دکتر مهندس احمد مطهری ✡

تحقیق در باره طرز تشخیص رنگها در مواد خوراکی

کروماتوگرافی رنگهای مجاز

شرح آزمایش‌هائی که روی ۲۰ نمونه از رنگهای خوراکی بعمل آمده :

مطالعه وتعیین ماهیت رنگهای خوراکی از طریق کروماتوگرافی کاغذی و یا ستونی مطمئن‌ترین ودقیق‌ترین راه است و درآزمایشگاهها بعنوان عملی‌ترین متدها شناخته شده‌است. در انجام این آزمایش‌ها بطورکلی باید نکات زیر مورد توجه قرارگیرد.

۱ - انتخاب کاغذ : اصولاً کاغذی که درمورد کروماتوگرافی رنگها بکار میرود باید از جنس سلولز خالص و کاملاً یکنواخت باشد. ما در آزمایش‌ها از کاغذ واتمن شمارهٔ ۱ استفاده کردیم کاغذها را بابعاد ۲۰ × ۳۰ که متناسب با محفظه کروماتوگرافی (Cuve) است بریدیم و در اینجا باید بجهت پیشروی محلول توسعه دهنده (ماده سیال) که با علامت پیک (←) روی بسته‌های کاغذ نشان داده شده توجه کرد. و درموقع عمل کاغذ را درهمان 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 کاغذرسم میشوند بایدفقط بامداد سیاه گرافیت باشد و از بکار بردن مدادهای رنگی و کپیه بایستی خودداری نمود).

روی این خط لکه‌ها را بفاصلهٔ در حدود ۴ سانتیمتر ازهم 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 بحداقل ممکن باشد زیرا چنانچه قطر آنها از ۵ میلیمتر بیشتر شوداز نظراندازه گیری RF بدون ارزش خواهد بود. برای گذاشتن لکه‌ها از محلولهای یک گرم درهزار مواد رنگی استفاده میکنیم وبوسیلهٔ میکروپیپت مخصوصی عمل گذاشتن لکه‌ها را روی کاغذانجام میدهیم

✡ دانشیار دانشکدهٔ داروسازی باهمکاری - بانو دکتر مهرزاد فیلسوف

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

میکروپیپت کروماتوگرافی به گنجایش ۰/۱ میلی لیتراست که هردرجه‌آن نماینده ۰/۰۰۱ میلی لیتر یعنی یک گاما میباشد برای قراردادن لکه‌ها پیپت را باندازه مشخص از محلول پر کرده اطراف و نوك آنرا با کاغذ صافی خشك میکنیم و سپس قطرهٔ کوچکی از محلول را در محل علامت گذاری شده قرار میدهیم در اینجا باید دقت شود که وسعت لکه‌ها از حد معین تجاوز نکند و بوسیله یک سشوار (Sechoir) لکه‌را خشك میکنیم و دوباره قطرهٔ دیگری را تارسیدن بحد لازم که مقدار اپتیموم آن در بالا اشاره شد روی آن قرار میدهیم.

۳ - قرار دادن کاغذ در دستگاه : یکساعت قبل از قرار دادن کاغذ یک کریستالیزوار محتوی مقداری ماده سیال درون Couve قرار داده شد تافضای کوو از بخار محلول اشباع شود(درکروماتوگرافی 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 داشته‌باشند بعد کاغذ را بدون آنکه با جدار ظرف تماس پیدا کند درون کریستالیزوار گذارده بصورتی که کاغذ قریب یک سانتیمتر درماده 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 خشك میکنیم.

محلولهای توسعه دهنده (ماده سیال):

برای تشخیص وتفکیك رنگهائی که مورد آزمایش قرار داده بودیم سعی کردیم ماده سیال بسیارمناسبی پیدا کنیم که‌بکمك آن تفکیك جمیع نمونه‌های رنگی موردآزمایش 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 - آمونیاك - آب به‌نسبت ۴:۱:۴:۳

ماده سیال B - سیترات سدیم - آمونیاك که‌ازه ۹ قسمت محلول سیترات دوسود(متشکل از ۱۸ گرم اسید سیتریک و ۱۱/۲۰ گرم NaOH در ۵۰۰ سی‌سی آب) وه قسمت آمونیاك.

ماده سیال C - فازارگانیک مخلوط عبارتست از بوتانول نرمال پیریدین آب به‌نسبت ۳:۱:۳ کاغذ بایستی که قبل از ظهورکروماتوگرام یک شب درکریستالیزوار از بخار فاز آبکی مخلوط اشباع شود.

ماده سیال D - استن ، آب ، اسید کارئیدریک به نسبت ۵۰:۲۰:۵

ماده سیال E - ایزوپروپانول اسیدتری کلرواستیک ، آب ، آمونیاك به‌نسبت: ۷۵ میلی لیتر- ۵ گرم - ۲۵ میلی لیتر - ۰/۳ میلی‌لیتر.

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

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

بطوری که میدانیم RF عبارتست از مسافت طی شده بوسیله جسم موردآزمایش 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 برحسب نوع محلول توسعه دهنده (فازموبیل) و حرارت محیط و نوع کاغذ و سایر شرایط عمل تغییرمیکند بنابراین مقدار RF را نمیتوان به‌تنهائی ملاك تشخیص قرارداد و بایستی بمنظور تشخیص قطعی از راکسیونهائی که در زیر ذکر میشود استفاده کرد.

A ـ قرار دادن رنگ در معرض تابش نور روز.

B ـ فلوئورسانس رنگ در معرض تابش نور ماوراء بنفش.

C ـ تغییر رنگ در اثر مجاورت با بخار اسید کلربدریک.

D ـ تغییر رنگ در اثر مجاورت با بخار آمونیاك.

نتیجه آزمایش‌های کروماتوگرافی و RF مواد رنگی مورد آزمایش در قبال سیالهای مختلف با ذکر مدت و درجه حرارت محیط در جدول شمارهٔ ۱ درج شده است.

از جدول شماره ۱ چنین مستفاد میشود که:

a ـ تشخیص رنگ نمره ۱۷ (Schwarz 5410) بکمك مواد سیال (A. B. C. D. E.) امکان پذیر نیست زیرا این رنگ در سیالهای مذکور روی خط مبداء میماند وچون ارزش RF آن صفر است قابل تشخیص نخواهد بود بنابراین فقط ماده سیال F باقی میماند که تشخیص این رنگ را میسر میسازد.

b ـ دو رنگ نمرهٔ ۶ بنام(Orange GGN) و نمره ۷ (Gelborange S) راکه ایزومر یکدیگرند و تنها بوسیله محل گروپمان SO_3Na ـ باهم اختلاف دارند نمیتوان بوسیله کروماتوگرافی از یکدیگرجدا ساخت ولی خاصیتی که خیلی جالب توجه است و تاحدودی تفکیك ایندو را از یکدیگر امکان پذیر میسازد اینستکه (Gelborange S) دارای خاصیت فلورئوسانس قرمز ضعیفی است درصورتی که آن یکی فاقد این خاصیت فلوئورسانس است.

تمام کروماتوگرام‌ها روی کاغذ واتمن شمارهٔ ۱ و بطریقه بالا رونده تهیه شد و برای تمام کروماتوگرافی‌هابدون استثناء از سیالهائی استفاده گردید که تازه مخلوط و تهیه شده بود مواد سیال (نازموبیل) نیز بلافاصله پس‌از تهیه برای اشباع کردن محیط بکار برده شد. در مورد ماده سیال C استثنائاً از فازآبکی آن برای این منظور استفاده شد و از فاز ارگانیک بعنوان ماده‌توسعه‌دهنده استفاده گردید. ارتفاع مخلوط حلال روی صفحه کروماتوگرام عموماً به ۲۲ سانتیمتر میرسد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

جدول شمارهٔ ۱

نام مواد رنگ	رنگ لکه درروی کروماتوگرام	RF × ۱۰۰ برحسب سانتیمتر						وضعیت و مختصات رنگ	ردیف جدول	برای Al
		A	B	C	D	E	F			
Echtgelb	زرد	۵۸	۳۹	۲۱	۸۰	۳۱	—	با بخار HCl برنگ قرمز درمیآید	۲۱	عت
Tartrazin XX	زرد قوی	۳۰	۵۴	۵	۷۳	۱۳	—	فلوئورسانس زرد درمجاورت HCl ازبین میرود	۲۱	عت
Chinolingelb	زرد لیموئی	۴۹ — ۳۲	۲۷ — ۱۹ ☆ ۳۲	۱۴ — ۸	۵۸ — ۴۶ ☆ ۷۵	۵ — ۱۶	—	—	۲۱	عت
Chrysoin	زردمایل بنارنجی	۶۱ — ۵۰	۳۱ — ۲۲ ☆ ۵۶	۲۰ — ۱۷	۵۷ — ۲۲	۷۲ — ۵۴	—	—	۲۱	«
Gelb 27175 N	زرد تخم‌مرغی	۴۵ — ۳۸	۷۱ — ۶۲	۱۰ — ۵	۸۳	۱۲	—	با بخار HCl برنگ قهوه‌ای درمیآید	۲۱	«
Orange GGN	نارنجی	۶۰	۴۱ — ۳۲	۱۹	۷۱	۳۸	—	—	۲۲	«
Azorubin	قرمز مایل به‌بنفش	۲۳	۱۸	۲۸	۴۵	۴۴	—	فلوئورسانس قرمز	۲۰	«
Echtrot E	قرمزآلبالوئی	۶۱	۲۵ — ۶۱	۲۴	۴۷	۴۴	—	لکه فرعی فلوئورسانس آبی دارد	۲۰	«
Gelborange S	نارنجی	۵۹	۴۰ — ۳۲	۱۷	۷۵	۳۲	—	فلوئورسانس ضعیف قرمز	۲۲	«
Naphtholrot S	قرمزمایل به‌بنفش	۳۱	۳۰	۷	۶۰	۱۱	—	—	۲۰	«
Cochenillerot A	قرمز	۴۴	۴۲	۱۰	۸۲	۲۱	—	—	۲۰	«
Ponceau 6 R	پشت گلی سیر	۱۹	۵۶	۲	۸۷	۴۵	—	—	۲۰	«
Scharlach GN	قرمزمایل به‌نارنجی	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 بخار HCl برنگ سبز مایل بزرد درمیآید	۲۲	«
Brillant Schwarz BN	آبی‌مایل بخاکستری	۲۲	۱۷	۵	۱۹	۰	—	—	۲۲	«
Schwarz 5410	خاکستری سیر	۰	۰	۰	۰	۰	۹۶	—	۲۲	«
Erythrosin Extra	پشت گلی‌متمایل بآبی	۷۴	۱۷ — ۱۰ ۲۲	۴۶	۰	۹۳	—	فلوئورسانس قرمز روشن با بخار HCl برنگ نارنجی روشن درمیآید.	۲۲	«

تمام آزمایش‌ها در حرارت‌های ۲۰-۲۱-۲۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت و برای مواد سیال A و C و E مدت کروماتوگرافی در حدود ۸-۹ ساعت بود و برای ماده سیال F تقریباً ۱۴ ساعت لازم بود درحالی که برای کارکردن 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 بارهٔ اثر ناشی از مجاورت هرکروماتوگرام بابخار آمونیاك یا بخاراسید کلرئیدریک مطالعاتی بعمل آمد و در نتیجه آزمایش‌های معموله معلوم شد که تنها درکروماتوگرام رنگ (Echtrot E) لکه فرعی خاصیت فلوئورسانس پیدا میکند و در بقیه کروماتوگرام‌ها همانطوریکه در مورد هریك در جدول مربوطه توضیح داده شد هیچیك از لکه‌های فرعی دارای چنین خاصیتی نبودند درحالیکه برخی از لکه‌های اصلی خاصیت فلوئورسانس از خود نشان میدادند.

نکتهٔ مهم دیگر اینست که سیالهای نامبرده بطور یکسان ما را در تشخیص و تعیین هویت یك رنگ معین کمك و راهنمائی نمیکنند بدین معنی که بعضی از محلولهای توسعه دهنده درکروماتوگرام رنگ معین فقط یك لکه ایجاد میکنند درحالی که همین رنگ با سیالهای دیگر علاوه از لکهٔ 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 وهلهٔ اول انتخاب کرد.

***

ذیلاً بشرح آزمایش‌هائی که روی پاره‌ای از مواد خوراکی رنگ شده انجام گرفته میپردازیم:

مواد رنگی را درصنایع غذائی برای پوشاندن رنگ برخی از محصولات غذائی و خوشایند کردن آنها بکار میبرند. بااینکه رنگهای خوراکی متعدد و متنوعند و نحوهٔ استعمال آنها برحسب محصولات مختلف فرق میکند معذالك اصول عملیات و روش آزمایش درتشخیص و تعیین هویت و کنترل آنها تقریباً یکسان است که در اینجا ذکر میشود:

طرز استخراج مادهٔ رنگی بوسیلهٔ الیاف

استخراج رنگ از موادغذائی بکمك 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 برمیداریم و در دستگاه سوکسله قرار میدهیم و در روی آن اتردوپترول باندازه کافی میریزیم پس از این که محفظه ۲۰ دفعه از حلال پروخالی شد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

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 آمونیاك ۵٪ ضمن اینکه بدفعات با آژیتاتور بهم میزنیم روی بن‌ماری که درجه‌حرارت 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 بوی‌آمونیاك کاملاً از بین برود سپس‌آنرا در مجاورت هوا قرار میدهیم تا خشک شود. روی این پشم که بدینطریق عاری از چربی گردید آزمایش مقدماتی زیر را انجام میدهیم‌این‌آزمایش برای پی‌بردن باینکه‌آیارنگ ماده غذائی درمحیط اسیدی یا قلیائی بوسیلهٔ پشم قابل استخراج است لازم بود.

آزمایش- درسه‌لوله امتحان مقداری از محلول آبکی ماده خوراکی رنگ شده (که در اینجا از حل کردن مقداری آب‌نبات رنگین درآب بدست آمده بود) را میریزیم ومحتوی لوله‌ها را یکی اسیدی و دیگری را قلیائی میکنیم بدینطریق که برای اسیدی کردن محیط آنقدر اسید تارتریك و برای قلیائی کردن آنقدر آمونیاك بهریك میافزائیم تا در برابر کاغذ اندیکاتور راکسیون اسیدی یا قلیائی از خود نشان دهند سپس بهریك از سه لوله مقداری پشم عاری از چربی وارد میکنیم و مدت ۱۰ دقیقه دربن ماری جوشان میگذاریم در این موقع رنگ در یکی از محیط‌های اسیدی یا قلیائی یا خنثی بوسیلهٔ پشم جذب میشود که در اینجا درمحیط اسیدی این عمل صورت گرفت. پس‌از اتمام‌آزمایش مقدماتی فوق و تشخیص اینکه در کدام محیط رنگ از ماده خوراکی روی پشم میآید عمل گرفتن رنگ را بوسیلهٔ پشم با مقدار بیشتری از محلول رنگین‌انجام میدهیم سپس‌پشم را بصورتی که در قسمتهای مربوطه بتفصیل شرح داده میشود شسته وآنرا درآب (بعضی مواقع الکل یا مخلوطی از ایندو) وارد میکنیم چون پشم درمحیط اسیدی رنگ را از ماده‌خوراکی گرفته بود تا قلیائی کردن محیط بدان آمونیاك اضافه میکنیم.

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

بحث - بطوریکه میدانیم اغلب مواد ارگانیک طبیعی و از جمله مواد سفیده‌ای محصولات ملکول بزرگی هستند و ملکولهای کوچك سنگ بنای آنها برخلاف سلولز یکسان نیستند سنگ بنای سازنده ماده سفیده‌ای آمینواسیدها هستند نوع و عده این آمینواسیدها در هریك ازمواد سفیده‌ای متفاوت میتوانند باشندآمینواسیدهای مزبور میتوانند آلفا یا بتا وبالاخره گاما آمینواسیدی وبالاخره مونوآمینودی کربوکسیلیك یا دی‌آمینومونوکربوکسیلیك باشند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

پلی‌پپتیدها که از کندنساسیون (Kondensation) گروپمان آمین یک ملکول آمینواسید با گروپمان کربوکسیل آمینواسید دیگری ضمن جدا شدن آب و متراکم شدن و تجدید آن که منجربه تشکیل یک زنجیر میشود بوجودآمده‌اند زنجیراصلی مواد سفیده‌ای را تشکیل میدهند.

$$NH_2 . CH_2 . COOH + H\,NH . CH_2 . COOH \longrightarrow H_2N . CH_2 . CO . NH . CH_2 . COOH$$

Dipeptid

$$\ldots CO . NH . R_1 . CO . NH . R_2 . CO . NH . R_3 . CO . NH . R_1 . CO . NH . R_2 . CO . NH . R_3 . CONH \ldots .$$

Polypeptid

پل های ملحی چه در اتصال بین زنجیرهای پلی‌پپتید و چه میسل ها نقش مهمی را بعهده دارند. پل های ملحی از گروپمانهای کربوکسیل وآمین آزاد بویژه درمحیط ایزوالکتریک بوجود میآیند. در نقطه ایزوالکتریک که برای هریک از آمینواسیدها ثابت اختصاصی است آمینواسیدها بصورت ملح داخلی در میآیند و استروکتور بتائین (Betaine) را خواهد داشت (Zwitterionen) درمحیط اسید آمینواسید بصورت کاتیون و درمحیط قلیائی بصورت آنیون درمیآیند.

در محیط قلیائی	در محیط اسیدی	در محیط ایزوالکتریک
$CH_2—NH_2$ COO^-	$CH_2—\overset{+}{N}H_3$ $COOH$	$CH_2 . \overset{+}{N}H_3$ COO^-

درمواد سفیده‌ای اتصالات وسطائی بصورت زیراست:

$$CO\!<\!\!\!>\!NH \quad CH—CH_2—CH—COO^- \quad H_3\overset{+}{N}—CH_2—CH_2—$$

Glutaminsaure rest

$$CH_2—CH_2—CH\!<\!\!\!>\!CO\ NH$$

Lysin rest

میدانیم که اکثر رنگهای مواد خوراکی از سه دسته مونو ازو هستند همانطورکه توضیح داده شد هرقطعه‌ای که از ملکول اصلی رنگ خوراکی در اثر هیدرولیز قابل جدا شدن باشد بایستی دارای یک گروپمان سولفونیک باشد ازطرف دیگر وقتی بخواهیم رنگ ماده غذائی را بوسیلهٔ پشم بگیریم محیط را درصورتی که اسیدی کنیم کربوکسیل اتصال ملحی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

بصورت اسیدآزادجدا شده وگروپمان SO_3^- - منفی رنگ با گروپمان NH_3^+ — مثبت‌ناشی از آمین های آزاد اسیدهای دی‌آمینومونوکربوکسیلیک موجود درکراتین سلح جدیدی را بوجود میآورند. باین دلیل است که رنگ ماده خوراکی بوسیلهٔ الیاف پشم جذب میشود.

نام محصولات مورد آزمایش				رنگ
آب نبات محصول کارخانهٔ دادش زاده				سبز
«	«	«		قرمز
«	«	«	شوکوبارس	بنفش
«	«	«		قهوه‌ای
«	«	«	بی‌ئی	زرشکی
آداسس محصول کارخانهٔ جیکا				نارنجی
«	«	«		زرد

ابتدا ۲۰ گرم از مورد آزمایش را در ۱۰۰ میلی لیتر آب حل میکنیم. محلول حاصل را صاف کرده تا از ناخالصی‌ها جدا شود وچون بوسیلهٔ آزمایش مقدماتی دانسته شد که رنگ مواد خوراکی مورد بحث در محیط اسیدی جذب پشم میشود بدین جهت محیط را با اسید تارتریک‌اسیدی میکنیم وبعدباندازهٔ ۱۰ سانتی گرم پشم عاری از چربی‌باین‌محلول واردمیسازیم 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 تااینکه محلول باقیمانده کاملاً بیرنگ شود وبعبارت دیگر تمام رنگ بوسیلهٔ پشم گرفته شود. سپس قیطانهای پشم را بیرون میآوریم و در بشری که درآن آب مقطرگرم اسیدی شده (با اسید تارتریک) ریخته‌ایم وارد میکنیم و مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری قرارمیدهیم و این عمل را سه بار تکرار میکنیم و بعد با آب مقطر و سپس با آبیکه درجهٔ حرارت آن بین ۳۸-۴۰ درجهٔ سانتیگراد است شستشو میدهیم سپس با آب مقطر میشوئیم. پشم شسته شده را در بشری که محتوی ۲۰ میلی لیتر محلول آمونیاك ۱٪ است وارد کرده و روی بن‌ماری قرار میدهیم (از قلیائی شدن محیط بایستی بوسیلهٔ کاغذ تورنسل اطمینان یافت) و روی‌آن شیشه ساعتی میگذاریم و بدفعات تکان میدهیم تارنگ 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 بن‌ماری تغلیظ میکنیم بطوری که‌حجم محلول به ۵/. سانتیمتر مکعب برسد. این‌محلول اکنون آمادهٔ کروماتوگرافی است که با آن عمل میکنیم.

جدول‌های شمارهٔ ۲ و ۳ مختصات کروماتوگرام‌های رنگهائی که در خوراکی‌های

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

مورد آزمایش بکار رفته اندباذکر هویت و RF و شرح بعضی از خواص آنهااز جمله واکنش آنها را در برابر سیال های گوناگون نشان میدهد.

با ملاحظهٔ جدولهای شمارهٔ 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 میاید درصورتی که همین رنگ در حلال دیگر سه لکه بوجود میاورد بنابراین روشن میشود که برای تفکیک وتشخیص وبالاخره تعیین هویت رنگ موردآزمایش بیک حلال نبایستی اکتفا کرد.

ثانیاً - غالباً لکه های فرعی که خود مشخص ومیز ارزنده‌ای در تعیین هویت رنگ میباشند درکروماتوگرام ها (درشرایط معمول) ظاهر نمیشوند درحالیکه لکه های فرعی مزبور درکروماتوگرافی رنگ های استاندارد که بعنوان شاهد بکار برده میشدند بخوبی ظاهرمیگردید علت ظاهر نشدن این لکه های فرعی بنظر ما اینستکه درشرایطی که ما رنگ را از مادهٔ غذائی استخراج میکنیم این رنگ ها که ماده ناخالصی رنگ تلقی میشوند و همراه رنگ اصلی اند چون مقدارشان جزئی است از بین میروند وخیلی بندرت اتفاق میافتد که لکهٔ فرعی رنگی هرگاه در شرایط معمول از ماده غذائی استخراج شود درکروماتوگرام ظاهر گردد با اینوصف ما در آزمایش هائی که روی آب نبات بنفش (ساخت کارخانهٔ شوکوبارس) انجام میدادیم متوجه شدیم که یکی از رنگهای متشکله این آب نبات یعنی (Blau Nr. 2) در حلال C همراه با لکه فرعی است.

b - درکروماتوگرافی رنگ قرمزمستخرجه ازآب نبات (محصول کارخانه داداش زاده) با حلال اختصاصی (Rot Nr. 4) که از مواد زیر تهیه میشود (پیریدین ۲۰ میلی لیتر، استات اتیل ۳۰ 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 رنگ های زرد وقرمزاست لکن همانطوریکه از جدول شمارهٔ ۲ و ۳ مستفاد میشود این رنگ در برابر حلالهای A و B تنها یک لکهٔ قرمز روی کروماتوگرام از خود نشان داد و لکهٔ زرد روی کروماتوگرام ظاهر نگردید. این رنگ زرد که بصورت لکهٔ کوچکی تقریباً چسبیده به لکهٔ قرمز است و تنها در حلال (Rot Nr. 4) ظاهرمیشود زرد خوراکی (Gelb Nr. 2) نمیتوانست باشدزیرا اولاً RF آن تفاوت داشت ثانیاً زرد ظاهر شده در قبال آمونیاك برنگ قرمز درمیآمد (درحالیکه زرد خوراکی شمارهٔ ۲ تغییری نمیکند) بدینجهت باچهار رنگ زرد دیگر(Gelb Nr. 1 و Gelb Nr . 3 و Gelb Nr. 4

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

جدول شماره ۲

ویت رنگهای مورد آزمایش	وضعیت و مختصات رنگ	لکه‌های بدست‌آمده با RF آنها (حلال A)				نام مواد خوراکی که آنها استخراج شده
		نارنجی	قرمز	زرد	آبی	
Tartrazin XX	لکه زرد فلوئورسانس زرد دارد			RF × ۱۰۰ = ۳۰	۱۰۰ × RF = ۷۹	آب نبات سبز رنگ دادا
Patentblau V						
Cochenille Rot A	—		RF × ۱۰۰ = ٤٤			آب نبات قرمز رنگ دادا
Tartrazin XX	لکه زرد فلوئورسانس زرد دارد	RF × ۱۰۰ = ٦۰		RF × ۱۰۰ = ۳۰		آدامس نارنجی رنگ
Orange GGN						
Tartrazin XX	لکه زرد فلوئورسانس زرد دارد	RF × ۱۰۰ = ٦۰	RF × ۱۰۰ = ٤٤	RF × ۱۰۰ = ۳۰		آدامس زرد رنگ جی
Cochenille Rot A						
Orange GGN						
Azorubin	لکه قرمز فلوئورسانس قرمز دارد		RF × ۱۰۰ = ۲۳			آب نبات زرشکی رنگ
Tartrazin XX	لکه زرد فلوئورسانس زرد دارد	RF × ۱۰۰ = ٥۹	RF × ۱۰۰ = ٦۱	RF × ۱۰۰ = ۳۰	RF × ۱۰۰ = ۲۲	آبنبات قهوه‌ای رنگ شو
Gelborange S	لکه نارنجی فلورسانس					
Echtrot E	ضعیف قرمز دارد.					
Schwarz Nr. I						
Indigocarmin	—		RF × ۱۰۰ = ۳۱		RF × ۱۰۰ = ٥۳	آبنبات بنفش رنگ شوک
Naphtholcrot S						

جدول شمارهٔ ۳

نام رنگهای مورد آزمایش	وضعیت و مختصات رنگ	لکه های بدست آمده با RF آنها (حلال B)				نام مواد خوراکی که رنگ استخراج شده
			قرمز	زرد	آبی	
Tartrazin XX Patentblau V	لکه زرد فلوئورسانس زرد دارد لکه آبی با بخار HCl برنگ سبز مایل بزرد درمیآید			RF × ۱۰۰ = ۵٤	RF × ۱۰۰ = ۷٦	آب نبات سبز رنگ داداش
Cochenille Rot	—		RF × ۱۰۰ = ٤۲			آب نبات قرمز رنگ داداش
Tartrazin XX Cochenille Rot Orange GGN	لکه زرد فلوئورسانس زرد دارد	RF × ۱۰۰ = ٤۱	RF × ۱۰۰ = ٤۲	RF × ۱۰۰ = ۵٤		آدامس نارنجی رنگ جی
Tartrazin XX Cochenille Rot Orange GGN	لکه زرد فلوئورسانس زرد دارد	RF × ۱۰۰ = ٤۱	RF × ۱۰۰ = ٤۲	RF × ۱۰۰ = ۵٤		آدامس زرد رنگ جیک
Azorubin	لکه قرمز فلوئورسانس قرمز دارد		RF × ۱۰۰ = ۱۸			آب نبات زرشکی رنگ بی
Tartrazin XX Gelborange S Echtrot E Scwarz Nr. I	اکه زرد فلوئورسانس زرد دارد لکه نارنجی فلوئورسانس ضعیف قرمز دارد	RF × ۱۰۰ = ٤۱	RF × ۱۰۰ = ۲۵	RF × ۱۰۰ = ۵٤	RF × ۱۰۰ = ۱۷	آبنبات قهوه‌ای رنگ شوکو
Indigocarmin Naphthole Rot	—		RF × ۱۰۰ = ۳۰		RF × ۱۰۰ = ۱۳	آبنبات بنفش رنگ شوکو

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

و Gelb Nr. 5) 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 تهیهٔ آن نیز میسر نگردید عمل تشخیص در این مرحله متوقف گردید

c - رنگ نارنجی آداسس (ساخت کارخانهٔ جیکا) از سه رنگ زرد ، قرمز ، نارنجی تشکیل شده بطوریکه از جدول شمارهٔ ۲ مستفاد میشود حلال A لکهٔ 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 هریک 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 بطریق زیر عمل شد.

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

۱ - در روی کاغذ کروماتوگرافی قریب ۳۰ لکه رنگ هر لکه بفاصلهٔ ۳/. 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 بدست‌آمده را صاف و تغلیظ میکنیم در اینصورت میتوانیم رنگ نارنجی را بتنهائی از آب نبات استخراج کنیم بعد با شاهدهای (Orange GGN و Gelb orange S) و حلال B کروماتوگرافی میکنیم.

ولی نظر به یکسان بودن RF دو شاهد اخیرالذکر 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 امید این میرفت که رنگ نارنجی مستخرجه با ایجاد لکه فرعی هویت خود را ظاهر سازد لکن این لکه ظاهر نگردید.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]

ظاهرنشدن این لکه فرعی دلیل اینکه رنگ مورد آزمایش (Gelb orange S) نمیتواند باشد نبود بوجود نیامدن لکه فرعی را میتوان به‌یکسان 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 به‌پرتو نگاری فرو سرخ (اسپکترسکوپی انفراد) متوسل میشویم.

Bibliographie

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 موادخوراکی دانشکدهٔ داروسازی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-12]