. *Basics of Chromatography*. Warsaw: WNT. 2000.

18. Minioti K., Sakellariou C., Thomaidis N. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta*, 2007. №583(1). P. 103-110.

19. Kiseleva M., Pimenova V., Eller K. Optimization of conditions for the HPLC determination of synthetic dyes in food. *Journal of analytical chemistry*, 2003. №58(7). P. 685-690.

20. Vidotti E., Costa W., Oliveira C. Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples. *Talanta*. 2006. №68(3). P. 516-521.

21. Dubenska L., Dmukhailo A., Tvorynska S., Rydchuk P., Dubenska L. Synthetic food dyes-some aspects of use and methods of determination. *Methods and Objects of Chemical Analysis*, 2020, 15(1), 5-20.

22. Campbell J., Marshall T. *Dairy production and processing: the science of milk and milk products*. Waveland Press. 2016.

23. Pollack G. *The fourth phase of water: beyond solid, liquid, and vapor*. Ebner and Sons Publishers. 2014.

24. Friggens N., Ridder C., Løvendahl P. On the use of milk composition measures to predict the energy balance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2007. № 90(12). P.5453-5467.

References

1. European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on colours for use in foodstuffs. *Official Journal L*, 237(10/09), 0013-0029.

2. Rafii F., Hall J., Cerniglia C. (1997). Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by *Clostridium* species from the human intestinal tract. *Food and chemical Toxicology*, 35(9), 897-901.

3. Kucharska M., Grabka J. (2010). A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes. *Talanta*, 80(3), 1045-1051.

4. Pacovskij A., Nazarova, V. (2016). Otrabotka uslovij hromatograficheskogo razdelenija v metodike izmerenija sinteticheskikh krasitelej v molochnyh produktah [Working out the conditions for chromatographic separation in the method of measuring synthetic dyes in dairy products]. *Nauchnyj zhurnal NIU ITMO. Serija «Processy i apparaty pishhevyh proizvodstv»* [Scientific journal of NRU ITMO. Series "Processes and Apparatus for Food Production"], (4).

5. Humeniuk O., Shupylo K., Semeniuk O., Zinchenko Yu (2013). Vykorystannia barvnykiv vitchyznianskykh vyrobnykamy kharchovoi produktsii [The use of dyes by domestic food producers]. *Visnyk Chernihivskoho derzhavnoho tekhnolohichnoho universytetu. Serija: Tekhnichni nauky* [Bulletin of Chernihiv State Technological University. Series: Technical Sciences], (2), 244-248.

6. Grabka J., Sztekmiller-Szymanska A. (2008). Habit modification of dyed saccharose crystals as functions of supersaturation and dye concentration. *LISTY CUKROVARNICKE A REPARSKE*, 124(1), 27-31.

7. Ni Y., Wang Y., Kokot, S. (2009). Simultaneous kinetic spectrophotometric analysis of five synthetic food colorants with the aid of chemometrics. *Talanta*, 78(2), 432-441.

8. Reinholds I., Bartkevics V., Silvis I., van Ruth S., Esslinger S. (2015). Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 56-72.

9. Al-Degs Y. (2009). Determination of three dyes in commercial soft drinks using HPLC/GO and liquid chromatography. *Food Chemistry*, 117(3), 485-490.

10. Combeau S., Chatelut M., Vittori O. (2002). Identification and simultaneous determination of Azorubin, Allura red and Ponceau 4R by differential pulse polarography: application to soft drinks. *Talanta*, 56(1), 115-122.

11. Chanlon S., Joly-Pottuz L., Chatelut M., Vittori O., Cretier J. (2005). Determination of Carmoisine, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by Differential Pulse Polarography. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(6), 503-515.
12. Dossi N., Toniolo R., Pizzariello A., Susmel S., Perennes F., Bontempelli G. (2007). A capillary electrophoresis microsystem for the rapid in-channel amperometric detection of synthetic dyes in food. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 601(1-2), 1-7.
13. Ryvolová M., Táborský P., Vrábel P., Krásenský P., Preisler, J. (2007). Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Journal of chromatography A*, 1141(2), 206-211.
14. Pacovskij A., Rudometova N., Kamencev Ja.. (2004). Jeletroforeticheskoe opredelenie sinteticheskikh krasitelej v alkogol'nyh napitkah [Electrophoretic determination of synthetic dyes in alcoholic beverages]. *Zhurnal analiticheskoy himii [Journal of Analytical Chemistry]*, 59(2), 170-175.
15. Zahra, N., Alim-un-Nisa, Z. F., Kalim, I., Saeed, K. (2015). Identification of synthetic food dyes in beverages by thin layer chromatography. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 25(4), 178-181.
16. Puttemans, M., Dryon, L., Massart, D. (1983). High performance liquid chromatographic and colorimetric determination of synthetic dyes in gelatin-containing sweets, following polyamide adsorption and ion-pair extraction with tri-n-octylamine. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 66(4), 1039-1044.
17. Witkiewicz Z. (2000). *Basics of Chromatography*. Warsaw: WNT.
18. Miniotti, K., Sakellariou, C., Thomaidis, N. (2007). Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta*, 583(1), 103-110.
19. Kiseleva, M., Pimenova, V., Eller, K. (2003). Optimization of conditions for the HPLC determination of synthetic dyes in food. *Journal of analytical chemistry*, 58(7), 685-690.
20. Vidotti, E., Costa, W., Oliveira, C. (2006). Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples. *Talanta*, 68(3), 516-521.
21. Dubenska, L., Dmukhailo, A., Tvorynska, S., Rydchuk, P., Dubenska, L. (2020). Synthetic food dyes—some aspects of use and methods of determination. *Methods and Objects of Chemical Analysis*, 15(1), 5-20.
22. Campbell, J., Marshall, R. (2016). *Dairy production and processing: the science of milk and milk products*. Waveland Press.
23. Pollack, G. (2014). *The fourth phase of water: beyond solid, liquid, and vapor*. Ebner and Sons Publishers.
24. Friggens, N., Ridder, C., Løvendahl, P. (2007). On the use of milk composition measures to predict the energy balance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5453-5467.