

Spektrofotometrické stanovenie syntetických farbív v pudingových práškoch

TERÉZIA ŠINKOVÁ – MÁRIA STANOVÁ – MILAN SUHAJ

Súhrn. Vypracovala sa metóda stanovenia jednozložkových a dvojzložkových syntetických farbív v pudingových práškoch. Farbivá sa extrahujú pri laboratórnej teplote vytrepáním do zmesi metanolu a amoniaku (95:5). Obsah farbív sa vyhodnotí spektrofotometricky. Metóda je rýchla, výťažnosť stanovenia je 90,6 až 95,2 %, štandardná odchýlka pre jednotlivé farbivá je v rozmedzí od 0,61 do 0,81 mg.kg⁻¹. Vzhľadom na maximálne povolené dávky možno touto metódou pomerne spoľahlivo stanoviť nadlimitné obsahy farbív vo výrobkoch.

Pri kontrole farbív v potravinárstve majú prvoradý význam dôkazové metódy, ktorých úlohou je zabrániť používaniu farbív, ktoré neschválili zdravotnícke orgány. Intenzita sfarbenia potravinárskych výrobkov a farebné odtiene narazvisia iba od druhu a množstva farbiva, ale aj od prostredia, podmienok aplikácie, spôsobu technologického spracovania a pod., pričom citlivosť jednotlivých farbív na uvedené podmienky nie je rovnaká. Najcitlivejším farbivom je erytrozín, ktorý je v poslednom čase v centre zvýšenej pozornosti aj na pôde FAO/WHO [1, 2]. Z uvedeného je zrejmá opodstatnenosť záujmu o metódy stanovenia farbív v požívatinách, ktoré by umožnili zabezpečiť kontrolu ich dávkovania.

Analýza potravinárskych farbív je spojená s radom problémov, v dôsledku čoho sa doteraz ani jeden z analytických postupov neodporúčal ako všeobecne platný, a to ani v medzinárodnom meradle. Prvým krokom pri dôkaze a stanovení farbív je ich izolácia z potravinárskeho materiálu, ktorá musí rešpektovať typ farbiva i prostredie, z ktorého sa má uvoľniť. Pritom treba dodržať určité štandardné podmienky, aby sa nezmenili intenzita a farebný odtieň a súčasne treba zo vzorky odstrániť zložky, ktoré by pri analýze pôsobili rušivo. Napríklad fluorescenčné stanovenie riboflavínu si vyžaduje odstráne-

Ing. Terézia Šinková, CSc., Ing. Mária Stanová, Ing. Milan Suhaj, Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

nie iných fluoreskujúcich látok z prostredia, ktoré sú prítomné vo väčšine potravín. Kým, napríklad, z mlieka možno získať vzorku po úprave dialýzou, v prípade zeleniny a obilnín sa dialýzou rušivé zložky neodstránia, ale ich treba oxidovať manganistanom draselným. Takéto spôsoby úpravy vzoriek sú vhodné aj na začlenenie do systému FIA (prietokovej injekčnej analýzy), ktorým možno analýzy zmechanizovať a tak urýchliť [3].

Odlíšenie prirodzených a syntetických farbív je zväčša prvým analytickým krokom po extrakcii farbív do roztoku. Najvhodnejšou metódou odlíšenia je skúška s vyfarbením odtučneného bieleho vlneného vlákna, prípadne polyamidového prášku. Syntetické farbivá sa pevne viažu na materiál a nemožno ich vymyť vodou, prirodzené farbivá sa vodou vymyjú [4, 5].

Ďalším jednoduchým testom je odlíšenie prirodzených a syntetických farbív na základe rozdielného správania sa oproti svetlu a silným redukovadlám. Prirodzené farbivá sa pôsobením intenzívnejšieho svetla, najmä UV svetla, odfarbia; syntetické farbivá sú stabilné. Naproti tomu syntetické farbivá možno pôsobením vodíka v stave zrodu, chloridu zinočnatého alebo niektorých ďalších látok zmeniť na bezfarebné leukobázy, kým prirodzené farbivá sa nemenia [5].

Na stanovenie jednozložkových farbív sú známe fotometrické metódy, rozpracované v rámci FAO/WHO pre komerčné farbivá. Ak ide o viaczložkovú zmes farbív, treba tieto pred vlastným stanovením vzájomne rozseparovať. Frakcie eluované na vhodnom nosiči sa fotometricky merajú a porovnávajú sa s analytickými čiarami [6]. Značným urýchlením delenia farbív v porovnaní s klasickou stĺpcovou chromatografiou je vysokotlaková kvapalinová chromatografia, ktorú možno využiť aj na rozdelenie jednotlivých stereoizomérov [7–10]. V poslednom čase sa v analýze syntetických farbív začala využívať diferenčná pulzná polarografia, ktorá umožňuje stanovenie i pri veľmi nízkych koncentráciách [11, 12].

Materiál a metódy

Cieľom našej práce bolo vypracovať metódu, ktorá by umožňovala kontrolovať koncentráciu syntetických farbív v pudingových práškoch.

Ako modelový materiál na vypracovanie postupu extrakcie farbív zo vzoriek sa použil kukuričný škrob. Tento sa postupne fortifikoval rozličnými farbivami a overovala sa výťažnosť pri variovaní extrakčných podmienok.

V prvej fáze prác sa výťažnosť farbív zo škrobovej matrice zisťovala orientačne meraniami roztokov na Spekle pri vlnových dĺžkach zodpovedajúcich maximálnej absorbančii roztokov vo viditeľnej oblasti spektra. Zistené opti-

málne podmienky extrakcie sa aplikovali na komerčné vzorky pudingových práškov.

Pri podmienkach optimálnej extrakcie sa pripravili štandardné roztoky syntetických farbív a zmerali sa ich absorpčné spektrá v rozsahu vlnových dĺžok od 210 do 900 nm na spektrofotometri Specord M 40 (C. Zeiss, Jena). Pri rovnakých podmienkach sa zhotovili analytické čiary jednotlivých farbív v roztokoch.

Tým boli splnené tieto podmienky na uplatnenie špeciálneho programu MULTICOMP ANALYSE pomocou kazety DATA HANDLING II, ktorá je príslušenstvom Specordu M 40:

– je známe spektrum každej absorbujúcej zložky, resp. jej absorpčný koeficient;

– každá zložka má lineárnu analytickú čiaru prechádzajúcu začiatkom;

– výsledné spektrum je aditívne, zložené zo spektier jednotlivých zložiek.

Absorpčné spektrá štandardných roztokov a vzoriek sa merali v sklených kyvetách hrúbky 1 cm. Po dodaní základných údajov o koncentrácii štandardných roztokov a hrúbke kyvety prístroj automaticky riešil systém rovníc pomocou matice absorpčných koeficientov a vyhodnocoval koncentrácie farbív vo vzorkách.

Podmienkou pri uvedenom vyhodnotení bola aj informácia o tom, ktoré farbivo (resp. farbivá) sa v extrahovaných vzorkách nachádzajú. Farbivá sa identifikovali tenkovrstvovou chromatografiou na komerčne dostupných platniach Silufol. Platne sa po nanesení vzoriek a štandardných roztokov jednotlivých farbív vyvíjali asi 40 až 50 minút paralelne v dvoch sústavách (aby sa zabezpečila správnosť interpretácie výsledkov), a to:

a) butanol–etanol–amoniak–kyselina mravčia (2:7:1:1),

b) butanol–kyselina octová–voda (1:1:1).

Farbivá sa identifikovali na základe porovnania R_f hodnôt škvrn vzoriek so štandardmi [13].

Výsledky a diskusia

Na uvoľnenie syntetických farbív z pudingových práškov sa najlepšie osvedčila zmes metanol–amoniak (95:5). Touto zmesou sa extrahoval náväžok asi 3 g vzorky trepaním v banke, pričom sa na toto množstvo vzorky použilo 100 ml roztoku. Vzorky sa extrahovali asi 30 minút. Potom sa každá vzorka preliala na filtračný papier s vrstvou sklenej vaty. Keďže škrobový materiál má tendenciu zanášať póry filtračného papiera, sklená vata so vzorkou sa počas filtrácie niekoľkokrát prevrstvila pomocou sklenej tyčinky. Filtrát sa použil priamo bez ďalšej úpravy na fotometrické merania.

Jednozložkové roztoky sledovaných farbív vykazovali maximá absorbancií pri týchto vlnových dĺžkach: 420 nm – tartrazín, 480 nm – oranž SY, 505 nm – košenilová červená, 517 nm – azorubín, 518 nm – ponceau 6 R, 520 nm – amarant, 525 nm – erytrozín, 610 – indigotín, 638 nm – patentná modrá.

Výťažnosť stanovenia sa overovala na modelových vzorkách kukuričného škrobu i pudingových práškov, a to samostatne a v dvojzložkových zmesiach

Tabuľka 1. Obsah syntetických farbív v náhodne vybraných vzorkách pudingových práškov
Table 1. Contents of synthetic colours in randomly selected pudding powder samples

Výrobok ¹	Farbivo ²	c [mg.kg ⁻¹]	s_v
Pudingový krém ³			
Galaxia (ON 56 6253):			
– jahodový ⁶	azorubín ¹⁴	97,5	0,71
– malinový ⁷	amarant ¹⁵	149,0	0,61
– banánový ⁸	tartrazín ¹⁶	62,0	0,66
Pudingový prášok ⁴			
Želka (ON 56 6249):			
– ananášový ⁹	tartrazín	58,6	0,66
– karamelový ¹⁰	oranž SY ¹⁷	57,6	0,81
	tartrazín	53,9	0,66
– jahodový ⁶	amarant	91,2	0,61
– malinový ⁷	amarant	201,0	0,61
Amyl s príchutou ⁵			
(ON 56 6242):			
– banánovou ⁸	oranž SY	36,5	0,81
	tartrazín	176,0	0,66
– vanilkovou ¹¹	oranž SY	66,4	0,71
	tartrazín	385,0	0,66
– ananášovou ⁹	oranž SY	74,7	0,81
– malinovú ⁷	amarant	263,0	0,61
Pudingový prášok ⁴			
(ON 56 6242):			
– malinový ⁷	amarant	432,0	0,61
– pomarančový ¹²	oranž SY	298,0	0,81
– jahodový ⁶	košenilová červená ¹⁸	124,0	0,71
– citrónový ¹³	oranž SY	26,6	0,81
	tartrazín	219,0	0,66
Kremona			
(ON 56 6254)			
– malinová ⁷	amarant	132,0	0,61

¹Product; ²Colour; ³Pudding cream; ⁴Pudding powder; ⁵Amyl with flavour; ⁶strawberry; ⁷raspberry; ⁸banana; ⁹pine-apple; ¹⁰caramel; ¹¹vanilla; ¹²orange; ¹³lemon; ¹⁴Azorubin; ¹⁵Amaranth; ¹⁶Tartrazine; ¹⁷Orange SY; ¹⁸cochineal Red.

farbív pri variovaní ich koncentrácií vo vzorkách. Uvedeným postupom sa dosiahla výťažnosť 90,6 až 95,2 %.

Presnosť analytického postupu sa vyhodnotila na náhodne vybraných vzorkách pudingových práškov. Štandardná odchýlka sa pohybovala v rozmedzí od 0,61 do 0,81 mg.kg⁻¹.

V tuzemských pudingových práškoch sme identifikovali: amarant, azorubín, tartrazín, oranž SY a košenilovú červenú, a to zväčša samostatne. Ako dvojzložková zmes sa vyskytovali oranž SY a tartrazín.

Výsledky stanovenia farbív v pudingových práškoch uvádza tab. 1. Pri porovnaní výsledkov so zdravotnícky povolenou koncentráciou syntetických farbív v požívatinách (max. 100 mg.kg⁻¹) vidieť, že zo 16 náhodne analyzovaných vzoriek pudingových práškov bol ich obsah v 11 vzorkách prekročený, a to v dvoch prípadoch viac ako štvornásobne (súhrnný obsah oranže SY a tartrazínu v pudingu Amyl s vanilkovou príchuťou a amarant v pudingovom prášku malinovom). V konzumovateľnej forme (po príslušnom zriedení pudingových práškov) sa síce koncentrácia farbív znížila pod maximálne tolerovanú hranicu, napriek tomu uvedené výsledky upozorňujú na naliehavosť zavedenia kontroly syntetických farbív v potravinárskych výrobkoch. Problém by sa mal urýchlene riešiť ako súčasť zavedenia systematickej kontroly aditívnych látok v potravinárstve, aby sa zabezpečila zdravá výživa obyvateľstva.

Záver

Syntetické farbivá z pudingových práškov možno extrahovať pri laboratórnej teplote vytrepaním zmesou metanol-amoniak (95:5). Prítomné farbivá treba identifikovať tenkovrstvovou chromatografiou. V prípade jednoduchého farbiva možno koncentráciu stanoviť porovnaním absorbancie s analytickou čiarou, pripravenou riedením štandardu farbiva v rovnakej zmesi metanolu a amoniaku, čo sa dá realizovať na Spekole. Pre dvojzložkové zmesi farbiva je potrebné meranie a vyhodnotenie na Specorde M 40.

Literatúra

1. HAJDÁKOVÁ, M. – KOVÁČ, M. – ŠINKOVÁ, T. – SZOKOLAY, A.: Stanovenie syntetických farbív v pudingoch. In: Laboralim '88, Banská Bystrica 1988.
2. HAJDÁKOVÁ, M. – KOVÁČ, M. – ŠINKOVÁ, T.: Niektoré aplikácie erytrozínu do požívatín. In: XIX. sympósiu o nových smerech výroby a hodnotení potravín, Skalský Dvůr 1988.

3. KIRK, J. R., J. AOAC, 57, 1974, č. 5, s. 1085.
4. PRÍBELA, A.: Analýza cudzorodých látok v požívatinách. Bratislava, Alfa 1987. 62 s.
5. RAUSCHER, K. – ENGST, R. – FREIMUTH, U.: Untersuchung von Lebensmitteln. Leipzig, VEB Fachbuchverlag 1972. 982 s.
6. HEMKER, W., J. Am. Oil Chem. Soc., 58, 1981, s. 114.
7. PUTTEMANS, M. L. – DRYON, L. – MASSART, G., J. AOAC, 67, 1984, č. 5, s. 880.
8. STEUERLE, H., Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 169, 1979, s. 429.
9. KHACHIK, F. – BEECHER, G. B., J. Agric. Food Chem., 36, 1988, s. 929.
10. KHACHIK, F. – BEECHER, G. B. – LUSBY, W. R., J. Agric. Food Chem., 36, 1988, s. 938.
11. FOGG, A. G. – BHANOT, D., Analyst, 112, 1987, č. 9, s. 1319.
12. FOGG, A. G. – BARROS, A. A. – CABRAL, J. O., Analyst, 111, 1986, s. 831.
13. SZOKOLAY, A. – MALKUS, Z.: Hygienická problematika farbív používaných v potravinách. Praha, SZN 1966. 187 s.
14. SZOKOLAY, A.: Posudzovanie cudzorodých látok v požívatinách z hľadiska racionálnej výživy. Bratislava, SSRV 1981. 210 s.

Do redakcie došlo 18. 12. 1989

Спектрофотометрическое определение синтетических красителей в пудинговых порошках

Резюме

Был разработан метод определения 1–2-х компонентных синтетических красителей в пудинговых порошках. Красители экстрагируются при комнатной температуре вытряхиванием в смесь метанола и аммиака (95:5). Количество красителей оценивается спектрофотометрически. Метод быстрый, точность определения от 90,6 до 95,2 %, стандартная погрешность для отдельных красителей в интервале 0,61–0,81 мг.кг⁻¹. Этим методом возможно достаточно надежно определить сверхлимитные доли красителей в продуктах, в связи с максимально разрешенными дозами.

Spectrophotometric determination of synthetic colours in puding powders

Summary

A methods for the determination of single and double synthetic colours in puding powders has been worked out. The colours are extracted at laboratory temperature by shaking with the methanol-ammoniak mixture (95:5). The method is quick, the recovery of the determination is 90.6 to 95.2 %, standard deviation for the individual colours ranged between 0.61 and 0.81 mg kg⁻¹. With respect to the maximum permitted doses, this method enables a relatively reliable determination of excess colour contents in products.

Определение активности глюкоамилазы в ферментах для пищевой промышленности

Резюме

Работа занимается исследованием и подбором методов для определения активности глюкоамилазы с уделением внимания стандартизации методов анализа промышленных ферментов. Экспериментально проверились методы основаны как на определении содержания редуцирующих сахаридов так и на ферментативном анализе освобожденной глюкозы после гидролиза крахмальных субстратов действием глюкоамилазы. С результатов вытекает, что для стандартизации подходит метод по советскому стандарту ГОСТ с использованием Био-Ла теста Оксохром-глюкоза из-за его простоты и селективности определения в присутствии α -амилазы.

Determination of the activity of glucoamylase in enzymes for food industry

Summary

The paper deals with the investigation and choice of methods for the determination of glucoamylase activity with respect to the standardization of the analytical methods for industrial enzymes. The methods based on the determination of the contents of reducing sugars as well as those based on the enzyme analysis of the liberated glucose following the hydrolysis of starch substrates under the effect of glucoamylase were experimentally evaluated. The results showed that the method according to the Soviet GOST standard under the use of the Bio-La test Oxochrom-glucose is suitable for standardization because of the simplicity and selectivity of the determination in the presence of α -amylase.