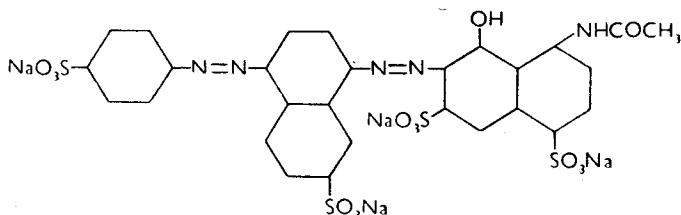


LECH PIEKARSKI

BADANIA NAD WCHŁANIANIEM CZERNI BRYLANTOWEJ BN Z PRZEWODU POKARMOWEGO SZCZURA

Z Zakładu Badania Środków Spożywczych A.M. w Warszawie

Barwniki syntetyczne wprowadzone do ustroju z artykułami żywności mogą wpływać niekorzystnie na organizm ludzki. Do tej pory nie jesteśmy pewni co do nieszkodliwości barwników dopuszczonych do barwienia artykułów żywności. Raczej jesteśmy skłonni przypuszczać, że nie ma mowy o ich zupełnej nieszkodliwości. Dlatego ciekawe jest, jaka ilość barwnika wprowadzonego do przewodu pokarmowego jest wydalana z kałem, a jaka ilość jest wchłaniana i ulega dalszym przemianom, kumuluje się, względnie jest wydalana w moczu. Najkorzystniejsze oczywiście byłoby, aby barwnik w jak najmniejszym stopniu ulegał wchłanianiu z przewodu pokarmowego i wydzielany był w kale. Celem mej pracy było zbadanie jakie ilości czerni brylantowej BN, barwnika dozwolonego do żywności, podane zwierzętom *per os* ulegają wydaleniu z kałem, jakie ulegają wchłonięciu z przewodu pokarmowego oraz jakie ilości wchłonięte ulegają wydzieleniu z moczem.



Czerń Brylantowa BN

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Zwierzęta doświadczalne

Badania przeprowadzono na szczurach białych podzielonych na dwie grupy: doświadczalną i kontrolną. Szczury karmiono dietą pełną hodowlaną. Zwierzęta trzymano pojedynczo w klatkach metabolicznych zbierając kał i mocz.

2. Sposób wprowadzania barwnika

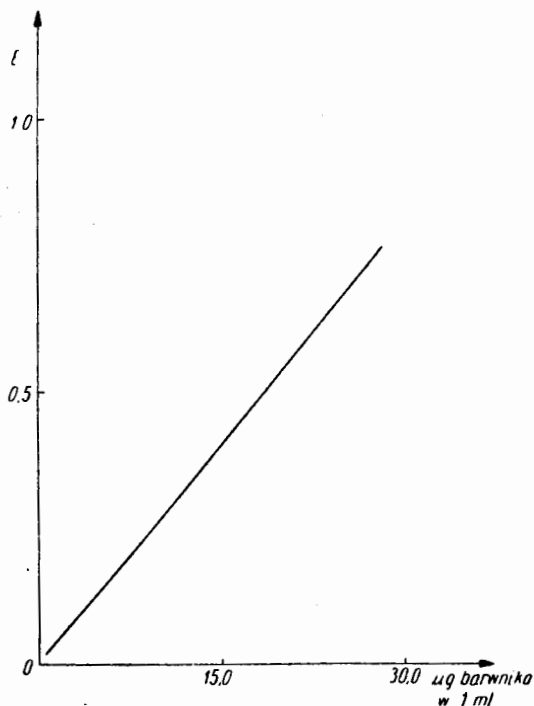
Czerń brylantową BN rozpuszczano w wodzie w ilości około 0,05 g w 1 ml i podawano szczurom *per os* sondą po 0,5 ml raz do dwóch razy dziennie.

3. Przebieg doświadczenia

Podawanie czerni brylantowej BN szczurom grupy doświadczalnej odbywało się w ciągu 12 dni. W tym czasie zbierano od każdego szczura oddzielnie kał i mocz (zarówno od doświadczalnych, jak i kontrolnych). Po zakończonym podawaniu barwnika mocz i kał zbierano jeszcze w ciągu pięciu dni. Kał zebrany w ciągu doświadczenia suszono w 60°. Badania jakościowe moczu i kału wykazały obecność barwnika w kale, nie stwierdzono natomiast obecności barwnika w moczu.

4. Oznaczanie ilościowe czerni brylantowej BN w kale

4.1. Wykreślenie krzywej wzorcowej. Przygotowano wyjściowy wzorcowy wodny roztwór czerni brylantowej BN zawierający w 1 ml 1,78 mg barwnika. Do szeregu kolb miarowych pojemności 200 ml odmierzone po 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 ml roztworu wzorcowego barwnika i uzupełniono wodą do kreski. Następnie oznaczano gęstość optyczną tak przygotowanych roztworów i wykreślano krzywą wzorcową przedstawioną na ryc. 1.



Ryc. 1.

4.2. Badanie wpływu stężenia NaCl na barwę roztworu czerni brylantowej BN. Do trzech szeregów złożonych każdy z 10 szt. kolb miarowych pojemn. 200 ml dodano roztworu czerni brylantowej BN, do jednego szeregu roztwór zawierający 1,78 mg barwnika, do drugiego szeregu 3,56 mg, a do trzeciego szeregu

roztwór zawierający 5,34 mg barwnika. Po czym dodawano chlorku sodowego w takiej ilości, aby po uzupełnieniu do kreski otrzymać roztwory o stężeniach NaCl od 0 do 9‰ (co 1‰). Otrzymane roztwory porównywano kolorymetrycznie, jak również wizualnie między sobą, stwierdzając, że od 0 do 5‰ zawartości NaCl w roztworze nie ma różnic w zabarwieniu, natomiast powyżej tego stężenia daje się zauważyć przybieranie przez roztwór odcienia różowego. Ponieważ w dalszych badaniach otrzymane eluaty zawierały do około 1‰ NaCl, można je było badać kolorymetrycznie, gdyż powyższa ilość NaCl nie wpływała na barwę roztworu.

4. 3. Badanie odzysku czerni brylantowej BN przepuszczonej przez kolumnę z celulozy. Do kolumn szklanych długości 10 cm średnicy 2 cm wlewano zawiesinę 3 g celulozy w wodzie i przemywano roztworem 20‰-owego NaCl, celem polepszenia absorpcji barwnika, po czym do poszczególnych tak przygotowanych kolumn wprowadzono roztwory z następującymi ilościami barwnika: 1,78 mg, 3,56 mg, 5,34 mg. Do roztworów barwnika przed wprowadzeniem do kolumny dodawano chlorku sodowego w takiej ilości, aby otrzymać 20‰-owy roztwór. Po wlaniu barwnika kolumny płukano 20‰-owym roztworem chlorku sodowego w ilości 100 ml, a zebrany przesącz odrzucano. Barwnik eluowano z kolumny wodą. Z zebranych eluatów odparowywano częściowo wodę do objętości poniżej 200 ml, po czym studzono, przenoszono do kolb miarowych pojemności 200 ml i uzupełniano wodą do kreski. W identyczny sposób przygotowywano roztwór otrzymany przez przepuszczenie przez kolumnę 20‰-owego roztworu NaCl, a następnie wody nie wprowadzając do kolumny barwnika. Roztwór ten służył jako roztwór odniesienia przy pomiarze gęstości optycznej roztworów barwnych. Z krzywej wzorcowej przedstawionej na ryc. 1 odczytywano ilości barwnika na podstawie oznaczonych wartości gęstości optycznej. Następnie obliczano ilości barwnika odzyskanego po przepuszczeniu przez kolumnę z celulozy w stosunku do ilości barwnika wziętych do badania (tabela I).

Tabela I

Ilość μg barwnika wziętych do badania	1780	3560	5340
Ilość odzyskanych μg barwnika	1510	3180	4880
Odzysk barwnika w procentach	84,2	89,3	91,3

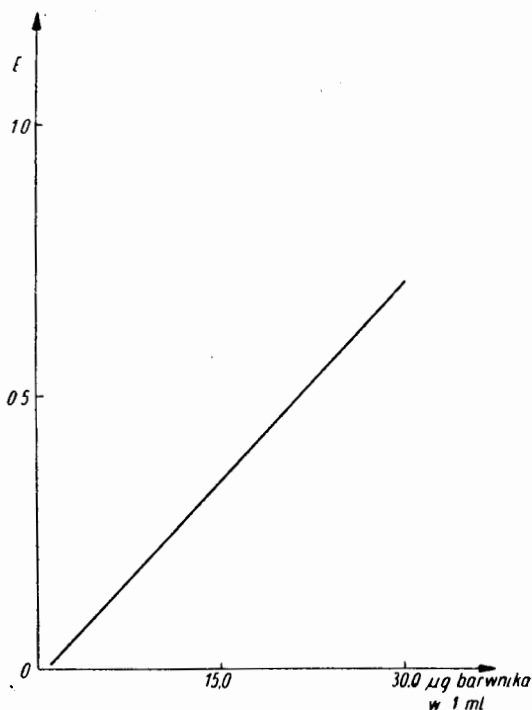
4. 4. Badanie odzysku czerni brylantowej BN izolowanej z kału. Do szeregu zlewek odważono po 10,0 g wysuszonego i zmielonego kału szcurzego zwierząt kontrolnych, a następnie dodano roztwory z następującymi ilościami czerni brylantowej BN: 1,78 mg, 3,56 mg, 5,34 mg i suszono w 60°. Jedną odważkę kału badano bez dodatku barwnika w identyczny sposób jak pozostałe odważki. Po wysuszeniu kału z barwnikiem, barwnik ekstrahowano wodą, oddzielając ekstrakty od kału za pomocą wirowania. Do zebra-

nych wyciągów dodawano do 20% chlorku sodowego i wprowadzono wyciągi do kolumn z celulozy postępując dalej jak w punkcie 4.3. Zebrane ostatecznie eluaty zagęszczano do objętości poniżej 200 ml, przenoszono do kolb miarowych pojemności 200 ml i uzupełniano wodą do kreski, oznaczając następnie ich gęstość optyczną. Roztworem odniesienia był roztwór przygotowany z odważki kału bez dodatku barwnika. Na podstawie oznaczonych wartości gęstości optycznej z krzywej wzorcowej przedstawionej na ryc. 1. odczytywano ilości barwnika. Odzysk wziętych do badania ilości barwnika obliczano na podstawie znalezionych z krzywej wzorcowej ilości barwnika co jest przedstawione w tabeli II.

Tabela II

Ilość μ g barwnika wziętych do badania	1780	3560	5340
Ilość odzyskanych μ g barwnika	1180	2902	4582
Odzysk barwnika w procentach	66,3	81,5	85,9

Na podstawie ilości barwnika wziętych do badania oraz wartości gęstości optycznej otrzymanych barwnych eluatów wykreślano krzywą wzorcową (ryc. 2), która była następnie podstawą do oznaczeń nieznanymi ilości barwnika w kale szczurów doświadczalnych.



Ryc. 2.

4. 5. Oznaczenie ilościowe czerni brylantowej BN w kale szczurów doświadczalnych. Zebrany do każdego szczura oddzielnie w ciągu całego czasu trwania doświadczenia kał mielono, mieszano i pobierano próby do badania w ilości 10 g. Barwnik z kału ekstrahowano wodą, a dalsze postępowanie przeprowadzono jak w punkcie 4.4. Na podstawie wartości gęstości optycznej otrzymanych eluatów odczytywano z krzywej wzorcowej przedstawionej na ryc. 2 zawartości barwnika w kale. Znając ilość barwnika jaką podano każdemu szczurowi i ilości barwnika wydzielone przez szczura w kale w ciągu całego czasu trwania doświadczenia obliczano procent wydalonego barwnika — wynosił on średnio 0,6%.

Wszystkie oznaczenia w pracy wykonywano na dwóch równoległych próbach.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone badania, które miały zobrazować jaki procent czerni brylantowej BN ulega wchłonięciu z przewodu pokarmowego, wykazały, że ilość ta jest bardzo duża i wynosi 99,4% wprowadzonego barwnika. Barwnik wchłonięty z przewodu pokarmowego może ulegać dalszym przemianom w ustroju, może odkładać się oraz wydzielać z organizmu w formie zmienionej lub niezmienionej. W przypadku czerni brylantowej nie stwierdzono jej obecności w moczu. Istnieje też możliwość, że ilość barwnika stwierdzonego w kale może być niższa od rzeczywistej, gdyż część barwnika mogła ulec w przewodzie pokarmowym rozkładowi. W każdym razie nawet gdyby w związku z tym ilość barwnika wchłoniętego obniżyła się, to i tak jest ona spora i przy obecnym dość silnym barwieniu artykułów żywności, ilość wprowadzonego barwnika do ustroju jest niewątpliwie za duża.

W pracy zastosowano metodę izolowania barwnika podaną przez *Graichen* i współpracowników (1). Metoda ta na pewno mogłaby być stosowana po sprawdzeniu do ilościowego izolowania barwników z całego szeregu artykułów żywności ze względu na swoją prostotę i łatwość wykonania oraz dość dobrą powtarzalność wyników jak na tego rodzaju metodę. Ocena statystyczna metody podana jest w tabeli III.

Tabela III

Srednia \bar{x}	Odchylenie standartowe S	Precyzja 3 S	Wskaźnik zmienności $\frac{S \cdot 100}{\bar{x}}$	Sredni błąd średniej $S_{\bar{x}}$
27,45	1,091	3,273	3,97 %	0,771

WNIOSKI

1. Podawanie barwnika w diecie szczurom trzymanym w klatkach metabolicznych, przy równoczesnym zbieraniu kału i moczu jest niemożliwe ze względu na przedostawanie się barwnika do kału i moczu

wraz z resztkami diety, dlatego konieczne okazało się podawanie barwnika za pomocą sondy.

2. Nie stwierdzono wydzielania podanej *per os* czerni brylantowej BN w moczu, stwierdzono wydalanie barwnika w kale.

3. Ilość czerni brylantowej BN wydalanej w kale w stosunku do ogólnej ilości podanej szczurom wynosi 0,6%, z tego wynika, że wchłanianie barwnika z przewodu pokarmowego jest bardzo duże.

Л. Пекарски

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД ПОГЛАЩАНИЕМ БРИЛЛЯНТОВОЙ ЧЕРНОЙ ВН ИЗ ПИЩЕВОДА КРЫСЫ

Содержание

Экспериментальным крысам при помощи зонда подавали брильянтовой черной ВН.

Во время эксперимента исследовали собранные экскременты и мочу крыс обнаруживая краску в экскрементах и его отсутствие в моче. Количественно определено красителя в экскрементах колорическим методом после экстракции его при помощи воды и очистке раствора в колонне с целлюлозой.

Из общего количества красителя введенного крысам в экскрементах нашли 0,6%.

L. Piekarski

STUDIES ON THE ABSORPTION OF BRILLIANT BLACK BN FROM THE ALIMENTARY CANAL OF A RAT

Summary

Experimental rats were given brilliant black BN via probe. During the experimental work the feces and urine of the rats were collected and the presence of the dye was noted in feces and not in the urine. Quantitative determination of the dye in feces was performed by the colorimetric method after extraction of dye by means of water and purifying on the column with cellulose. From the total amount of the dye administered to the rats 0.6% was excreted in the feces.

PIŚMIENNICTWO

1. Graichen Ch., Sclar R. N., Ettelstein N., Freeman K. A.: Journal of the A.O.A.C., 38, 792, 1955.