

ANTIOXIDÁNS (BHT) KIMUTATÁSA ÉS MEGHATÁROZÁSA SERTÉSZSÍRBAN

Dr. SÁROSI HERBERT*—Dr. ACZÉL ATTILA** —KORMOS JUDIT***

Bevezetés

A zsiradékok avasodásának vizsgálatával a kutatók már régóta foglalkoznak. Az utolsó évtizedben elért eredmények jelentősége azért nagy, mert az oxidáció mechanizmusának megismerése lehetővé tette olyan anyagok alkalmazását, melyek kisebb-nagyobb mértékben gátolják az avasodást. Ma már a könnyen oxidálódó élelmiszerek védelmére, így a zsírok avasodásának gátlására is antioxidánsokat használnak. A kutatók főleg abban az irányban foglalkoztak a témával, hogy a zsiradékok és a zsírok étkezési célra történő felhasználhatósági idejét növeljék, mert az avas szalonna és zsiradék csak ipari célra használható fel.

Jelenleg Magyarországon a sertészsír avasodásának gátlására a BHT (Butil-hidroxitoluol) az engedélyezett antioxidáns, maximálisan 100 mg/kg mennyiségben.

Az egyfunkciós antioxidánsok, így a BHT adagolásának előnye abban áll, hogy a zsírban jelenlevő szabad gyököket lekötí és ezáltal a láncreakció lefolyását megakadályozza.

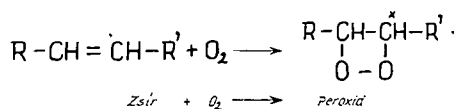
1. Zsírok, zsiradékok oxidációja

Az állati zsírok romlását alapvetően a vízre és a levegő oxigénjére lehet visszavezetni, s mint katalizátorokkal, a fényre és a prooxidánsokkal kell számolni. A prooxidánsok oxidációra való hajlamot növelő anyagok, ide sorolhatók a karotinoidok, a klorofil, valamint a zsírokban előforduló nehézfémek.

A zsírok kémiai minőségének állandósításához két oxidációt gátló vegyület, típus szükséges: antioxidáns és szinergens.

Antioxidáns jelenlétében az oxidáció három szakaszban játszódik le:

a) Inkubációs szakasz (peroxidok képződése)



1. ábra. zsír + O₂ → peroxid

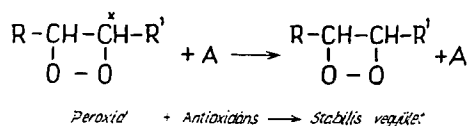
* Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék

** Megyei Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet, Szeged.

*** Szolnok megyei Állatforgalmi és Húsipari Vállalat, Szolnok.

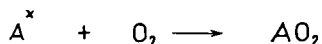
Antioxidánsok jelenléte nélkül a peroxidok tovább bomlanak, aldehidek stb. keletkeznek, amelyek a jellegzetes avas szagot és ízt adják.

b) Láncreakciós szakasz (szabadgyökös forma)



2. ábra. peroxid + antioxidáns → stabilis vegyület

c) Szabadgyökök megszűnése



3. ábra

A peroxidképződés végbemegy, de dezaktiválódik a molekula így a folyamat leáll. Jó antioxidánsokkal az oxidáció periódusa lényegesen meghosszabbodik és mindaddig tart, míg az antioxidáns maga is eloxidálódik. Az antioxidánsok zsírstabilizációjának intenzitása több tényezőtől — a zsírosszétételtől, fémnyomoktól, homogenitástól stb. — függ.

2. Antioxidánsok csoportosítása

a) Hatásmechanizmus alapján megkülönböztetünk:

- egyfunkciós antioxidánsokat,
- szinergenseket,
- többfunkciós antioxidánsokat.

Az egyfunkciós antioxidánsok feladata a szabad gyökök — elsősorban a peroxid gyökök — lekötése, s ezáltal a láncreakció lefutásának megakadályozása.

Az emberi táplálkozás céljára engedélyezett elsődleges antioxidánsok közül a legfontosabbak a 2, 4, 5-trihidroxibutirofenon (THBP), a butilhidroxianisol (BHA) és a butilhidroxitoluol (BHT).

A szinergensek önmagukban nem antioxidánsok. Egyedül alkalmazva vagy teljesen inaktívak, vagy csak igen gyengén aktívak, de az elsődleges antioxidánsokkal együtt alkalmazva azok hatását fokozzák.

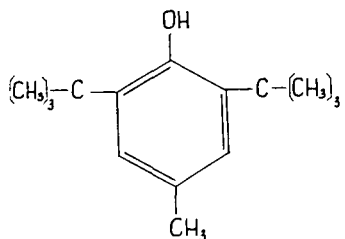
Egyes szinergikus anyagok az oxidációs folyamatra ható fémsókkal komplexet képeznek, s így közömbösítik azokat. A szinergens csoportba tartozó szerves vegyületek közül az élelmiszeriparban a leggyakrabban használtak: etiléndiamin-tetraecetsav (EDTA), dietil-ditiokarbamát (DDK), citrom- és L-aszkorbinsav, gallusz-sav, egyes polifoszfátok, aminosavak és foszfolipidek [1].

A többfunkciós antioxidánsok elvégzik az egyfunkciós antioxidánsok feladatát, valamint a fémionokkal komplexet képeznek, s így gátolják az oxidációs hatást. Ilyen vegyületek a flavonoidok (pl. rutin, quercetin) [2].

b) Az antioxidánsok felépítésüket tekintve lehetnek

- a) természetes és
- b) szintetikus antioxidánsok.

A BHT (butil-hidroxi-toluol, — szintetikus antioxidáns — a genfi nomenklatúra alapján 2,6-di-terc.-butil-4-metil-fenol vagy 3,6-diterc.-butil-p-krezol) színtelen, szagtalan, íztelen, 69,2 °C-on olvadó kristályos anyag összegképlete: $C_{15}H_{24}O$.



4. ábra.

Vízben és alkáliák vizes oldatában oldhatatlan, de zsírban és zsíroldószerekben már szobahőmérsékleten oldódik. Önmagában, esetleg más típusú antioxidánsal vagy szinergenssel az oxidáció sebességét nagymértékben csökkenti.

3. Antioxidánsok kimutatása és mennyiségének meghatározása

A természetes zsiradékokból — a biztonság érdekében — szükséges az antioxidáns kimutatása, valamint mennyiségének meghatározása. A mennyiségi meghatározásra csak oly eljárások alkalmasak, amelyekkel a kis mennyiségű antioxidánsok kielégítő pontossággal meghatározhatók. Számos kutató dolgozott ki módszert az antioxidánsok kimutatására és mennyiségének meghatározására. A legismertebb módszerek pl. a papír- és vékonyréteg-kromatográfia, cerimetrikus titrálás, kolorimetriás meghatározás, polarográfia. A legjobb eredményeket ultraibolya spektrofotometriás vizsgálatok végzésekor nyerték. Mivel a leggyakrabban használt antioxidánsok aromás vegyületek, így például az U. V. sugarak elnyelése alapján kimutathatók.

4. Antioxidánsok engedélyezettsége

Azoknak az antioxidánsoknak, amelyeket az élelmiszerek előállításánál használnak, meg kell felelniök az előírt követelményeknek. Néhány antioxidáns, különösen a BHA toxikus hatása a tisztasági foktól jelentősen függ. Ezért az egészségügyi Élelmezési Mezőgazdasági Világszövetség szervezete (FAO(W)HO) kidolgozott egy tisztasági követelményt. Meghatározták az élelmiszerek megengedhető maximális antioxidáns és szinergens tartalmát, valamint a kívánt kimutatási módszereket.

5. Kísérleti rész

A zsiradékban levő BHT kvalitatív kimutatására az irodalom két módszert ír le. Mindkét módszert alkalmaztuk a BHT kimutatására [3, 4].

5.1. BHT kimutatása sertészsírban

a) Wurziger—Chandra-módszer:

100 ppm antioxidáns tartalmú homogenizált zsírmintából 1—5 g-ot kimértünk,

és 50—60 °C-os vízfürdőn 5 ml 96%-os etilalkohollal elkevertük. Szobahőmérsékleten néhány perc állás után az emulzió két fázisra vált.

Az alkoholos fázishoz 0,3 ml 0,05%-os etanolos diklór-kinon-klórimidet és 10 csepp (kb. 0,25 ml) 0,5 n alkoholos káliumhidroxid oldatot pipettáztunk, majd a hozzáadást követő 90—120 másodpercben keletkezett színeződést antioxidánst nem tartalmazó zsírból a fenti módon készített oldat színével hasonlítottuk össze.

Megállapítások

1. Legalább 300 γ butilhidroxitoluol jelenlétében (3 g 100 ppm-es antioxidánst tartalmazó zsírbemérés esetében) a fenti módszerrel biztonságosan kimutatható az antioxidáns. Alacsonyabb értéknél a keletkező szín gyenge és megtévesztő.

2. Butilhidroxitoluol jelenlétében az alkoholos fázis színe zöld, vagy kékes-zöld. Antioxidáns hiányában a fenti reakció barna elszíneződéshez vezet.

3. A keletkezett zöld, illetve kékes-zöld színanyag instabilis csak néhány percig állandó, ezért az értékelést az alkoholos káliumhidroxid hozzáadásától számított 5 percen belül el kell végezni.

b) Roos módszer:

100 ppm antioxidáns tartalmú homogenizált zsírmintából 0,1—0,5 g-ot kimértünk és 5 csepp dietilén-glikol-dimetiléterben oldott 20%-os foszformolibdinsavat adtunk hozzá. Szobahőmérsékleten egy perc állás után 7 csepp 25%-os ammónia-oldattal kezeltük, majd a hozzáadást követő 30—60 másodpercben keletkezett színt antioxidánst nem tartalmazó zsírból a fenti módon készített oldat színével összehasonlítottuk.

Megállapítások

1. Legalább 25 γ butilhidroxitoluol jelenlétében (0,25 g 100 ppm-s zsírbemérés esetében) a fenti módszerrel biztonságosan kimutatható az antioxidáns.

2. Butilhidroxitoluol jelenlétében kék vagy kékes-zöld színreakciót kapunk, antioxidáns hiányában elszíneződés nem észlelhető.

3. A keletkezett kék, illetve kékes-zöld színanyag instabilis, csak mintegy 15 percig állandó, ezért az értékelést az ammónia-oldat hozzáadásától számított 10 percen belül el kell végezni.

Összehasonlítva a BHT sertészsírból történő kimutatására használt két módszert, az a következtetés vonható le, hogy Roos módszere egy nagyságrenddel érzékenyebb, mint a Wurziger—Chandra által leírt kimutatási eljárás. Ezenkívül az előbbi előnyét bizonyítja a módszer egyszerűsége és könnyű kivitelezhetősége is.

6. Antioxidáns és zsír oldékonyságának vizsgálata különböző szerves oldószerekben

A BHT kimutatása mellett célunk volt egy könnyen kivitelezhető, gyors és viszonylag pontos meghatározási módszer kidolgozása is. Mivel ezen a területen az irodalmi adatok száma kevés és ellentmondó, a kérdés megközelítésére alapkísérleteket végeztünk az alábbi hármás célkitűzés eldöntésére.

a) Az oldószerként felhasználásra kerülő szerves vegyületben oldódik-e a BHT.

b) Ugyanezen vegyületben oldódik-e a sertészsír, amelyből az antioxidáns meghatározását akarjuk végrehajtani.

c) A felhasznált oldószerekben a BHT milyen abszorpciós maximummal rendelkezik.

A fentiek kivitelezésénél az általunk megvizsgált 19 oldószer közül a hármas célkitűzést mindössze három szerves vegyület a kloroform, a ciklohexán és a széntetraklorid elégítette ki. A jobb áttekinthetőség miatt a megfigyelések eredményeti valamint a BHT különböző szerves oldószerekben mért abszorpciós maximumát táblázatban foglaltuk össze (1. táblázat).

1. TÁBLÁZAT

BHT és zsír oldékonysága és a BHT abszorpciós maximuma különböző szerves oldószerekben

Oldószer	Zsír oldékonysága	BHT oldékonysága	BHT-nek oldószerben mutatott spektruma	BHT abszorpciós maximuma (nm)	
aceton	nem megfelelő	jól oldható	abszorpciós max. van	—	
acetonitril	nem oldódik	jól oldódik	éles absz. max. van	276	
n-butanol	nem oldódik	nehezen oldódik	éles absz. max. van	278	
i-butanol	nem oldódik	nehezen oldódik	éles absz. max. van	277	
ciklohexán	jól oldódik	oldódik	éles absz. max. van	276	284
dimetil-szulfoxid	nem megfelelő	jól oldódik	éles absz. max. van	278	
etilacetát	nem megfelelő	jól oldódik	éles absz. max. van	278	
etilenglikol	nem oldódik	nem oldódik	—	—	
etanol	nem oldódik	oldódik	éles absz. max. van	278	
jégecet	nem oldódik	jól oldódik	éles absz. max. van	276	283
kloroform	jól oldódik	jól oldódik	éles absz. max. van	278	284
metanol	nem oldódik	jól oldódik	éles absz. max. van	278	
nitrobenzol	nem megfelelő	jól oldódik	absz. max. nincs	—	
piridin	jól oldódik	jól oldódik	értékelhető absz. max. nincs	—	
n-propanol	nem oldódik	nehezen oldódik	értékelhető absz. max. nincs	—	
széndiszulfid	jól oldódik	jól oldódik	értékelhető absz. max. nincs	—	
triklóretilén	jól oldódik	jól oldódik	értékelhető absz. max. nincs	—	
tetrahydrofuran	jól oldódik	jól oldódik	értékelhető absz. max. nincs	—	
széntetraklorid	jól oldódik	jól oldódik	éles absz. max. van	281	284

Vizsgálatainkat az alábbiak szerint végeztük el:

a) Alapoldat készítése. 0,025 g BHT-t kimértünk, majd 25 ml-es mérőlombikba mostuk szerves oldószerral. Oldódás után 25 ml-re egészítettük ki. Az így nyert alapoldat 1 ml-ét 10 ml-es mérőlombikba vittük át és oldószerral jelig töltöttük, majd meghatároztuk az oldat spektrumát. A mérést Specord UV VIS spektrofotométeren végeztük.

b) Az alapoldat 1 ml-ét 0,5 g adszorbenst (Kieselgel 0,05—0,20 mm) tartalmazó oszlopra vittük, oldószerral az oszlopot átmostuk, majd 10 ml-re egészítettük ki az oldatot. Az így kapott oszlopon átengedett BHT tartalmú oldat spektrumát ugyancsak meghatároztuk.

Ezzel a módszerrel tanulmányoztuk a BHT oldékonyságát, oszlopon való viselkedését, valamint az illető oldószerben mutatott spektrumát.

A különböző szerves oldószerekkel végzett kísérleteink összegzéseként az a következtetés vonható le, hogy a ciklohexán, a kloroform és a széntetraklorid oldószerek jó zsír- és antioxidáns oldó tulajdonságúak, valamint jól értékelhető spektrumok alapján alkalmasak a kísérletek továbbfolytatására.

7. Kísérlet antioxidáns közvetlen kimutatására és meghatározására szerves oldószerekben és sertézsírban

A fentiek figyelembevételével kísérletet végeztünk a BHT-nak sertézsírból történő közvetlen meghatározására.

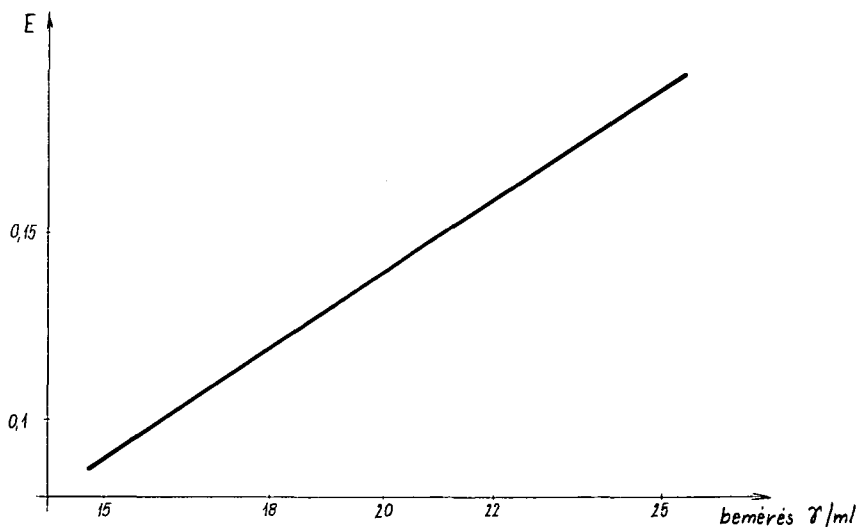
5 g 100 ppm BHT tartalmú sertézsírt megolvasztottunk és 0,001 g pontossággal 25 ml-es mérőlombikba mértük, majd ciklohexánban (kloroformban, széntetrakloridban) elkevertük. Az oldódás bekövetkezés után az oldatot 25 ml-re egészítettük ki.

Összehasonlító mintaként a fenti módon antioxidánst nem tartalmazó zsírból oldatot készítettünk.

A mérést Specord UV VIS spektrofotométeren 1 cm-es küvetában, 40 000—32 000 cm^{-1} méréstartományban 2,2 sec regisztrálási idővel végeztük. A kalibrációs görbéket 284 nm-en vettük fel 15, 18, 20, 22 és 25 $\mu\text{g/ml}$ BHT beméréssel. Az 5. ábra a BHT és zsír ciklohexános, a 6. ábra a kloroformos és a 7. ábra a széntetrakloridos oldatra vonatkozik. Az extinkció értékeket a 2. táblázatban foglaltuk össze.

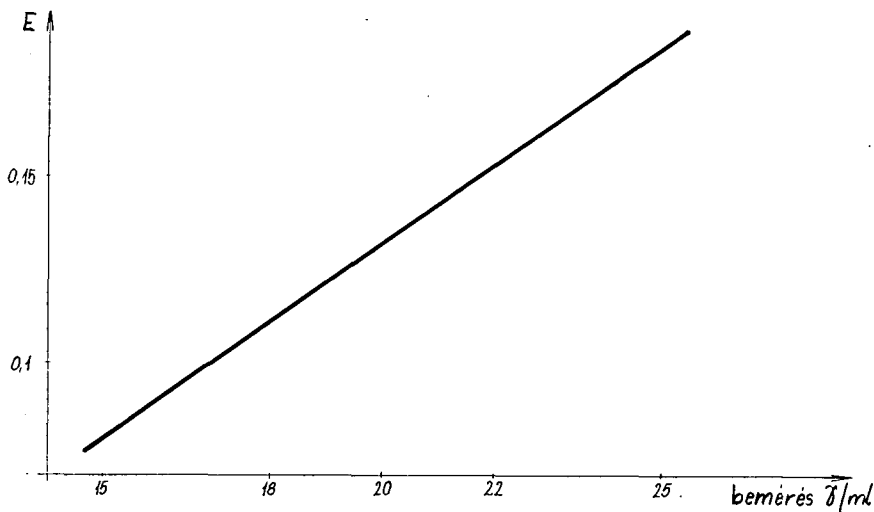
2. TÁBLÁZAT

Bemérés $\mu\text{g/ml}$	Extinkció 284 nm-nél		
	ciklohexános	kloroformos	széntetrakloridos
15	0,09	0,08	0,10
18	0,12	0,11	0,12
20	0,14	0,13	0,14
22	0,16	0,15	0,16
25	0,19	0,18	0,19

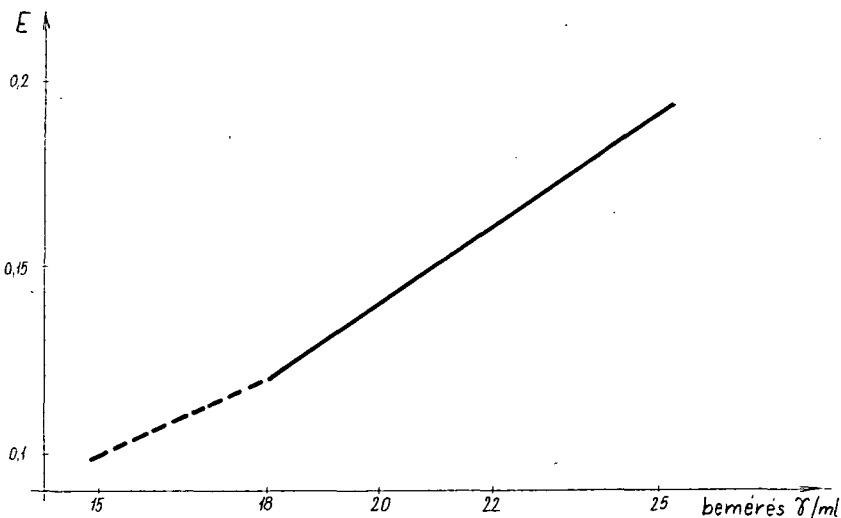


5. ábra

Az ábrákról leolvasható, hogy egy megadott hullámhossznál növekvő BHT bemérés esetében az extinkció értéke lineárisan változik. A BHT különböző koncentrációjú oldata valamint annak extinkciója között összefüggés felhasználható kalibrációs görbe, illetve ismeretlen koncentráció esetében mennyiségi meghatározásra. Az ismeretlen BHT tratalmú minta extinkcióját megadott oldószerben és hullámhosszon mérjük. A kalibrációs görbén a metszés pontnak megfelelő BHT érték a koordináta rendszer abszcisszáján leolvasható. Az így kapott eredményt — jelen esetben az érték γ/ml -ben van megadva — az eredeti térfogatra illetve súlyra vonatkoztatjuk.



6. ábra



7. ábra

8. Következtetések

A kísérletek alapján az a következtetés vonható le, hogy a kloroform és a széntetraklorid mint oldószer a BHT-nak zsírban történő közvetlen mennyiségi meghatározására nem alkalmas, mivel e két oldószerben a bemért BHT-nak csupán 25—40%-a kimutatható.

A végzett mérések alapján ciklohexános oldatban a bemért BHT-nak sertészsírból átlagosan 80%-t tudtuk kimutatni. Ezért kísérleteinket tovább folytatjuk.

IRODALOM

1. *Lásztity R.—Monori S.*: Válogatott fejezetek az élelmiszeriparból. IV. 5, 36. Bp-i Műszaki Egyetem.
2. *Baltes, J.*: Fette u. Seifen 56, 484 (1954-a), Fette u. Seifen 56, 984 (1954-b), Fette u. Seifen 57, 656 (1955).
3. *Wurziger, J., U. Chandra*: Fleischwirtschaft 11, 926 (1959).
4. *Roos, J. B.*: Niederschrift einer internationalen Sachverständigen — Besprechung in Kulmbach vom 30, 7. bis 1. 8. (1957).

DETECTION AND DETERMINATION OF ANTIOXIDANT (BHT) IN PIG FAT

H. Sárosi, A. Aczél and J. Kormos

An account is given of work carried out on the qualitative and quantitative determination of an antioxidant (BHT) permitted in Hungary, with the aim of the development of a rapid and reliable procedure for its determination.

NACHWEIS UND BESTIMMUNG EINES ANTIOXIDANTEN (BHT) IN SCHWEINEFETT

H. Sárosi, A. Aczél und J. Kormos

Die Verfasser berichten über ihre Bemühungen zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des in Ungarn genehmigten Antioxydanten (BHT), deren Ziel die Erarbeitung eines zuverlässigen Schnellverfahrens zur BHT-Bestimmung ist.

ВЫЯВЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКИСЛИТЕЛЯ В СВИНОМ ЖИРЕ

Д-р X. Шароши, Д-р А. Ацил, Ю. Кормош

В своей работе авторы знакомят с проводимой ими деятельностью, направленной на качественные и количественные определения разрешенного в нашей стране антиокислителя (BHT). Цель авторов — разработка быстрого и надёжного метода определения BHT.