

Szintetikus élelmiszerszínezékek gyors, szemikvantitatív meghatározása élelmiszerekből

PLESKONICSNÉ, SZABÓ ILONA, KULCSÁR FERENC,
STURDÉNES* és KOVÁCS JÓZSEF

MÉM Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Központ, Budapest

Érkezett; 1977. március 10.

Az élelmiszerek előállítása során a mesterséges anyagok – így a szintetikus élelmiszerszínezékek is – élelmezésegészségügyi okokból, csak korlátozott mennyiségben használhatók fel. Az előírt mennyiségben történt felhasználás ellenőrzésére megfelelő, a mennyiségi viszonyokra is felvilágosítást nyújtó analitikai eljárás szükséges.

Magyarországon a szintetikus élelmiszerszínezékek vizsgálatát az MSZ 20640 szabványban leírt módszer szerint végzik. A színezékek élelmiszertől való elválasztására a gyapjúkifestéses, vagy az izobutanolos-extrakciós, kimutatására pedig a papirkromatográfiás eljárás szolgál. A vizsgálati módszer hátránya, hogy a mennyiségi viszonyokra nem nyújt felvilágosítást, a gyapjúkifestéses módszer-nél pedig a hőérzékeny színezékek elbomlanak.

Az elmúlt években több közlemény foglalkozott a szintetikus élelmiszerszínezékek adszorpciós oszlopkromatográfiás elválasztásával. *Lehmann és munkatársai* (1), oszloptöltetnek poliámidot használtak a savas és CM-cellulózt a bázikus szintetikus élelmiszerszínezékek megkötésére. Az eluálást poliamidról lúgos metanollal, CM-cellulózzal pedig ecetsavas metanollal végezték. Az oszlopkromatográfiás módszerrel el tudták választani a szintetikus és természetes színezőanyagokat. *Gilhooley* (2), szintén poliamid port használt a savas szintetikus élelmiszerszínezékek megkötésére, az eluálást azonban ammónia-metanol eleggyel végzi. *Hayes* (3) cellulóz-szilikagél keveréket használ oszloptöltetnek, az eluálást pedig ammónia-acetonnal végzi. *Takashita* (4) Sephadex A-25-ön adszorbeál, és 2n sósav-izopropanol eleggyel eluált.

A leírt oszlopkromatográfiás módszerek lehetővé teszik a szintetikus élelmiszerszínezékek megbízható elválasztását a természetes színező anyagoktól és egyéb élelmiszer összetevőktől, azonban az acetontartalmú eluálószer, vagy pedig a szerzők által használt utólagos acetonos mosás hatására az indigókarmin elbomlik. Munkánkban ezért olyan oszlopkromatográfiás módszert kívántunk kidolgozni, amelynek segítségével a hazánkban engedélyezett legtöbb szintetikus élelmiszerszínezék meghatározható. A kimutatásra és mennyiségi meghatározásra vékonyrétegekromatográfiás technikát alkalmaztunk.

* Országos Frederic Joliot-Curie Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Intézet, Budapest

Kísérleti rész

Vizsgálati módszer

A poliamid por előkezelése: Kb. 5 g poliamid port (Macherey, Nagel MN SC-6, méret 0,16 mm) kromatografáló oszlopba töltjük és 20–30 cm³ lúgos metanollal (1 g NaOH 1000 cm³ 70%-os metanolban) mossuk. A lecsepegés után a poliamidot desztillált vízzel semlegesre mossuk, 10 cm³ acetonnal víztelenítjük, az acetont elpárologtatjuk. Az így előkészített poliamidot használjuk színezék megkötésére.

Az élelmiszer-minták előkészítése:

Nagy cukortartalmú anyagok (gyümölcszörpök, jamok, szénsavas üdítőitalok, likőrfélék, rum):

A folyadékokból 1–10 cm³ térfogatú, a szilárd élelmiszerekből pedig 0,5–5 g mennyiségű mintát kb. 20 cm³ desztillált vízzel jól elkeverünk. A vízben nem oldódó anyagokat üvegyapoton kiszűrjük.

Keményítőtartalmú anyagok (pudingporok, mártás és levesporok):

1–10 g mennyiségű mintát mérünk be, 20–30 cm³ ammóniás metanollal jól elkeverjük és szobahőmérsékleten állni hagyjuk, közben néhányszor megkeverjük. A keményítő leülepedése után az oldatot Macherey, Nagel 85 minőségű szűrőpapíron szűrjük, majd a visszamaradó keményítőre újabb 20 cm³ ammóniás metanolt öntünk, elkeverjük. Így a színezőanyag teljesen kioldódik.

Tejtermékek (tejfagylalt, joghurt, sajt):

10–20 g mennyiségű mintát homogenizátorban 60 cm³ acetonnal a fehérjék kicsapódásáig keverünk. A savas színezékek a kicsapódott fehérjéken koagulálnak. A szuszpenziót durva szűrőn szűrjük és a szűrőn maradt anyagot 2 g Celite 545 és 3 g tengeri homok keverékével eldörzsöljük. Az így nyert homogén masszához 40 cm³ acetont adunk, jól elkeverjük és finom porúsú szűrőn szűrjük. A szűrőn maradt finom porból porcelán mozsárban 10 perces dörzsölés mellett elpárologtatjuk az acetont és a száraz port egy 15×180 mm-es méretű kromatográfiás oszlopba visszük. A színezéket a fehérjékről 2×10 cm³ térfogatú ammóniás metanollal eluáljuk.

Az oszlopkromatográfiás elválasztás

Az élelmiszerekből nyert tiszta színes oldat pH-ját ecetsavval 5–6 közé állítjuk és 0,5–1 g mennyiségű előkezelt poliamid port adunk hozzá. Keverés és néhány perces állás után az elegyet 15×180 mm méretű kromatográfiás oszlopba töltjük, melybe előzőleg kb. 5 mm magas rétegben tengeri homokot tettünk. A lecsepegő oldatnak szintelennek kell lenni, ellenkező esetben vagy kevés volt a poliamid por mennyisége, vagy pedig bázikus, esetleg természetes színezéket tartalmaz a vizsgált minta. Ha a poliamid por mennyisége nem elegendő, előnyösebb az élelmiszer bemérést csökkenteni, ugyanis megnövelt poliamid mennyiség mellett az eluáció nehezebben megy.

Az oszlopban leülepedett poliamidot először 6×10 cm³ meleg desztillált vízzel semlegesre mossuk, majd a színezéket 10 cm³ meleg lúgos metanollal eluáljuk. Az eluátum pH-ját metanol-ecetsav eleggyel 5–6 közé állítjuk és 0,5–1 g poliamid por újbóli hozzáadásával megismételjük az oszlopkromatográfiás műveletet. A végső eluátumhoz 3–4 csepp ecetsav-metanol elegyet adunk, térfogatát vákuum filmbepárlóval 1 cm³-re csökkentjük és az így nyert színezék oldatot vizsgáljuk vékonyrétegekromatográfiásan.

A vékonyrétegekromatográfiás meghatározás

A vékonyrétegekromatográfiás meghatározást három különböző rétegen és kifejlesztőszerség segítségével végezhetjük:

1. Cellulóz MN 300 – Kiselgel G 1:1 arányú keveréke
kifejlesztőszer: 2 g trinátriumcitrát –
95 cm³ desztillált víz –
5 cm³ koncentrált ammóniumhidroxid.
2. Cellulóz MN 300 -Kiselguhr G 1:1 arányú keveréke
kifejlesztőszer: n. butanol – etanol – desztillált víz 2:1:1 arányban ele-
gyítve.
3. Cellulóz MN 300
kifejlesztőszer: fenol – ecetsav – desztillált víz 150:2:48 arányban ele-
gyítve.

Az azonosítás standardok segítségével történik (munkánkban Williams gyártmányú standardokat használtunk, az 1. táblázatban felsorolt öt élelmiszer-színezék vizsgálatára.) Az 5% nátriumacetát tartalmú standardokból 0,5; 1; 3 μ g mennyiséget cseppentünk fel. A standardok segítségével, az Rf értékek alapján végezzük a színezékfoltok azonosítását, a szemikvantitatív meghatározásnál pedig a foltnagyság és színmélység alapján állapítjuk meg a színezékkomponensek koncentrációját. Célszerű 3–4 egymástól függetlenül végzett bírálat eredményét figyelembe venni. A bírálók által kapott értékek átlagából mg/kg, vagy mg/l-ben adjuk meg az élelmiszer összes színezéktartalmát.

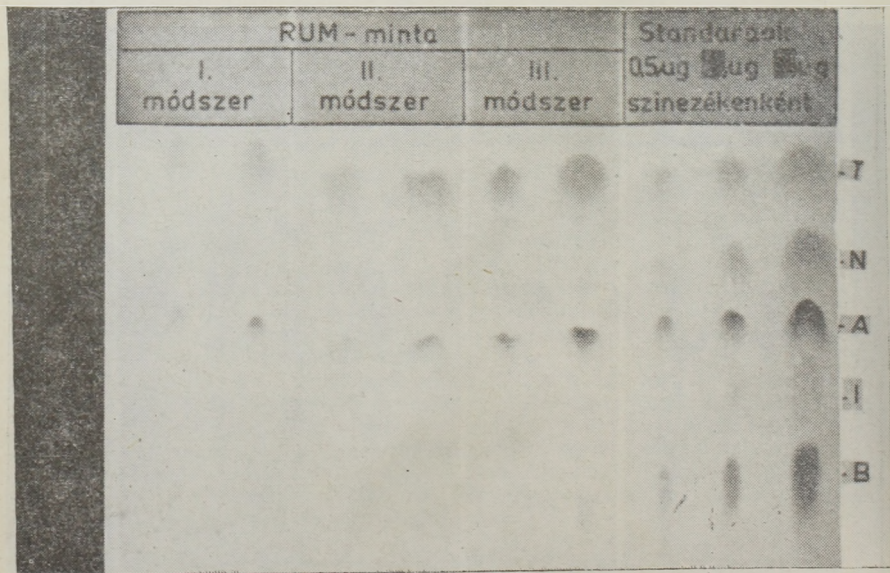


1. ábra

Vizsgálati eredmények

A szemikvantitatív színezéktartalom meghatározást öt különböző élelmiszer-nél (rum, málnaszörp, vanília-csokoládé- és puncs-pudingpor) tanulmányoztuk, elválasztást oszlopkromatográfiás, gyapjúkifestéses és izobutanolos-extraktációs módszerrel, a színezék kromatografálását pedig az általunk legjobbnak ítélt 1. sz. rétegekromatográfiás rendszerrel végeztük. Az így kapott mérési eredményeket a 2. táblázaton tüntettük fel. Vizsgálatokat végeztünk a másik két vékonyrétegekromatográfiás rendszerrel is, azonban mint a rum vizsgálatánál kapott kromatogramokon (1–3. ábra) látható, a másik két rendszerben az egyes színezékek gyakran nem kör alakú, hanem elnyúlt, ún. csóvás foltot adnak. Az ilyen foltok értékelése foltnagyság és színmélység alapján nem megbízható, szemikvantitatív értékelésre alkalmatlan.

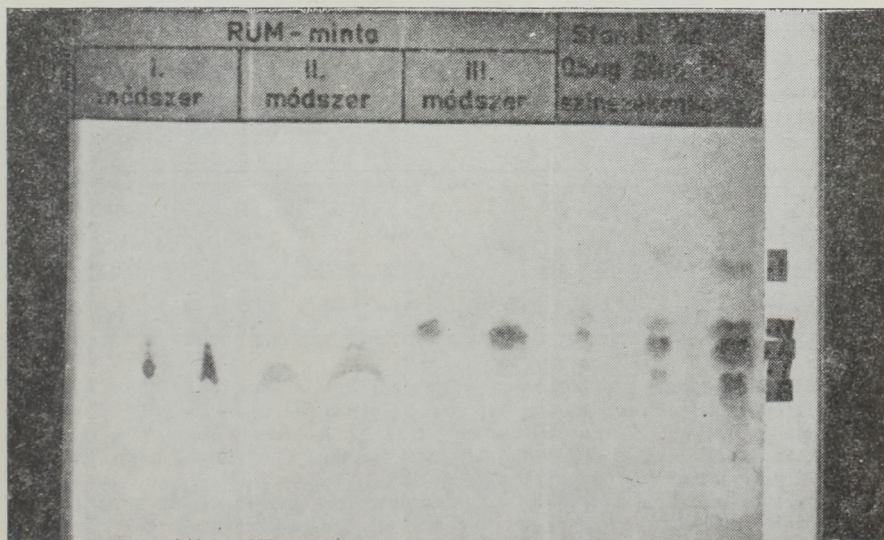
Az oszlopkromatográfiás elválasztás sokkal kiméletesebb eljárás, mint a másik két módszer. Jobban megóvja a hőérzékeny színezékeket – különösen az indigókarmint – és ezért a módszerrel nagyobb színezéktartalom értékeket kaptunk (2. táblázat). A rum mintákra kapott eredményeket (3. táblázat) matematikai-statisztikai módszerrel értékeltük. F próba alapján hasonlítottuk össze a különböző elválasztási módszerekkel és különböző bírálókkal kapott értékek szórásait. A három elválasztási módszerrel kapott összes színezéktartalom értékek szignifikánsan eltérnek egymástól, az egyes bírálók által kapott eredmények között viszont nincs szignifikáns eltérés.



2. ábra

A szemikvantitatív értékeléssel kapott eredményeket spektrofotometriás méréssel is ellenőriztük oly módon, hogy a vékonyrétegről a színezékfoltokat üveg-vákuumextraktor segítségével leszívattuk, 4 cm³ ammónia-metanol elegyben oldottuk és Unicam SP-500-as spektrofotométeren az abszorpciós maximumon fotometráltuk. Az eredmények három élelmiszer esetében, a szemikvantitatív értékeléssel kapottakkal szemben, a 4. táblázatban vannak feltüntetve. A táblázat adataiból kitűnik, hogy a szubjektív szemikvantitatív értékelés és az objektív lekaparásos módszer gyakorlatilag azonos eredményeket ad.

Vizsgálat tárgyává tettük a meghatározás alatt bekövetkező színezékvesztésüket is. A meghatározás során az extrakciónál, az oszlopkromatográfiás szétválasztásnál, a bepárlásnál és a vékonyréteggromatográfia során történhet színezékvesztés. Az extrakciós színezékvesztés kizárja az a megfigyelés, hogy a poliamid oszlopról a színezékmegkötés után lecesepegő oldat szintelen volt. A vékonyréteggromatográfia során viszont tapasztalataink megegyeznek az irodalomban közöltekkel. Ezért csak az oszlopkromatográfiás adszorpció és elució során bekövetkező színezékvesztésüket vizsgáltuk. 10 és 20 g/10 cm³ színezék-tartalmú standard oldatokat vittünk fel a poliamid oszlopra, lúgos metanollal eluáltunk és az így nyert oldatok színezék-tartalmát spektrofotometriásan mértük. A mért színezék-tartalmat összehasonlítottuk a felvitt mennyiségekkel. A mérési eredményeket az 5. táblázatban tüntettük fel. A táblázat adataiból látható, hogy a színezékvesztés az oszlopkromatográfia során 5–15% között van.



3. ábra

A vizsgált élelmiszerszínezékek

Vegyület típus	Színezék neve	Color Index
Azoszulfon	Amarant	16 185
Azoszulfon	Neukocin	16 255
Azoszulfon	Tartrazin	19 140
Azoszulfon	Brillantfekete	28 440
Indigó	Indigókarmin	73 015

2. táblázat

A három színezék-elválasztási módszer összehasonlítása

Elválasztási módszer	Az összes színezéktartalom				
	Rum mg/l	Csokoládé pudingpor mg/kg	Málnaszörp mg/l	Puncs pudingpor mg/kg	Vanília pudingpor mg/kg
Gyapjúkifestéses	30,5	45,0	122,5	162,5	118,8
Izobutanolos-extrakciós	35,6	23,8	95,0	156,3	130,5
Poliamid oszlopkromatográfiás	50,5	116,0	93,8	137,5	146,3

3. táblázat

Az elválasztási módszerek és a bírálók eredményeinek összehasonlítása

Elválasztási módszer	Az egyes bírálók által kapott összes-színezéktartalom mg/l-ben				Átlagérték
	A	B	C	D	
Gyapjúkifestéses	30,0	26,0	31,0	35,0	30,5
Izobutanolos-extrakciós	40,0	39,0	30,0	33,5	35,6
Poliamid oszlopkromatográfiás	57,0	43,0	58,0	44,0	50,5
Átlagérték	42,3	36,0	39,6	37,5	38,8

Egy mintában addíciós módszerrel vizsgáltuk a színezék visszanyerését. Az értékelés lekaparásos módszerrel, spektrofotometriás mérés alapján történt. Az eredményeket a 6. táblázatban tüntettük fel. A veszteség 10–15% között volt, ami hasonló jellegű analitikai eljárásoknál még elfogadható hibát jelent. A rétegekromatográfiás meghatározási módszer, az ismertetett vizsgálati körülmények betartásával a legtöbb hazánkban engedélyezett színezékre és azok keverékeire megfelelő. Figyelembe véve az ismert színezék-keverékekre ajánlott egyéb vizsgálati módszereknél fellépő veszteségeket és mellékreakciókat, az általunk módosított eljárás jól alkalmazhatónak, kellő pontosságúnak bizonyult, ellenőrző vizsgálatokra ajánlható.

A réteglekparásos módszer és szemikvantitatív értékelés eredményeinek összehasonlítása

Módszer	Vanília pudingpor tartrazin mg/kg	Puncs pudingpor neukocin mg/kg	Csokoládé pudingpor		Össze- sen mg/kg
			tart- razin mg/kg	neu- kocin mg/kg	
Réteglekparásos módszer	112	152	62	61	123
Szemikvantitatív értékelés	146,3	137,5	45,0	60,0	105,0

5. táblázat

Színezék veszteség tanulmányozása az oszlopon

Oszlopra felvitt színezékkoncentráció	Neukocin		Amarant		Brillant- fekete		Tartrazin		Indigó- karmin	
	vesztesség									
	µg	%	µg	%	µg	%	µg	%	µg	%
10 µg/10 cm ³	0,6	6	1,6	16	1,3	13	1,2	12	0,8	8
20 µg/10 cm ³	1,0	5	2,0	10	2,6	13	1,06	5,3	3,0	15

6. táblázat

Színezék visszanyerés vizsgálati eredmények

Színezék	Bemért mennyiség µg-ban	Visszanyert mennyiség µg-ban	Veszteség %-ban
Tartrazin	20	16,8	16
Indigókarmin	4	3,6	9

Ezúton mondunk köszönetet a matematikai-statisztikai számításokban nyújtott hasznos tanácsokért és segítségért Liszonyiné Gacsályi Mártának és Lendvai Ildikónak.

IRODALOM

- (1) Lehmann, G., Collet P., Hahn H. G., Ashworth, M. R. F.: AOAC 53, 1182, 1970.
- (2) Gilhooley R. A., Hoodless R. A., Pitman K. G., Thomson J.: J. of Chromatography 72, 325, 1972.
- (3) Hayes, W. P., Nyaku N. Y., Burns D. T., Hoodless R. A., Thomson J.: J. of Chromatography 84, 195, 1973.
- (4) Takeshita R., Yamashita T., Itoh N.: J. of Chromatography 73, 173, 1972.
- (5) Stahl, E.: Dünnschicht-Chromatographie. Berlin 1967.
- (6) Félix-Bláha: Matematikai statisztika a vegyiparban. Budapest 1964.

БЫСТРОЕ, СЕМИКВАНТИТАТИВНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Плешконичнэ И. Сабо, Ф. Кулчар, Д. Штур и Й. Ковач

Авторы разработали семиквантитативный метод для определения водорастворимых синтетических пищевых красителей. Метод является модификацией полиамид колонохроматографического способа Лемана. Этим модифицированным аналитическим методом возможно максимальное 10–15% погрешностью определить количество в Венгрии разрешенных всех синтетических пищевых красителей. Авторы изучали разные способы отделения, а также надежность семиквантитативного определения и потерей красящих веществ возникающих в разных фазах процесса.

QUICK SEMIQUANTITATIVE DETERMINATION OF SYNTHETIC FOOD DYES PRESENT IN FOODS

I. Pleskonics – Szabó, F. Kulcsár, D. Stur and J. Kovács

A semiquantitative method was developed for the determination of water-soluble synthetic food dyes in foods. The method is the modification of the polyamide column chromatographic process of Lehmann. On applying the modified analytical method, the amount of all synthetic food dyes licensed in Hungary can be determined at an error not exceeding 10–15%. In the course of the investigations, the various methods of separation, furthermore also the reliability of the semiquantitative determination and the dye losses occurring in various phases of the procedure were studied.

SCHNELLE, HALBQUANTITATIVE BESTIMMUNG VON SYNTHETISCHEN LEBENSMITTELFARBSTOFFEN IN LEBENSMITTELN

I. Pleskonics – Szabó, F. Kulcsár, D. Stur and J. Kovács

Eine halbquantitative Methode wurde zur Bestimmung von wasserlöslichen synthetischen Lebensmittelfarbstoffen in Lebensmitteln entwickelt. Die Methode ist eine Modifizierung des Lehmannschen Polyamid säulenchromatographischen Verfahrens. Mittels dieser modifizierten analytischen Methode ist die Menge aller in Ungarn genehmigten synthetischen Lebensmittelfarbstoffe mit einem höchstens 10–15%igen Fehler bestimmbar. Während der Untersuchungen wurden die verschiedenen Abtrennungsvorfahren, ferner auch die Verlässlichkeit der halbquantitativen Bestimmung und der in den unterschiedlichen Phasen des Verfahrens vorkommende Farbstoffverlust studiert.