

Stanovenie tiamínu a riboflavínu v niektorých potravinových koncentrátoch

L. ŠORMAN

*Katedra chemickej technológie uhľohydrátov Slovenskej vysokej školy technickej,
Bratislava*

Na stanovenie tiamínu (aneurínu, vitamínu B₁) v prírodnom materiáli sa dnes používajú prevažne metódy, založené na meraní modrej fluorescence oxydačného produktu tiamínu — tiochrómu [1—3]. Podobne aj pri stanovení riboflavínu (laktoflavínu, vitamínu B₂) dosahujú najväčšie uplatnenie metódy, založené na meraní jeho žltozelenej fluorescence [4—7].

Pri fluorescenčnom stanovení tiamínu a riboflavínu v niektorých potravinových koncentrátoch, najmä v dehydrovaných polievkach sme sa aj pri dôslednom dodržiavaní predpísaných postupov stretli s rušivou fluorescenciou interferujúcich látok, ktorá do značnej miery skresľovala dosahované výsledky. V predloženej práci sme sa preto pokúsili zistiť príčiny opísaného javu a určiť podmienky, za ktorých by sa mu dalo zabrániť.

Experimentálna časť

Metodika

Za účelom urýchlenia stanovenia, ako aj s ohľadom na to, že sme mali k dispozícii len obmedzené váhové množstvá vzoriek, modifikovali sme fluorescenčnú metódu stanovenia tiamínu [3] a riboflavínu [6] tak, aby sme ich mohli stanoviť vedľa seba z toho istého návažku vzorky. V prvej časti práce sa meralo v modelových roztokoch obidvoch vitamínov a v druhej časti v skúmaných potravinových koncentrátoch.

Postup

Kyslá a enzymatická hydrolýza

25 g homogenizovanej vzorky sme navázili do 100 ml širokohrdlej odmernej banky. Do návažku sme pridali 50 ml 0,1 N-H₂SO₄ a zahrievali sme 30 minút na vriacom vodnom kúpeli. Aby sme zabránili peneniu, pridali sme kvapku oktylalkoholu. Potom sme zmes ochladili, pridali sme 5 ml 6 % vodnej suspenzie takadiastázy, pH sme upravili na hodnotu 5,4 a udržovali v termostate pri teplote 37 °C po dobu 20 hodín. Potom sme zmes ochladili, odstránili usadený tuk, doplnili po značku a dvakrát prefiltrovali.

Stanovenie tiamínu

25 ml číreho extraktu sme prepustili stĺpcom aktivovaného Dekalsa rýchlostou 1 kvapka za 8 sekúnd. Vytiekajúci roztok sme zachytili a použili na stanovenie riboflavínu. Tiamín adsorbovaný na Dekalse sme najprv premyli 50 ml horúceho 0,01 N octanu

sodného a po dôkladnom odsatí sme vykonali elúciu 25 % roztokom KCl v 0,1 N-HCl (dvakrát po 10 ml) pri teplote 80 °C. Po elúcii sme objem doplnili elučným roztokom na 25 ml. Potom sme 5 ml eluátu preniesli do oddeľovacieho lievika, pridali sme 3 ml oxydačnej zmesi (100 ml 15 % KOH + 3 ml 1 % $K_3[Fe(CN)_6]$), 15 ml izobutylalkoholu a ihneď sme pretrepávali 90 sekúnd. Po oddelení vrstiev sme izobutylalkoholovú vrstvu vysušili 2 g bezvodého Na_2SO_4 , vliali do kvety z kremenného skla a na Pulfrichovom kolorimetri upravenom pre fluorescenčné meranie (filter 5, fluorescenčné porovnávacie sklíčko D) sme zmerali jej fluorescenciu. Z kalibračnej krivky sme odčítali koncentráciu tiamínu.

Stanovenie riboflavínu

20 ml roztoku zachyteného pri adsorpcii tiamínu sme preniesli do 25 ml odmernej banky a po kvapkách sme pridávali 3 % roztok $KMnO_4$ až do hnedastého sfarbenia. Za 10 minút sme roztok odfarbili 3 % roztokom H_2O_2 a doplnili po značku. Po premiešaní sme 15 ml tohto roztoku preniesli do oddeľovacieho lievika, pridali sme 25 ml prečisteneého chloroformu, pretrepali a po ustálení vrstiev sme vodnú vrstvu vliali do kvety z kremenného skla. Na Pulfrichovom kolorimetri upravenom pre fluorescenčné meranie (filter 5, fluorescenčné porovnávacie sklíčko C) sme zmerali fluorescenciu roztoku a z kalibračnej krivky sme odčítali koncentráciu riboflavínu.

Poznámka: Katex Dekalso (vodnatý kremičitan hlinito-sodný) sme pripravili a aktivovali podľa údajov v literatúre [3], pričom veľkosť zrna zodpovedala normalizovanému situ č. 60. Adsorpciu tiamínu sme uskutočnili v sklenených kolónkach o priemere 12 mm na konštantnom množstve Dekalsa 1,5 g. Organické rozpúšťadlá sme pred použitím predestilovali.

Výsledky a diskusia

Stanovenie v modelových roztokoch

V prvej časti experimentálnej práce sme študovali kvantitatívne pomery pri stanovení tiamínu a riboflavínu v modelových roztokoch. Z vysušeného kryštalického hydrochloridu tiamínu sme pripravili roztoky so stúpajúcou koncentráciou tiamínu v rozmedzí 1—5 $\mu\text{g/ml}$, do ktorých sme pridali konštantné množstvo riboflavínu. V tejto zmesi sme opísanou metódou stanovili tiamín s tým rozdielom, že raz sme vykonali jeho adsorpciu na Dekalse a druhý raz sme ju vynechali. Výsledky sú zhrnuté v tab. 1, v ktorej vidieť, že pri vynechaní adsorpcie sú dosiahnuté výsledky v priemere značne vyššie, než je skutočný obsah tiamínu v skúmaných vzorkách, pričom variačný koeficient $v = 9,8 \%$. Výsledky dosiahnuté pri použití Dekalsa sa od tohto obsahu líšia oveľa menej a variačný koeficient $v = 1,6 \%$. Keďže v skúmaných roztokoch bol okrem tiamínu prítomný iba riboflavín a stanovovalo sa pri dennom svetle, predpokladáme, že na uvedenom zvýšení výsledkov participovala balastná modrá fluorescencia lumichrómu, ktorý je produktom fotolýzy riboflavínu. Ďalej sme pripravili roztoky so stúpajúcou koncentráciou riboflavínu v roz-

Tabuľka 1
Vplyv Dekalsa na množstvo stanoveného tiamínu

Použitá množstvo tiamínu mg	Stanovené množstvo tiamínu			
	bez Dekalsa		s Dekalsom	
	mg	%	mg	%
0,100	0,107	107,0	0,098	98,0
0,200	0,235	117,8	0,203	101,5
0,300	0,317	105,7	0,298	99,3
0,400	0,428	106,4	0,405	101,2
0,500	0,527	105,4	0,495	98,0

medzi 1—5 $\mu\text{g/ml}$, do ktorých sme pridali konštantné množstvo tiamínu. Opísanou metódou sme v zmesi stanovili tiamín a riboflavín s tým rozdielom, že raz sme celý postup urobili v zatemnenej miestnosti a druhý raz pri dennom svetle. Výsledky stanovenia riboflavínu sú v tab. 2. Z výsledkov uvedených v tab. 2 vyplýva, že stanovený obsah riboflavínu pri spracovaní vzoriek na dennom svetle je v priemere o 56,5 % nižší než pri spracovaní v tme. V prvom prípade bola fluorescencia modrozelená, kým v druhom prípade typicky žltozelená. Uvedené výsledky potvrdzujú nevyhnutnosť väčšiny operácií v zatemnenej miestnosti, čo sme sa snažili dodržať v ďalšej časti experimentálnej práce.

Tabuľka 2
Vplyv osvetlenia na množstvo stanoveného riboflavínu

Použitá množstvo riboflavínu mg	Stanovené množstvo riboflavínu			
	spracovanie v tme		spracovanie na svetle	
	mg	%	mg	%
0,100	0,097	97,0	0,045	45,0
0,200	0,197	98,5	0,087	43,5
0,300	0,303	101,0	0,125	41,7
0,400	0,397	99,2	0,164	41,0
0,500	0,509	101,8	0,227	45,4

Stanovenie v potravinových koncentrátoch

Opísanou metódou sme v ďalšom stanovili obsah tiamínu a riboflavínu v niektorých dehydrovaných polievkach a v sterilizovaných hotových jedlách. Výsledky stanovení sme zostavili do tab. 3, v ktorej vidieť, že skúmané dehydrované polievky obsahujú 0,060—0,178 mg% tiamínu a 0,1—0,29 mg%

Tabuľka 3

Obsah tiamínu a riboflavínu v skúmaných potravinových koncentrátoch

Dehydrované polievky	Obsah		Sterilizované hotové jedlá	Obsah	
	tiamínu mg%	riboflavínu mg%		tiamínu mg%	riboflavínu mg%
cestovinová s mäsom	0,158	0,212	lečo s olejom	0,065	0,080
ryžová s mäsom	0,060	0,208	plnený kapustný list	0,089	0,182
maďarská	0,178	0,100	hovädzie s hráškom	0,124	0,021
zemiaková	0,112	0,140	rizoto	0,160	0,172
hnedá	0,130	0,172	hovädzie na divoko	0,074	0,150
hovädzia s mäsovou ryžou	0,100	0,290	bravčové na horčici	0,153	0,150

riboflavínu. V skúmaných sterilizovaných hotových jedlách je 0,065 až 0,160 mg% tiamínu a 0,080—0,182 mg% riboflavínu. Stanovené hodnoty sú v dobrej zhode s výsledkami, ktoré dosiahli iní autori v príbuzných výrobkoch [8]. Ukazujú, že skúmané výrobky, ktoré majú nahradiť analogické jedlá z domácej úpravy, sú dobrým zdrojom deficitného tiamínu a riboflavínu.

Súhrn

Opísali sme modifikáciu metódy fluorescenčného stanovenia tiamínu a riboflavínu v niektorých potravinových koncentrátoch. Obidva vitamíny sa stanovujú z toho istého navažku vzorky, pričom tiamín sa oddeľuje od riboflavínu adsorpciou na katexe Dekalso a riboflavín sa stanovuje v eluáte. Určili sme podiel interferujúcej fluorescencie pri stanovení tiamínu v zmesi s riboflavínom a straty riboflavínu pri spracovaní vzorky na dennom svetle. Uvedeným postupom sme určili obsah tiamínu a riboflavínu v niektorých druhoch dehydrovaných polievok a sterilizovaných hotových jedál.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИАМИНА И РИБОФЛАВИНА В НЕКОТОРЫХ ПИЩЕВЫХ КОНЦЕНТРАТАХ

Л. Шорман

Кафедра химической технологии углеводородов Словацкого политехнического института,
Братислава

Описан метод определения тиамина и рибофлавина возле себя в некоторых пищевых концентратах. Была определена доля интерферирующей флуоресценции при определении тиамина в смеси с рибофлавином и количество потерь рибофлавина при обработке

образца на денном свете. Приведенным методом было определено содержание тиамина и рибофлавина в некоторых сортах дегидратированных супов и стерилизованных готовых пищах.

BESTIMMUNG VON THIAMIN UND RIBOFLAVIN IN EINIGEN NÄHRMITTELKONZENTRATEN

L. Šorman

Lehrstuhl für chemische Technologie von Kohlenhydraten an der Slowakischen Technischen Hochschule, Bratislava

Es wird über eine Modifikation der Fluoreszenzmethode zur Bestimmung von Thiamin und Riboflavin in einigen Nahrungsmittelkonzentraten berichtet. Beide Vitamine werden aus derselben Einwaage der Probe bestimmt. Die Trennung des Thiamins vom Riboflavin erfolgt an dem Dekalso-Katex; Riboflavin wird im Eluat bestimmt. Der Anteil der interferierenden Fluoreszenz bei der Bestimmung von Thiamin im Gemisch mit Riboflavin, sowie auch der Riboflavinverlust bei der Verarbeitung der Probe am Tageslicht wurde ermittelt. Durch das beschriebene Verfahren wurde der Thiamin- und Riboflavinegehalt in einigen Sorten dehydratierter Suppen und sterilisierter Fertigspeisen bestimmt.

LITERATÚRA

1. Ohnesorge W. E., Rogers L. B., *Anal. Chem.* **28**, 1077 (1956).
2. Ridyard H. N., *Analyst* **86**, 723 (1961).
3. *Association of Vitamin Chemists: Methods of Vitamin Assay*. Intersc. Publishers, Inc., New York 1950.
4. Kodiček E., Wang J., *Biochem. J.* **44**, 340 (1949).
5. Najjar V. A., *J. Biol. Chem.* **141**, 355 (1941).
6. Gstirner F., *Chemischphysikalische Vitaminbestimmungsmethoden*. Enke, Stuttgart 1951.
7. Knobloch E., *Fyzikálně chemické metody stanovení vitaminů*. Nakladatelství ČSAV, Praha 1956.
8. Škopková M., Šmrha O., Váša J., *Tabulky výživných hodnot potravin*, 131. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha 1957.

Do redakcie došlo 13. 5. 1963

Adresa autora:

Inž. Ladislav Šorman, Katedra chemickej technológie uhľohydrátov SVŠT, Bratislava, Kollárovo nám. 2.