

تحقیق در باره طرز تشخیص رنگها در مواد خوراکی

کروماتوگرافی رنگهای مجاز

شرح آزمایش‌هایی که روی ۲۰ نمونه از رنگهای خوراکی بعمل آمده :
مطالعه و تعیین ماهیت رنگهای خوراکی از طریق کروماتوگرافی کاغذی و یا ستونی
مطمئن‌ترین و دقیق‌ترین راه است و در آزمایشگاه‌ها به‌نوان عملی‌ترین متدها شناخته شده است.
در انجام این آزمایش‌ها بطور کلی باید نکات زیر مورد توجه قرار گیرد.

۱- انتخاب کاغذ : اصولاً کاغذی که در مورد کروماتوگرافی رنگها بکار می‌رود

باید از جنس سلولز خالص و کاملاً یکنواخت باشد. ما در آزمایش‌ها از کاغذ واتمن
شماره ۱ استفاده کردیم کاغذها را با ابعاد ۲۰ × ۳۰ که متناسب با محفظه کروماتوگرافی
(Cuve) است بریدیم و در اینجا باید به‌جهت پیشروی محلول توسعه دهنده (ماده سیال)
که با علامت پیک (→) روی بسته‌های کاغذ نشان داده شده توجه کرد. و در موقع عمل
کاغذ را در همان جهت برید تا حلال در جهت فلش حرکت کند بعد از تهیه کاغذ از طرفی
که با جهت کاغذ منطبق است بفاصله ۳ سانتیمتر یک خط راست رسم میکنیم (خطوط و
علائمی که روی کاغذ رسم میشوند باید فقط با مداد سیاه گرافیت باشد و از بکار بردن مدادهای
رنگی و کپه بایستی خودداری نمود).

روی این خط لکه‌ها را بفاصله در حدود ۳ سانتیمتر از هم قرار میدهیم (فاصله لکه‌های
کناری نیز از لبه کاغذ نباید از ۳ سانتیمتر کمتر باشد).

۲- گذاشتن لکه‌ها: قرار دادن لکه‌ها باید با دقت انجام شود و باید سعی نمود که

بزرگی آنها بحد اقل ممکن باشد زیرا چنانچه قطر آنها از ۰۵ میلیمتر بیشتر شود از نظر اندازه‌گیری
RF بدون ارزش خواهد بود. برای گذاشتن لکه‌ها از محلولهای یک گرم در هزار مواد رنگی
استفاده میکنیم و بوسیله میکروپیت مخصوص عمل گذاشتن لکه‌ها را روی کاغذ انجام میدهیم

میکروبیوت کروماتوگرافی به گنجایش ۰/۱ میلی لیتر است که هر درجه آن نماینده ۰/۰۰۱ میلی لیتر یعنی یک گاما می باشد برای قراردادن لکه ها پیت را با اندازه مشخص از محلول پر کرده اطراف و نوک آنها با کاغذ صافی خشک میکنیم و سپس قطره کوچکی از محلول را در محل علامت گذاری شده قرار میدهم در اینجا باید دقت شود که وسعت لکه ها از حد معین تجاوز نکند و بوسیله یک سشوار (Sechoir) لکه را خشک میکنیم و دوباره قطره دیگری را تارسیدن مجدد لازم که مقدار ایتیموم آن در بالا اشاره شد روی آن قرار میدهم.

۳ - قرار دادن کاغذ در دستگاه : یک ساعت قبل از قرار دادن کاغذ یک

کریستالیزوار محتوی مقداری ساده سیال درون Couve قرار داده شد تا فضای کوو از بخار محلول اشباع شود (در کروماتوگرافی بالا رونده) کاغذ را از درازا بایستی لوله کرد و دولبه آنرا بوسیله کلیپس مخصوص کروماتوگرافی بهم وصل نمود بطوریکه دو لبه کاغذ حد اقل نیم سانتیمتر از یکدیگر فاصله داشته باشند بعد کاغذ را بدون آنکه با جدار ظرف تماس پیدا کند درون کریستالیزوار گذارده بصورتی که کاغذ قریب یک سانتیمتر در ماده سیال فرو رود. سپس سرپوشی را که با وازلین آغشته شده روی آن گذاشته پس از انقضای مدت لازم لوله کاغذ را بیرون آورده و خشک میکنیم.

محلولهای توسعه دهنده (ماده سیال):

برای تشخیص و تفکیک رنگهایی که مورد آزمایش قرار داده بودیم سعی کردیم ماده سیال بسیار مناسبی پیدا کنیم که کمک آن تفکیک جمیع نمونه های رنگی مورد آزمایش بخوبی امکان پذیر باشد و این منظور پس از استفاده از حلالهای مختلف و انجام یک سلسله آزمایش های مقدماتی حاصل شد که ذیلاً شرح داده میشود.

ماده سیال A - بوتانول نرمال - اتانول - آسونیاک - آب به نسبت ۴:۴:۱:۳
 ماده سیال B - سترات سدیم - آسونیاک که از ۹ قسمت محلول سترات دوسود (مشکل از ۱۸ گرم اسید سیتریک و ۱۱/۲۵ گرم NaOH در ۵۰۰ سی سی آب) و ۵ قسمت آسونیاک.
 ماده سیال C - فازارگانیک مخلوط عبارتست از بوتانول نرمال پیریدین آب به نسبت ۳:۱:۳ کاغذ بایستی که قبل از ظهور کروماتوگرام یک شب در کریستالیزوار از بخار فاز آبی مخلوط اشباع شود.

ماده سیال D - استن ، آب ، اسید کاربامیک به نسبت ۵:۲:۰:۵

ماده سیال E - ایزوپروپانول اسیدتری کلرواستیک ، آب ، آسونیاک به نسبت ۷:۵ میلی

لیتر - ۵ گرم - ۲۵ میلی لیتر - ۰/۳ میلی لیتر.

ماده سیال F - فرم آمید ، اتانول ، آب به نسبت ۲:۱:۱

بطوری که میدانیم RF عبارتست از مسافت طی شده بوسیله جسم مورد آزمایش تقسیم بر مسافت طی شده بوسیله حلال.

با اینکه تشخیص رنگ بوسیله تعیین ارزش RF امکان پذیر است مع الوصف در این طریقه یک عدم اطمینانی نیز وجود دارد بدلیل اینکه بسیاری از رنگها از نقطه نظر ارزش RF تفاوت بسیار جزئی با یکدیگر دارند و علاوه بر این در مورد یک جسم همیشه RF بر حسب نوع محلول توسعه دهنده (فازسویل) و حرارت محیط و نوع کاغذ و سایر شرایط عمل تغییر میکنند بنابراین مقدار RF را نمیتوان به تنهایی ملاک تشخیص قرارداد و بایستی بمنظور تشخیص قطعی از راکسیونهایی که در زیر ذکر میشود استفاده کرد.

A - قرار دادن رنگ در معرض تابش نور روز.

B - فلئوئورسانس رنگ در معرض تابش نور ماوراء بنفش.

C - تغییر رنگ در اثر مجاورت با بخار اسید کلریدریک.

D - تغییر رنگ در اثر مجاورت با بخار آمونیاک.

نتیجه آزمایشهای کروماتوگرافی و RF سواد رنگی مورد آزمایش در قبال سیالهای مختلف با ذکر مدت و درجه حرارت محیط در جدول شماره ۱ درج شده است.
از جدول شماره ۱ چنین استفاده میشود که :

a - تشخیص رنگ نمره ۱۷ (Schwarz 5410) بکمک سواد سیال (A. B. C. D. E.) امکان پذیر نیست زیرا این رنگ در سیالهای مذکور روی خط مبدا میماند و چون ارزش RF آن صفر است قابل تشخیص نخواهد بود بنابراین نقطه ماده سیال F باقی میماند که تشخیص این رنگ را میسر میسازد.

b - دو رنگ نمره ۶ بنام (Orange GGN) و نمره ۷ (Gelborange S) را که ایزوسر یکدیگرند و تنها بوسیله محل گروپمان SO_3Na - باهم اختلاف دارند نمیتوان بوسیله کروماتوگرافی از یکدیگر جدا ساخت ولی خاصیتی که خیلی جالب توجه است و تا حدودی تفکیک این دو را از یکدیگر امکان پذیر میسازد اینستکه (Gelborange S) دارای خاصیت فلوروسانس قریب ضعیفی است در صورتی که آن یکی فاقد این خاصیت فلوروسانس است.

تمام کروماتوگرامها روی کاغذ واتمن شماره ۱ و بطریقه بالا رونده تهیه شد و برای تمام کروماتوگرافیها بدون استثناء از سیالهایی استفاده گردید که تازه مخلوط و تهیه شده بود سواد سیال (فازسویل) نیز بلافاصله پس از تهیه برای اشباع کردن محیط بکار برده شد. در مورد ماده سیال C استثنائاً از فاز بکی آن برای این منظور استفاده شد و از فاز ارگانیک بعنوان ماده توسعه دهنده استفاده گردید. ارتفاع مخلوط حلال روی صفحه کروماتوگرام عموماً به ۲۲ سانتیمتر میرسد.

جدول شماره ۱

نام مواد رنگ	رنگ لکه	برحسب سانتیمتر RF × ۱۰۰						وضعیت و مشخصات رنگ	درجه چراران	برای Al
		A	B	C	D	E	F			
Echigelb	زرد	۵۸	۳۹	۲۱	۸۰	۳۱	—	با پخار HCl قرمز درمیآید	۲۱	عت
Tartrazin XX	زرد قوی	۳۰	۵۴	۵	۷۳	۱۳	—	فلوئورسانس زرد و سجاورت HCl زین سبزود	۲۱	عت
Chinolingelb	زرد لیمونی	۴۹—۳۲	۲۷—۱۹	۱۴—۸	۵۸—۴۶	۵—۱۶	—	—	۲۱	عت
Chrysoin	زرد مایل بنارنجی	۶۱—۵۰	۳۲* ۳۱—۲۲	۲۰—۱۷ ۵۶* ۵۷—۲۲	۷۵* ۷۲—۵۴	—	—	—	۲۱	»
Gelb 27175 N	زرد تخم مرغی	۴۵—۳۸	۷۱—۶۲	۱۰—۵	۸۳	۱۲	—	با پخار HCl قرمز قهوه‌ای درمیآید	۲۱	»
Orange GGN	نارنجی	۶۰	۴۱—۳۲	۱۹	۷۱	۳۸	—	—	۲۲	»
Azorubin	قرمز مایل به بنفش	۲۳	۱۸	۲۸	۴۵	۴۴	—	فلوئورسانس قرمز	۲۰	»
Echrot E	قرمز آلبالویی	۶۱	۲۵—۶۱	۲۴	۴۷	۴۴	—	لکه قرعی فلوئورسانس آبی دارد	۲۰	»
Gelborange S	نارنجی	۵۹	۴۰—۳۲	۱۷	۷۵	۳۲	—	فلوئورسانس ضعیف قرمز	۲۲	»
Naphtholrot S	قرمز مایل به بنفش	۳۱	۳۰	۷	۶۰	۱۱	—	—	۲۰	»
Cochenillerot A	قرمز	۴۴	۴۲	۱۰	۸۲	۲۱	—	—	۲۰	»
Ponceau 6 R	بشت گلی سبز	۱۹	۵۶	۲	۸۷	۴۵	—	—	۲۰	»
Scharlach GN	قرمز مایل به نارنجی	۶۶	۷۷	۳۱	۸۰	۵۶	—	—	۲۰	»
Indigocarmin	آبی	۵۳—۳۶	۱۳	۳۷—۱۶	۵۵	۱	—	—	۲۲	»
Patentblau V	آبی مایل بسبز	۷۹	۷۶	۳۸—۱۹	۹۶	۷۶	—	با پخار HCl برنگ سبز مایل بنزد درمیآید	۲۲	»
Brilliant Schwarz BN	آبی مایل پخا کستری	۲۲	۱۷	۵	۱۹	.	—	—	۲۲	»
Schwarz 5410	خاکستری سبز	۹۶	—	۲۲	»
Erythrosin Extra	بشت گلی متمایل بآبی	۷۴	۱۷—۱۰	۴۶	.	۹۳	—	HCl با پخار قرمز روشن با پخار	۲۲	»
			۲۲					برنگ نارنجی روشن درمیآید.	۲۲	»

تمام آزمایش‌ها در حرارت‌های ۲۰-۲۱-۲۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت و برای مواد سیال A و G و E مدت کروماتوگرافی در حدود ۸-۹ ساعت بود و برای ماده سیال F تقریباً ۱۴ ساعت لازم بود درحالی‌که برای کار کردن با ماده سیال B و D فقط ۲-۳ ساعت کافی بود. بعد از خشک کردن کروماتوگرام‌ها لکه‌ها را در معرض نور ماوراء بنفش قرار داده و واکنش آنها ملاحظه شد بعلاوه در باره اثر ناشی از مجاورت هر کروماتوگرام با بخار آسونیاک یا بخار اسید کلریدریک مطالعاتی بعمل آمد و در نتیجه آزمایش‌های معموله معلوم شد که تنها در کروماتوگرام رنگ (Echtrot B) لکه فرعی خاصیت فلوئورسانس پیدا میکنند و در بقیه کروماتوگرام‌ها همانطوریکه در مورد هریک در جدول مربوطه توضیح داده شد هیچیک از لکه‌های فرعی دارای چنین خاصیتی نبودند درحالی‌که برخی از لکه‌های اصلی خاصیت فلوئورسانس از خود نشان میدادند.

نکته مهم دیگر اینست که سیالهای نامبرده بطور یکسان ما را در تشخیص و تعیین هویت یک رنگ معین کمک و راهنمایی نمیکند بدین معنی که بعضی از محلولهای توسعه دهنده در کروماتوگرام رنگ معین فقط یک لکه ایجاد میکنند درحالی‌که همین رنگ با سیالهای دیگر علاوه از لکه اصلی لکه‌های فرعی نیز ایجاد میکنند که البته لکه‌های فرعی مزبور در تشخیص رنگ عامل بسیار ارزنده‌ای هستند. در اینصورت واضح است که بایستی این قبیل سیالها را مرجحاً در وهله اول انتخاب کرد.

~~*

ذیلاً بشرح آزمایش‌هایی که روی پاره‌ای از مواد خوراکی رنگ شده انجام گرفته سپرداریم:

مواد رنگی را در صنایع غذایی برای پوشاندن رنگ برخی از محصولات غذایی و خوشایند کردن آنها بکار میبرند. با اینکه رنگهای خوراکی متعدد و متنوعند و نحوه استعمال آنها برحسب محصولات مختلف فرق میکند معذالک اصول عملیات و روش آزمایش در تشخیص و تعیین هویت و کنترل آنها تقریباً یکسان است که در اینجا ذکر میشود:

طرز استخراج ماده رنگی بوسیله الیاف

استخراج رنگ از مواد غذایی بکمک پشم عاری از چربی در حمام‌های اسید یا قلیائی روش عملی متداولی است. برای اینکار لازم است که قبلاً پشم را آماده سازیم بدینصورت که مقداری الیاف بیرنگ پشم را برسیداریم و در دستگاه سوکسله قرار میدهیم و در روی آن اتردوپترول با اندازه کافی سیریزیم پس از این که محفظه ۲۵ دفعه از حلال پروخالی شد

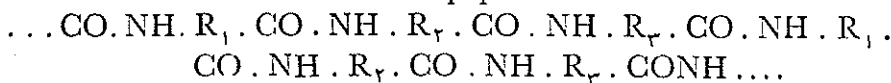
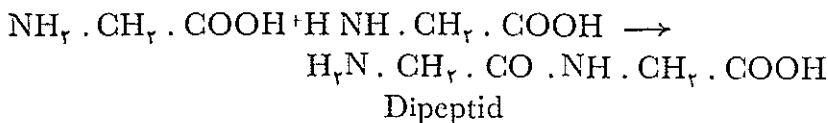
و چربی از پشم گرفته شد پشم را بدون اینکه با دست تماس پیدا کند بیرون آورده و در هوا خشک میکنیم و بعداً در بشری قرار داده و مدت یکساعت با محلول آمونیاک ۵٪ ضمن اینکه بدفعات با آژیتاتور بهم میزنیم روی بن ماری که درجه حرارت آن ۸۰ درجه سانتی گراد است قرار میدهیم و در آنرا با شیشه ساعتی میپوشانیم سپس پشم را درآورده و خوب آنرا با آب مقطر میشوئیم تا بوی آمونیاک کاملاً از بین برود سپس آنرا در مجاورت هوا قرار میدهیم تا خشک شود. روی این پشم که بدینطریق عاری از چربی گردید آزمایش مقدماتی زیر را انجام میدهیم این آزمایش برای پی بردن باینکه آیا رنگ ماده غذایی در محیط اسیدی یا قلیائی بوسیله پشم قابل استخراج است لازم بود.

آزمایش - درسه لوله امتحان مقداری از محلول آبکی ماده خوراکی رنگ شده (که در اینجا از حل کردن مقداری آب نبات رنگین در آب بدست آمده بود) را میریزیم و محتوی لوله ها را یکی اسیدی و دیگری را قلیائی میکنیم بدینطریق که برای اسیدی کردن محیط آنقدر اسید تارتریک و برای قلیائی کردن آنقدر آمونیاک بهر یک میافزائیم تا در برابر کاغذ اندیکاتور را کسمیون اسیدی یا قلیائی از خود نشان دهند سپس بهر یک از سه لوله مقداری پشم عاری از چربی وارد میکنیم و مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری جوشان میگذاریم در این موقع رنگ در یکی از محیط های اسیدی یا قلیائی یا خنثی بوسیله پشم جذب میشود که در اینجا در محیط اسیدی این عمل صورت گرفت. پس از اتمام آزمایش مقدماتی فوق و تشخیص اینکه در کدام محیط رنگ از ماده خوراکی روی پشم میآید عمل گرفتن رنگ را بوسیله پشم با مقدار بیشتری از محلول رنگین انجام میدهیم سپس پشم را بصورتی که در قسمتهای مربوطه بتفصیل شرح داده میشود شسته و آنرا در آب (بعضی مواقع الکل یا مخلوطی از این دو) وارد میکنیم چون پشم در محیط اسیدی رنگ را از ماده خوراکی گرفته بود تا قلیائی کردن محیط بدان آمونیاک اضافه میکنیم.

باید توجه داشت که چنانچه پشم در محیط قلیائی رنگ را بخود گرفته بود بایستی به محیط آنقدر اسید تارتریک بیافزائیم تا خاصیت اسیدی پیدا کند و رنگ را پس بدهد.

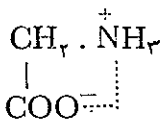
بحث - بطوریکه میدانیم اغلب مواد ارگانیک طبیعی و از جمله مواد سفیده ای محصولات سلکول بزرگی هستند و ملکولهای کوچک سنگ بنای آنها برخلاف سلولز یکسان نیستند سنگ بنای سازنده ماده سفیده ای آمینواسیدها هستند نوع و عده این آمینواسیدها در هر یک از مواد سفیده ای متفاوت میتواند باشند آمینواسیدهای مزبور میتواند آلفا یا بتا و بالاخره گاما آمینواسیدی و بالاخره مونو آمینودی کریبوکسیلیک یا دی آمینوئو کریبوکسیلیک باشند.

پلی پپتیدها که از کندن نسایون (Kondensation) گروپمان آمین یک ملکول آمینواسید با گروپمان کربوکسیل آمینواسید دیگری ضمن جدا شدن آب و متراکم شدن و تجدید آن که منجر به تشکیل یک زنجیر میشود بوجود آمده اند زنجیر اصلی مواد سفیده ای را تشکیل میدهند.

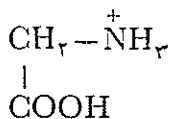


Polypeptid

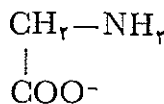
پل های ملخی چه در اتصال بین زنجیرهای پلی پپتید و چه میسل ها نقش مهمی را بعهده دارند. پل های ملخی از گروپمانهای کربوکسیل و آمین آزاد بویژه در محیط ایزوالکتریک بوجود میآیند. در نقطه ایزوالکتریک که برای هر یک از آمینواسیدها ثابت اختصاصی است آمینواسیدها بصورت ملح داخلی در میآیند و استروکتور بتائین (Betaine) را خواهد داشت (Zwitterionen) در محیط اسید آمینواسید بصورت کاتیون و در محیط قلیائی بصورت آنیون در میآیند.



در محیط ایزوالکتریک

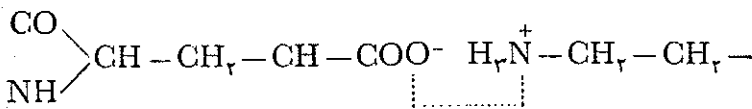


در محیط اسیدی

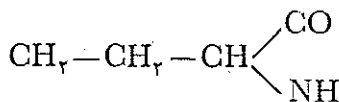


در محیط قلیائی

در مواد سفیده ای اتصالات وسطائی بصورت زیر است:



Glutaminsaure rest



Lysin rest

میدانیم که اکثر رنگهای مواد خوراکی از سه دسته سونو ازو هستند همانطور که توضیح داده شد هر قطعه ای که از ساکول اصلی رنگ خوراکی در اثر هیدرولیز قابل جدا شدن باشد بایستی دارای یک گروپمان سولفونیک باشد از طرف دیگر وقتی بخواهیم رنگ ساده غذائی را بوسیله پشم بگیریم محیط را در صورتی که اسیدی کنیم کربوکسیل اتصال ملخی

بصورت اسید آزاد جدا شده و گروپمان SO_3^- - بنفی رنگ با گروپمان NH_3^+ - مثبت ناشی از آمین های آزاد اسیدهای دی آمینوسونو کربوکسیلیک موجود در کراتین سلح جدیدی را بوجود می آورند. باین دلیل است که رنگ ماده خوراکی بوسیله الیاف پشم جذب میشود.

رنگی

نام محصولات مورد آزمایش

سبز	آب نبات محصول کارخانه دادش زاده
قرمز	» » » »
بنفش	شو کومارس » » » »
قهوهای	» » » »
زرشکی	بی می » » » »
نارنجی	آداسس محصول کارخانه چیکا
زرد	» » » »

ابتدا ۲۰ گرم از مورد آزمایش را در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل میکنیم. محلول حاصل را صاف کرده تا از ناخالصی ها جدا شود و چون بوسیله آزمایش مقدماتی دانسته شد که رنگ مواد خوراکی مورد بحث در محیط اسیدی جذب پشم میشود بدین جهت محیط را با اسید تارتریک اسیدی میکنیم و بعد اندازه ۱۰ سانتی گرم پشم عاری از چربی باین محلول وارد میسازیم و روی بن ماری مدت ۱۰ دقیقه حرارت میدهیم و این عمل را تقریباً سه دفعه هر دفعه با ۱۰ سانتی گرم پشم تکرار میکنیم تا اینکه محلول باقیمانده کاملاً بیرنگ شود و بعبارت دیگر تمام رنگ بوسیله پشم گرفته شود. سپس قیظانهای پشم را بیرون میآوریم و در بشری که در آن آب مقطر گرم اسیدی شده (با اسید تارتریک) ریخته ایم وارد میکنیم و مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری قرار میدهیم و این عمل را سه بار تکرار میکنیم و بعد با آب مقطر و سپس با آبیکه درجه حرارت آن بین ۳۸ - ۴۰ درجه سانتیگراد است شستشو میدهیم سپس با آب مقطر میشوئیم. پشم شسته شده را در بشری که محتوی ۲۰ میلی لیتر محلول آسونیاک ۱٪ است وارد کرده و روی بن ماری قرار میدهیم (از قلیائی شدن محیط بایستی بوسیله کاغذ تورنسل اطمینان یافت) و روی آن شیشه ساعتی میگذاریم و بدفعات تکان میدهیم تا رنگ پشم کاملاً گرفته شود و بیرنگ گردد (این عمل مدت ۱۰ - ۳۰ دقیقه طول میکشد) پشم را فشار داده و بیرون میآوریم محلول رنگین بدست آمده را صاف کرده و آنرا روی بن ماری تغلیظ میکنیم بطوری که حجم محلول به ۵/۰ سانتیمتر مکعب برسد. این محلول اکنون آماده کروماتوگرافی است که با آن عمل میکنیم.

جدول های شماره ۲ و ۳ مشخصات کروماتوگرام های رنگهائی که در خوراکی های

مورد آزمایش بکار رفته اند با ذکر هویت و RF و شرح بعضی از خواص آنها از جمله واکنش آنها را در برابر سیال‌های گوناگون نشان میدهد.

با سلاخه جدولهای شماره ۲ و ۳ (که در آن از سیالهای A و B استفاده شده است) چنین استنباط میشود که:

a - اولاً نتایج حاصله از کروماتوگرافی یک ماده رنگین که خود متشکل از چند رنگ میتواند باشد در قبال حلالهای مختلف یکسان نیست بدین معنی که بعضی اوقات از رنگی که خود مثلاً مخلوطی از سه رنگ است در یک حلال در عوض سه لکه دو لکه بدست بیاید در صورتی که همین رنگ در حلال دیگر سه لکه بوجود میآورد بنابراین روشن میشود که برای تفکیک و تشخیص و بالاخره تعیین هویت رنگ مورد آزمایش بیک حلال نبایستی اکتفا کرد. ثانیاً - غالباً لکه‌های فرعی که خود مشخص و سمیز ارزنده‌ای در تعیین هویت رنگ میباشند در کروماتوگرام‌ها (در شرایط معمول) ظاهر نمیشوند درحالیکه لکه‌های فرعی مزبور در کروماتوگرافی رنگ‌های استاندارد که بعنوان شاهد بکار برده میشوند بخوبی ظاهر میگردد علت ظاهر نشدن این لکه‌های فرعی بنظر ما اینستکه در شرایطی که ما رنگ را از ماده غذایی استخراج میکنیم این رنگ‌ها که ماده ناخالصی رنگ تلقی میشوند و همراه رنگ اصلی اند چون مقدارشان جزئی است از بین میروند و خیلی بندرت اتفاق میافتد که لکه فرعی رنگی هرگاه در شرایط معمول از ماده غذایی استخراج شود در کروماتوگرام ظاهر گردد با اینوصف ما در آزمایش‌هایی که روی آب نبات بنفش (ساخت کارخانه شوکومارس) انجام میدادیم متوجه شدیم که یکی از رنگهای متشکل این آب نبات یعنی (Blau Nr. 2) در حلال C همراه با لکه فرعی است.

b - در کروماتوگرافی رنگ قرمز مستخرج از آب نبات (مجموع کارخانه داداش زاده) با حلال اختصاصی (Rot Nr. 4) که از سواد زیر تهیه میشود (پیریدین ۲۵ میلی لیتر، استات اتیل ۳۵ میلی لیتر، آب ۲۰ میلی لیتر. این مخلوط را پس از سه روز بایستی مورد استفاده قرار داد) نشان داد که این رنگ مخلوطی از رنگ‌های زرد و قرمز است لکن همانطوریکه از جدول شماره ۲ و ۳ مستفاد میشود این رنگ در برابر حلالهای A و B تنها یک لکه قرمز روی کروماتوگرام از خود نشان داد و لکه زرد روی کروماتوگرام ظاهر نگردید. این رنگ زرد که بصورت لکه کوچکی تقریباً چسبیده به لکه قرمز است و تنها در حلال (Rot Nr. 4) ظاهر میشود زرد خوراکی (Gelb Nr. 2) نمیتوانست باشد زیرا اولاً RF آن تفاوت داشت ثانیاً زرد ظاهر شده در قبال آمونیاک برنگ قرمز درمیآید (درحالیکه زرد خوراکی شماره ۲ تغییر نمی‌کند) بدینجهت با چهار رنگ زرد دیگر (Gelb Nr. 1 و Gelb Nr. 3 و Gelb Nr. 4

جدول شماره ۲

نام مواد خوراکی که آنها استخراج شده	لکه‌های بیست‌آمده با RF آنها (حلال A)				وضعیت و مشخصات رنگ	ریت رنگهای مورد آزمایش
	آبی	زرد	قرمز	نازنجی		
آب نبات سبز رنگ دادا	$100 \times RF = 79$	$RF \times 100 = 30$			لکه زرد فلورسانس زرد دارد	Tartrazin XX Patentblau V
آب نبات قرمز رنگ دادا		$RF \times 100 = 30$	$RF \times 100 = 44$		—	Cochenille Rot A
آدامس نازنجی رنگ		$RF \times 100 = 30$	$RF \times 100 = 44$	$RF \times 100 = 60$	لکه زرد فلورسانس زرد دارد	Tartrazin XX Orange GGN
آدامس زرد رنگ جین		$RF \times 100 = 30$	$RF \times 100 = 44$	$RF \times 100 = 60$	لکه زرد فلورسانس زرد دارد	Tartrazin XX Cochenille Rot A
آب نبات زرشکی رنگ			$RF \times 100 = 23$		لکه قرمز فلورسانس قرمز دارد	Orange GGN Azorubin
آب نبات قهوه‌ای رنگ شو	$RF \times 100 = 22$	$RF \times 100 = 30$	$RF \times 100 = 61$	$RF \times 100 = 59$	لکه زرد فلورسانس زرد دارد	Tartrazin XX
آب نبات بنفش رنگ شو	$RF \times 100 = 52$				لکه نازنجی فلورسانس ضعیف قرمز دارد.	Gelborange S Echtrot E
			$RF \times 100 = 31$		—	Schwarz Nr. I Indigocarmine Naphtholcrot S

جدول شماره ۳

نام مواد خوراکی که رنگرزی استخراج شده	رنگه های بدست آمده با RF آنها (حلال B)				وضعیت و مشخصات رنگه	رنگهای مورد آزمایش
	آبی	زرد	قرمز			
آب نبات سبزرنگ داداش	RF × ۱۰۰۰ = ۷۱	RF × ۱۰۰۰ = ۵۴	RF × ۱۰۰۰ = ۴۲	RF × ۱۰۰۰ = ۴۱	رنگه زرد فلوئورسانس زرد دارد رنگه آبی با پیکار HCl برنگه سبز مایل بزرد درسیاید	Tartrazin XX Patentblau V Cochenille Rot
آب نبات قرمز رنگ داداش		RF × ۱۰۰۰ = ۵۴	RF × ۱۰۰۰ = ۴۲	RF × ۱۰۰۰ = ۴۱	رنگه زرد فلوئورسانس زرد دارد	Tartrazin XX Cochenille Rot Orange GGN
آدامس نارنجی رنگه چیک		RF × ۱۰۰۰ = ۵۴	RF × ۱۰۰۰ = ۴۲	RF × ۱۰۰۰ = ۴۱	رنگه زرد فلوئورسانس زرد دارد	Tartrazin XX Cochenille Rot Orange GGN
آدامس زرد رنگه چیک		RF × ۱۰۰۰ = ۵۴	RF × ۱۰۰۰ = ۱۸	RF × ۱۰۰۰ = ۴۱	رنگه قرمز فلوئورسانس قرمز دارد رنگه زرد فلوئورسانس زرد دارد	Azorubin Tartrazin XXX Gelborange S
آب نبات زرشکی رنگه بی		RF × ۱۰۰۰ = ۵۴	RF × ۱۰۰۰ = ۲۵	RF × ۱۰۰۰ = ۴۱	رنگه نارنجی فلوئورسانس ضعیف قرمز دارد	Echtrot E Swarz Nr. I
آب نبات قهوه ای رنگه شو کوه	RF × ۱۰۰۰ = ۱۷					Indigocarmin
آب نبات بنفش رنگه شو کوه	RF × ۱۰۰۰ = ۱۳					Naphthole Rot

و 5 (Gelb Nr.) که بدانها دسترسی بود مقایسه شد و کروماتوگرام‌ها نشان دادند که رنگ زرد مورد بحث هیچکدام از آنها نیز نمیتواند باشد چون رنگ زرد مجاز (Fastyellow) که بایستی با آن نیز همین عملیات صورت میگرفت در دسترس نبود و تهیه آن نیز بسیار نگریدید عمل تشخیص در این مرحله متوقف گردید.

c - رنگ نارنجی آدامس (ساخت کارخانه جیکا) از سه رنگ زرد، قرمز، نارنجی تشکیل شده بطوریکه از جدول شماره ۲ مستفاد میشود حلال A لکه قرمز رنگ را روی کروماتوگرام ظاهر نمیسازد لکن هرگاه ماده سیال B را استعمال کنیم سه لکه برنگهای مختلف روی کروماتوگرام ظاهر میشوند ولی لکه‌های قرمز نارنجی روی کروماتوگرام بخوبی از هم تفکیک نمیشوند بنابراین برای جدا ساختن آنها از یکدیگر از حلال اختصاصی (Rot Nr. 4) که قبلاً طرز تهیه و مورد استعمال آنها شرح داده شده استفاده گردید بدین ترتیب FR هر یک از این دو لکه بطور مطلوب بدست آمد.

d - رنگ نارنجی آب نبات قهوه‌ای محصول شوکوسارس به (Orange GGN و Gelb orange S) شباهت داشت برای پی بردن به هویت آن بطریقی زیر عمل شد.

توضیح: (Orange GGN و Gelb Orange S) بطوریکه قبلاً نیز اشاره شد ایزوسر یکدیگر و تنها اختلاف آنها در محل گروپمان SO_3Na - میباشد بدین معنی که گروپمان سولفونات در (Orange GGN) در محل متا و در (Gelb Orange S) در وضعیت پارا قرار گرفته و به تئیده (Schmid و T. Langer و K. Woidich) نیز نمیتوان آنها را بوسیله کروماتوگرافی از یکدیگر جدا ساخت. برای تفکیک و تشخیص آنها ناگزیر بروش‌های دیگری که ذیلاً شرح داده میشود سبادت گردید.

۱ - در روی کاغذ کروماتوگرافی قریب ۳۰ لکه رنگ هر لکه بفاصله ۳/۰ سانتیمتر گذاشته شد. با استفاده از ماده سیال B نوار نارنجی را که روی کروماتوگرام بوجود آمده میبریم و در آب آمونیاکی وارد میکنیم سپس محلول رنگین بدست آمده را صاف و تغلیظ میکنیم در اینصورت میتوانیم رنگ نارنجی را بتنهایی از آب نبات استخراج کنیم بعد با شاهد های (Orange GGN و Gelb orange S) و حلال B کروماتوگرافی میکنیم.

ولی نظر به یکسان بودن RF دو شاهد اخیر الذکر با رنگ مورد آزمایش نتیجه‌ای که به تشخیص رنگ منجر شود بدست نیامد لازم است این نکته در اینجا توضیح داده شود که در آزمایش مزبور با توجه باینکه (Gelb Orange S) در حلال B ایجاد لکه فرعی میکرد اسید این میرفت که رنگ نارنجی مستخرج به ایجاد لکه فرعی هویت خود را ظاهر سازد لکن این لکه ظاهر نگردید.

ظاهر نشادن این لکه فرعی دلیل اینکه رنگ مورد آزمایش (Gelb orange S) نمیتواند باشد نبود. بوجود نیامدن لکه فرعی را میتوان به یکسان نبودن شرایط عمل حمل نمود زیرا رنگ استاندارد تحت آن شرایطی که برای بدست آمدن همان رنگ از ماده خوراکی ایجاد میشود قرار نگرفته است.

۲ - برای تعیین هویت رنگ مجهول به پرتو نگاری فرو سرخ (اسپکتروسکوپی انفراد) متوسل میشویم.

Bibliographic

I-Deutsche lebensmittel - Rundschau 1960

II-Ullman Encyklopädi 1960 Band 11 Seite 325-330

III-Handbuch der Lebensmittelchemie erster Band 1965 Seite 1125-58

IV-Handbuch der Papierchromatographie Hais

V-Mack verlag jena 1963 Seite 206-210 u 821-838

VI آرشیو تحقیقات رشته مواد خوراکی دانشکده داروسازی