



Herausforderung

Einfache und schnelle Bestimmung der Kaliumbromat-Konzentration in Brot

Lösung

Das SPECORD 50 PLUS, ausgestattet mit dem 6-fach Küvettenwechsler, ermöglicht eine schnelle und einfache spektrophotometrische Bestimmung der Kaliumbromat-Konzentration in Brot

Zielpublikum

Diese AppNote richtet sich an Anwender aus dem Bereich der Lebensmittelindustrie

Spektrophotometrische Konzentrationsbestimmung von Kaliumbromat in Brot basierend auf der Redoxreaktion zwischen Kaliumbromat und Promethazin im sauren Milieu

Einleitung

Brot ist seit über zehntausend Jahren ein Bestandteil der menschlichen Ernährung. Es ist weltweit ein Grundnahrungsmittel und dank seines Kohlenhydratgehaltes ein wichtiger Energielieferant. Zusätzlich enthält es wertvolle Vitamine, wie Thiamin, Riboflavin und Niacin, aber auch Mineralstoffe (z.B. Magnesium, Kalium) und Spurenelemente (z.B. Selen, Jod).

Die Elastizität des Brotteiges ist auf das Vorhandensein von Gluten und dessen Fähigkeit, Gase einzuschließen zurückzuführen. Das daraus resultierende Aufgehen des Teiges wird als wünschenswerte Eigenschaft von qualitativ hochwertigem Brot angesehen. Um das Gluten zu stärken und die gewünschten Teigeigenschaften zu erhalten, ist der Oxidationsprozess unerlässlich. Früher wurde der Teig dafür mehrere Tage oder Wochen lang an der Luft gelagert. Heutzutage werden für die Oxidation chemische

Oxidationsmittel zugesetzt, welche die Reifezeit deutlich verkürzen. Kaliumbromat ist ein solches Oxidationsmittel und ein in der Backwarenindustrie häufig verwendeter Lebensmittelzusatzstoff. Es hat einen positiven Einfluss auf die Struktur und die rheologischen Eigenschaften des Teiges und somit auch des Endproduktes, dem Brot. Kaliumbromat gilt jedoch als krebserregender und nephrotoxischer Stoff und wurde 1999 von der Internationalen Agentur für Krebsforschung als Karzinogen der Kategorie 2B (als möglicherweise krebserregend für den Menschen) eingestuft. Beginnend in den 90er Jahren haben zahlreiche Länder die Verwendung von Kaliumbromat in Lebensmitteln verboten, u.a. die Europäische Union, Kanada, Brasilien und China. In den USA dagegen ist Kaliumbromat bis dato ein erlaubter und genutzter Lebensmittelzusatzstoff.

Die US-amerikanische Gesundheitsbehörde FDA schränkt die Verwendung von Kaliumbromat ein und erlaubt bis zu 50 mg Kaliumbromat auf 1 kg Mehl, mit der Begründung, dass Kaliumbromat beim Backen in nicht karzinogenes Bromid umgewandelt wird. Wenn das Brot nicht ausreichend lange oder bei einer zu niedrigen Temperatur gebacken wird, verbleibt jedoch eine Restmenge an Kaliumbromat. Daher ist es wichtig, auch die niedrigen Kaliumbromatgehalte in Mehlprodukten und Backwaren zu kontrollieren.

Material und Methoden

Alle Messungen wurden mit einem SPECORD 50 PLUS Spektralphotometer durchgeführt, ausgestattet mit einem 6-fach Küvettenwechsler und 10 mm Glasküvetten ausgestattet war. Unter Verwendung des Moduls "Photometrie" der Software ASpect UV wurde die Absorption der Standards und Proben gemessen. Die Software-Einstellungen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Reagenzien

Alle verwendeten Reagenzien waren von analytischer Qualität. Für die Herstellung der Standards und zur Probenmessung wurden folgende Reagenzien benötigt:

- Promethazin-Hydrochlorid (PTZ) ($C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$)
- Kaliumbromat ($KBrO_3$)
- 12 mol/l Salzsäure (HCl)
- Destilliertes Wasser

Herstellung der Standards

Für die Standards wurde die Kaliumbromat-Stammlösung in 10 ml Messkolben überführt, mit 1 ml PTZ-Stammlösung versetzt und mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Anschließend wurden noch 200 μ l 12 mol/l Salzsäure dazu pipettiert und geschüttelt. Das verwendete Volumen und die Konzentration der Standards sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Für die photometrische Bestimmung der Kaliumbromatkonzentration gibt es verschiedene Methoden. In der vorliegenden Applikationsschrift wird die spektrophotometrische Konzentrationsbestimmung von Kaliumbromat in Brot basierend auf der Redoxreaktion zwischen Kaliumbromat und Promethazin im sauren Milieu beschrieben.

Tabelle 1: Software-Einstellungen ASpect UV

Parameter	Einstellungen für die Bestimmung von $KBrO_3$
Messmodus	Absorption
Wellenlänge [nm]	515
Integrationszeit [s]	0,1
Regression	linear

Herstellung der Stammlösungen

Für die Stammlösungen wurden PTZ und Kaliumbromat eingewogen (Tabelle 2), in einen 1000 ml Messkolben überführt und bis zur Marke des Messkolbens mit destilliertem Wasser aufgefüllt und geschüttelt.

Tabelle 2: Einwaagen Stammlösung

Stammlösung	Einwaage [g]
0,01 mol/l PTZ	3,21
50 mg/l Kaliumbromat	0,05

Tabelle 3: Volumen und Konzentration der Standards

Standard	Volumen $KBrO_3$ -Stammlösung [μ l]	Konzentration [μ g/ml]
Standard 1	100	0,5
Standard 2	200	1,0
Standard 3	400	2,0
Standard 4	600	3,0
Standard 5	800	4,0

Proben und Probenvorbereitung

Es wurden insgesamt vier verschiedene Brotproben untersucht. Die vier Brotproben wurden in den Vereinigten Arabischen Emiraten gekauft. Drei der Proben stammen aus verschiedenen Supermärkten und eine Probe aus einem Restaurant.

Die bei Raumtemperatur getrockneten Brotproben wurden zunächst mit einem Mörser zu Pulver vermahlen. Für die weitere Probenvorbereitung wurden ca. 5 g der jeweiligen Brotprobe eingewogen. Die Einwaagen können der Tabelle 4 entnommen werden.

Tabelle 4: Einwaage der Proben

Probe	Einwaage [g]
Brot 1	5,00
Brot 2	5,00
Brot 3	5,01
Brot 4	5,02

Die eingewogenen Proben wurden in einen 100 ml Messkolben überführt und mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt, geschüttelt und anschließend durch einen aschefreien Papierfilter der Güte 41 filtriert. Von dem Filtrat wurden je dreimal 8,8 ml entnommen, mit 1 ml Promethazin-Hydrochlorid-Stammlösung und 200 μ l Salzsäure versetzt und für 1 Minute geschüttelt.

Die Farbreaktion benötigt 15 min und der Farbkomplex ist ca. 60 min stabil bei Raumtemperatur. Standards und Proben müssen innerhalb dieses Zeitraumes gemessen werden.

Messungen

Vorversuche

Um einen möglichen Effekt der Küvetten auszuschließen, wurden vor der Standard- und Probenmessungen die Glasküvetten untersucht. Dafür wurden 10 Glasküvetten mit Ethanol gespült und schonend unter einem kontinuierlichen Luftstrom getrocknet. Die Küvetten wurden mit destilliertem Wasser gefüllt und das Absorptionsspektrum im Bereich von 450 - 550 nm wurde gegen Luft als Referenz gemessen. Nach eingehender Auswertung der Ergebnisse wurden für weitere Messungen nur die Küvetten mit der geringsten Absorptionsabweichung untereinander verwendet (ΔA).

Erstellung der Kalibrierkurve

Die Referenzmessung erfolgte gegen destilliertes Wasser. Für die Erstellung der Kalibrierkurve wurden die Küvetten dreimal mit dem Standard gespült und dann mit diesem Standard befüllt. Alle Standards wurden dreimal gemessen. Die Kalibrierkurve wurde im Modul "Photometrie" der ASpect UV mit den in Tabelle 1 aufgeführten Software-Einstellungen erstellt.

Messung der Proben

Jede Probe wurde in einer Dreifachbestimmung mit den Software-Einstellungen aus Tabelle 1 analysiert. Die Referenzmessung erfolgte gegen destilliertes Wasser. Vor jeder Messung wurde die Küvette dreimal mit der vorbereiteten Probe gespült, danach befüllt und gemessen. Die Software ASpect UV ermittelt automatisch den Mittelwert und die Standardabweichung der Proben.

Ergebnisse und Diskussion

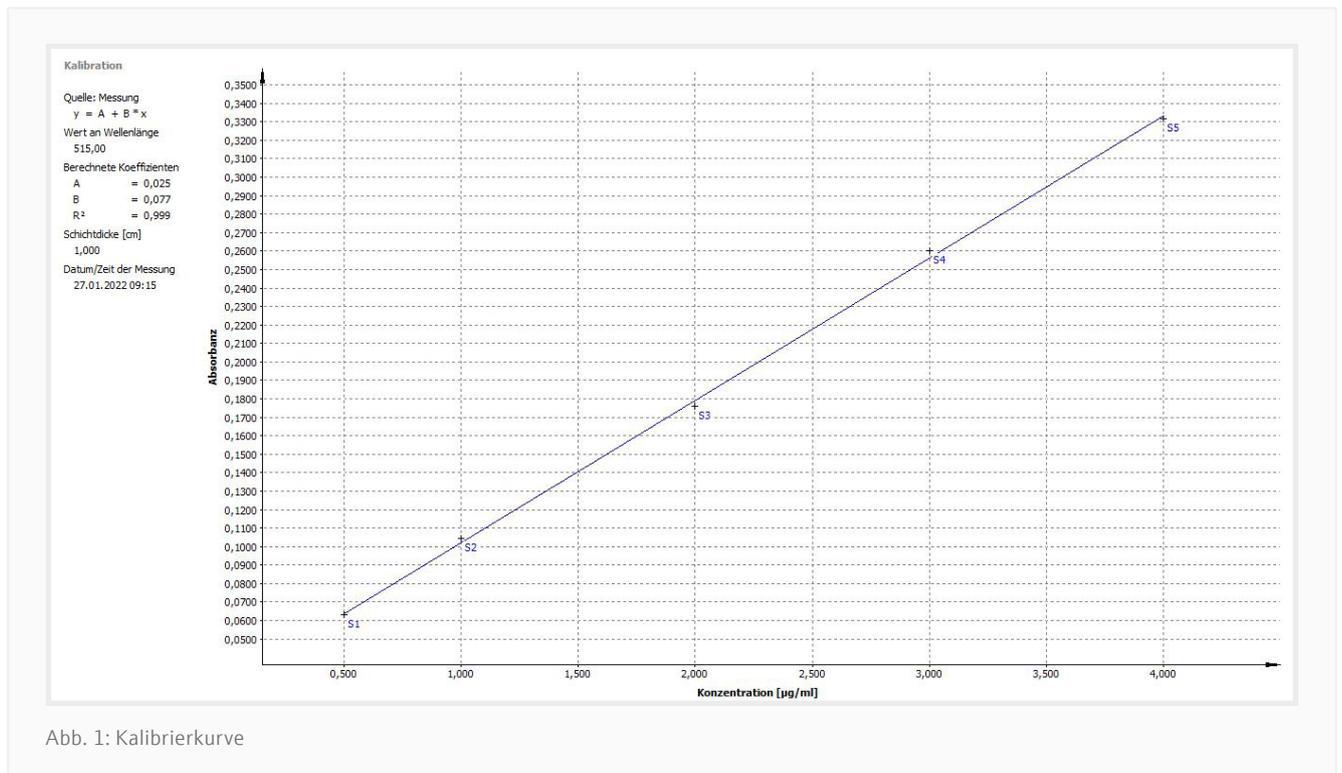
Vorversuche

Wie im Teil Material und Methoden beschrieben, wurden die verwendeten Küvetten vorab untersucht. Die Überprüfung der Reinheit der Küvetten ist ein wichtiger Schritt, um eventuelle Einflüsse der Küvetten auszuschließen und um einen optimalen Korrelationskoeffizient der Kalibrierkurve zu erreichen. Bei der Prüfung der Küvetten ist darauf zu achten, das Lösungsmittel zu verwenden, welches auch bei der Standard- und Probenmessung genutzt wurde, da je nach Polarität des Lösungsmittels Verunreinigungen oder Abweichungen der Küvette verstärkt oder abgeschwächt werden.

Die gemessenen Spektren wurden eingehend auf signifikante Absorptionsunterschiede untersucht. Da die Messungen bei 515 nm erfolgen, sind die Unterschiede der Absorptionswerte bei dieser Wellenlänge von besonderem Interesse. Über die Software ASpect UV kann die Wellenlänge einfach definiert werden und somit die Auswertung erleichtern. Die Küvetten mit der geringsten Abweichung voneinander wurden für die weiteren Messungen verwendet. Bei den folgenden Messungen wurde darauf geachtet, dass die Ausrichtung der Küvetten immer identisch war.

Erstellung der Kalibrierkurve

Zur Bestimmung der Konzentration wurde im ersten Schritt eine Kalibrierkurve für einen Konzentrationsbereich von 0,5 - 4,0 µg/ml erstellt. Dazu wurden wie in der Literatur beschrieben fünf definierte Kaliumbromat-Standards (siehe Tabelle 3) hergestellt, welche entsprechend den Software-Einstellungen der ASpect UV gemessen wurden. Die ermittelte Absorption wird auf der y-Achse gegen die Konzentration auf der x-Achse aufgetragen. Die gemessene Kalibriergerade mit einem R^2 von 0,999 ist in Abbildung 1 dargestellt.



Um die Laborarbeitszeit zu minimieren, wurde die erstellte Kalibrierkurve anschließend mit der Messmethode für die Proben verknüpft. Somit müssen die Standards nicht für jede Probenmessung neu angesetzt und eine neue Kalibrierkurve erstellt werden.

Ergebnisse der Probenmessung

In Tabelle 5 sind die mit der ASpect UV gemessenen Ergebnisse zu finden. Anhand der geringen Standardabweichung kann man erkennen, dass das SPECORD 50 PLUS für die Konzentrationsbestimmung von Kaliumbromat geeignet ist.

Tabelle 5: Messergebnisse der Proben

Probe	Konzentration [$\mu\text{g/ml}$]	Absorption 515 nm	Probe	Konzentration [$\mu\text{g/ml}$]	Absorption 515 nm
Probe 1	1,829	0,166	Probe 3	0,269	0,046
Probe 1	1,845	0,167	Probe 3	0,238	0,044
Probe 1	1,757	0,161	Probe 3	0,254	0,045
Mittelwert	1,810	0,165	Mittelwert	0,254	0,045
Standardabweichung	0,038	0,003	Standardabweichung	0,013	0,001
Probe 2	0,103	0,033	Probe 4	0,172	0,039
Probe 2	0,177	0,039	Probe 4	0,151	0,037
Probe 2	0,073	0,031	Probe 4	0,197	0,040
Mittelwert	0,118	0,034	Mittelwert	0,173	0,039
Standardabweichung	0,044	0,003	Standardabweichung	0,019	0,001

Berechnung und Ergebnisse der Kaliumbromat-Konzentration

Um die Kaliumbromat-Konzentration in $\mu\text{g je g}$ Brot zu berechnen, wurde die Formel 1 verwendet. Für die Berechnung wurde immer der Mittelwert der gemessenen Konzentration [$\mu\text{g/ml}$] verwendet.

$$c_{KBrO_3} = \frac{c_{AUV_{KBrO_3}}}{\left(\frac{EW_{Brot}}{V}\right)} * VF \quad [1]$$

c_{KBrO_3} = Konzentration Kaliumbromat [$\mu\text{g/g}$]

$c_{AUV_{KBrO_3}}$ = Konzentration Kaliumbromat gemessen in der ASpect UV [$\mu\text{g/ml}$]

EW_{Brot} = Einwaage Brot [g]

V = Volumen [ml]

VF = Verdünnungsfaktor

Die mit der Formel 1 berechneten Ergebnisse sind in der Tabelle 6 zu sehen.

In allen Brotproben konnte Kaliumbromat nachgewiesen werden, wobei Probe 1 die höchste Konzentration zeigte und Probe 2 die niedrigste.

Tabelle 6: Kaliumbromat-Konzentration der Proben

Probe	Konzentration Kaliumbromat in Brot [$\mu\text{g/g}$]
Probe 1	41,14
Probe 2	2,68
Probe 3	5,76
Probe 4	3,92

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt ein einfaches, schnelles und validiertes Verfahren für die Konzentrationsbestimmung von Kaliumbromat, so dass es für die Routinekontrolle von Brot empfohlen werden kann. Diese Applikationsschrift zeigt, dass die Messungen mit dem SPECORD PLUS schnell, reproduzierbar und kostengünstig durchgeführt werden können.



Abb. 2: SPECORD 50 PLUS Spektralphotometer

Empfohlene Gerätekonfiguration

Tabelle 7: Übersicht benötigter Geräte und Zubehöre

Artikel	Artikelnummer	Beschreibung
SPECORD 50 PLUS Spektralphotometer mit Split-Beam Technologie	822-0050P-2-R	Leistungsstarkes Zweistrahl-Spektralphotometer mit Split-Beam-Technologie (SBT) für hervorragende Messergebnisse Analyse von flüssigen, gasförmigen, pulverförmigen und festen Proben möglich
6-fach Küvettenwechsler, nicht temperierbar, ohne Rührwerk	820-60335-P	Küvettenwechsler zur Aufnahme von 6 Küvetten mit 10 mm Schichtdicke, nicht temperierbar, ohne Rührwerk

Referenzen

- [1] El. Harti et al.; A simple and rapid method for spectrophotometric determination of bromate in bread; Journal of Materials and Environmental Science; 2011; Vol. 2/ 71-76
- [2] Chauhan D., Jain P.A.; Scientific study of genotoxic-carcinogenic impacts of Potassium Bromate as food additive on human health; Int. Res. J. Eng. Tech. 2016; 3:1136-1139
- [3] Shanmugavel, V et al.; Potassium bromate: effects on bread components, health, environment and method of analysis, a review, Food Chemistry (2019)

Dieses Dokument ist zum Zeitpunkt der Veröffentlichung wahr und korrekt; die darin enthaltenen Informationen können sich ändern. Dieses Dokument kann durch andere Dokumente ersetzt werden, einschließlich technischer Änderungen und Korrekturen.

Markenrechtlicher Hinweis: Die in der Applikationsschrift genannten Markennamen von Drittprodukten sind in der Regel eingetragene Marken der jeweiligen Unternehmen.

Unternehmenshauptsitz

Analytik Jena GmbH+Co. KG
Konrad-Zuse-Straße 1
07745 Jena · Deutschland

Tel. +49 3641 77 70
Fax +49 3641 77 9279

info@analytik-jena.com
www.analytik-jena.com

Version 1.0 · Autor: SaWu
de · 02/2024

© Analytik Jena GmbH+Co. KG | Bilder ©: Adobe Stock/
KI