

Štúdium zmien obsahu vitamínov B₁, B₂ a B₆ a niektorých mikrobiologických ukazovateľov pri rôznych spôsoboch termosterilizácie hrachu

The study of capacity changes of vitamins B₁, B₂ and B₆ and some microbiologic coefficients in various methods of the peas thermosterilization

B. HOZOVÁ — L. ŠORMAN

Abstract: In this work content changes of nutritious and sensory effective substances (vitamins B₁, B₂, B₆ and some microbiologic coefficients) in unsterilized and in stationary and rotary sterilized peas at two heating regimes 15 min/121°C and 30 min/121°C by physicochemical and microbiological methods were studied. The analyses results of the sufficiency representative statistical collection of samples (10) document something higher sparing of the rotatory thermosterilization opposite to the stationary one in herein-before thermolabile components.

The both methods of sterilization as well as various heating regimes are sufficient as to the microorganisms decontamination and are acceptable for preservation of the B₁, B₂, B₆ vitamins in a given type of the vegetable product.

Najdôležitejšou požiadavkou, ktorá sa kladie na potravinársky výrobok je jeho akosť určená príslušnými normami akosti. Tieto zahŕňujú rozličné ukazovatele — mechanické, fyzikálno-chemické, mikrobiologické a senzorické. Okrem najstaršieho meradla kvality potravín, akým je energetická hodnota, využíva sa dnes mnoho iných kritérií, napr. nutričná, senzorická a hygienická hodnota, ktoré komplexnejšie charakterizujú úžitkovú hodnotu konzervárenských výrobkov.

Surovinu pri technologickom spracovaní prechádzajú viacerými operáciami, ktoré vplyvajú na spracovaný materiál. Popri pozitívnych zmenách, ako je typická vôňa, chuť, lepšia stráviteľnosť, zníženie počtu mikroorganizmov a pri spracovaní zeleniny aj inaktivácia enzýmov, dochádza aj k nežiadúcim zmenám, najmä na výživových zložkách a senzorických vlastnostiach potravín. Je preto prvoradou úlohou konzervárenského priemyslu optimalizovať podmienky tepelného zázehvu, aby sa zamedzili tieto straty a dosiahla sa lepšia udržnosť najmä termolabilných zložiek potravín.

V odbornej literatúre sa prezentuje veľký počet údajov o obsahu výživovo a senzoricky účinných látok (najmä vitamínov skupiny B) v potravinárskych surovinách všeobecne. Pomerne málo údajov však nachádzame o vplyve nových metód konzervácie na hore uvedené zložky, ako aj o mikrobiologických aspektoch netradičných metód konzervácie potravín. Preto sme sa pokúsili

prispiet vlastnou experimentálnou prácou k hlbšiemu poznaniu tejto problematiky.

Materiál a metódy

Experimentálnemu štúdiu sme v rámci úlohy Komparatívne štúdium zmien zložiek nekyslých potravín rastlinného pôvodu podrobili sterilizovaný hrášok v slanom náleve. Kvôli sezónnosti sa použil mrazený hrášok, dodaný Slovenskými mraziarňami, závod 01 Bratislava. Vsádková hmotnosť P 1/1 bola 520 g mrazeného hrášku (blanžirovaného v mraziarňach pred zmrazením) a 320 g horúceho nálevu — podľa odborovej normy 569 204. Obsah plechovky sme po zaliatí hermeticky uzatvorili a sterilizovali v poloprevádzkovom laboratóriu VÚ LIKO v stacionárnom autokláve WEBECKE Co., Bad Schwartan a v rotačnom autokláve STOCK PILLOT pri 24 ot./min a 2 sterilizačných režimoch: 121/15 min a 121/30 min.

Preteplivosť v obaloch počas rotačnej sterilizácie sa merala termočlánkami pripojenými na zapisovač E 11 a b, typ 29 CTF. Pre každý sterilizačný režim sme pripravili 10 obalov P 1/1 výrobku, ktorý sme senzoričky hodnotili a chemicky a mikrobiologicky analyzovali.

Z vitamínov skupiny B sme venovali pozornosť tým, ktoré výrazne ovplyvňujú výživovú hodnotu neúdržných potravín, najmä tiamín, riboflavín a pyridoxín [4]. Z mikrobiologických ukazovateľov sme sledovali prítomnosť:

- celkového počtu mikroorganizmov,
- koliformných mikroorganizmov,
- aeróbných spórotvorných mikroorganizmov, pričom sme porovnávali vplyv obidvoch uvedených režimov stacionárnej a rotačnej termosterilizácie na spomínané výživovo a senzoričky významné zložky.

Štatistickú reprezentatívnosť sme docielili osobitným rozborom 10 samostatných konzerv každej pokusnej série (s 2 paralelnými analýzami) a ich štatistickým vyhodnotením (cez \bar{x} , s_x , R , % retencie pri vitamínoch).

1. Stanovenie vitamínu B₁ (tiamínu) [1]

Princíp: Tiamín sa v silne alkalickom prostredí oxiduje hexakynoželezitanom draselným na tiochróm, ktorý sa kvantitatívne prevedie do izobutanolu a zmeria sa intenzita fluorescencie.

2. Stanovenie vitamínu B₂ (riboflavínu) [1]

Princíp: Meria sa fluorescencia lumiflavínu, ktorý vzniká fotochemickým rozkladom riboflavínu v alkalickom prostredí.

3. Stanovenie vitamínu B₆ (pyridoxínu) [2]

Princíp: Meria sa hustota zákalu buniek kvasinky *Saccharomyces uvarum* Beijerinck ATCC 9080, ktorá má vyrovnanú aktivitu oproti všetkým trom členom pyridoxínovej triády (pyridoxolu, pyridoxalu a pyridoxamínu).

4. Stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM) [3]

Použili sme očkovaciu techniku zalieváním, opísanú v ČSN 56 0100. Počet mikroorganizmov zistených touto metódou je meradlom pre celkové mikrobiologické znečistenie skúmanej potraviny.

5. Stanovenie počtu koliformných baktérií [3]

Tak ako v predchádzajúcom prípade postupovali sme podľa predpisu, ktorý uvádza ČSN 56 0100. Metóda slúži ako podklad na zistenie hrubého stupňa znečistenia potravín na stanovenie tzv. indikátorových a patogénnych mikroorganizmov (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* a pod.), vyskytujúcich sa pri nesprávnom dodržaní technologických postupov a hygienických zásad pri výrobe a skladovaní.

6. Stanovenie počtu aeróbných spórotvorných mikroorganizmov [3]

Riadili sme sa metódou, opísanou v ČSN 56 0100. Z výsledkov stanovenia sa dá posúdiť stupeň primárnej kontaminácie surovín a dodržanie hygienických podmienok pri výrobe a technologických postupoch.

Výsledky a diskusia

Dosiahnuté výsledky stanovenia zmien obsahu vitamínu B₁, B₂ a B₆, ako aj počtu vybraných skupín mikroorganizmov počas rozličných spôsobov termosterilizácie hrachu sme zaradili do tabuliek 1—5.

Tabuľka 1 prehľadne ukazuje štatistické vyhodnotenie nameraných hodnôt tiamínu; vplyvom sterilizačných zásahov sa zaznamenal jeho značný pokles vzhľadom na pôvodný obsah v základnej surovine (v priemere takmer 43 %). Prítom z tabuľky vidieť, že so zvyšovaním intenzity termosterilizácie obsah tiamínu klesá, šetrnejšia sa však javí rotačná termosterilizácia.

Tabuľka 2 štatisticky dokumentuje obsah riboflavínu v konzervách rozdielne sterilizovaného hrachu; je evidentné, že obsah vitamínu B₂ po tepelnom zásahu sa iba nevýrazne odlišuje od jeho hodnoty v pôvodnej surovine a výkyvy hodnôt sú minimálne (retencia je v priemere až 80 %). Toto konštatovanie poukazuje na pomerne vysokú termorezistenciu sledovaného vitamínu.

Čo sa týka zmien obsahu pyridoxínu, tieto prehľadne podáva tabuľka 3. Vyplýva z nej, že signifikantné rozdiely nespočívajú natoľko v spôsobe sterilizácie ako v dĺžke tepelného procesu. Úbytok pyridoxínu z pôvodného množstva pri režime 30 min/121 °C je takmer 50 %.

Zhodnotenie výsledkov kontroly mikrobiologickej kvality hrachu je v tabuľkách 4 a 5.

Z tabuľky 4 je zrejmé, že pôvodný počet mikroorganizmov (v denzitách rádovo 10³) sa už účinkom stacionárneho sterilizačného režimu 15'/121 °C znížil o 2 poriadky a pri ostatných spôsoboch sterilizácie boli už nálezy mikroorganizmov vo všetkých pokusných sériách nulové.

Výskyt aeróbných spórotvorných mikroorganizmov (tab. 5) sa pohyboval

Tabuľka 1. Zmeny obsahu tiamínu počas rozličných spôsobov termosterilizácie hrachu (mg/100 g)

Označenie vzorky	Názov vzorky	Celkový priemer \bar{x}	Smerodajná odchýlka s_x	Variačné rozpätie R	Retencia %
H	hrach nesteril.	0,148	0,009	0,021	100
S ₁₅	hrach steriliz. stacionár. 15'/121 °C	0,086	0,0102	0,030	58,1
S ₃₀	hrach steriliz. stacionár. 30'/121 °C	0,072	0,0075	0,023	48,7
R ₁₅	hrach steriliz. rotačne 15'/121 °C	0,102	0,0109	0,034	68,9
R ₃₀	hrach steriliz. rotačne 30'/121 °C	0,079	0,015	0,044	53,4

Tabuľka 2. Zmeny obsahu riboflavínu počas rozličných spôsobov termosterilizácie hrachu (mg/100 g)

Označenie vzorky	Názov vzorky	Celkový priemer \bar{x}	Smerodajná odchýlka s_x	Variačné rozpätie R	Retencia %
H	hrach nesteril.	0,026	0,0047	0,014	100
S ₁₅	hrach steriliz. stacionár. 15'/121 °C	0,022	0,0036	0,011	84,1
S ₃₀	hrach steriliz. stacionár. 30'/121 °C	0,020	0,0029	0,008	77,8
R ₁₅	hrach steriliz. rotačne 15'/121 °C	0,021	0,0033	0,010	82,9
R ₃₀	hrach steriliz. rotačne 30'/121 °C	0,019	0,0054	0,009	75,1

Tabuľka 3. Zmeny obsahu pyridoxínu počas rozličných spôsobov termosterilizácie hrachu (mg/100 g)

Označenie vzorky	Názov vzorky	Celkový priemer \bar{x}	Smerodajná odchýlka s_x	Variačné rozpätie R	Retencia %
H	hrach nesteril.	0,059	0,0023	0,007	100
S ₁₅	hrach steriliz. stacionár. 15'/121 °C	0,049	0,0022	0,007	83,1
S ₃₀	hrach steriliz. stacionár. 30'/121 °C	0,031	0,001	0,003	52,5
R ₁₅	hrach steriliz. rotačne 15'/121 °C	0,047	0,0035	0,010	79,7
R ₃₀	hrach steriliz. rotačne 30'/121 °C	0,032	0,001	0,003	54,2

Tabuľka 4. Zmeny obsahu CPM počas rozličných spôsobov termosterilizácie hrachu (v 1 g)

Označenie vzorky	Názov vzorky	Celkový priemer \bar{x}	Smerodajná odchýlka s_x	Variačné rozpätie R
H	hrach nesteril.	1103	835,3	2750
S ₁₅	hrach steriliz. stacionár. 15'/121 °C	11	4,8	10
S ₃₀	hrach steriliz. stacionár. 30'/121 °C	0	0	0
R ₁₅	hrach steriliz. rotačne 15'/121 °C	0	0	0
R ₃₀	hrach steriliz. rotačne 30'/121 °C	0	0	0

Tabuľka 5. Zmeny obsahu aeróbných spórotvorných mikroorganizmov počas rozličných spôsobov termosterilizácie hrachu (v 1 g)

Označenie vzorky	Názov vzorky	Celkový priemer \bar{x}	Smerodajná odchýlka s_x	Variačné rozpätie R
H	hrach nesteril.	30	14,1	30
S ₁₅	hrach steril. stacionár. 15'/121 °C	0	0	0
S ₃₀	hrach steril. stacionár. 30'/121 °C	0	0	0
R ₁₅	hrach steril. rotačne 15'/121 °C	15	5,0	10
R ₃₀	hrach steril. rotačne 30'/121 °C	0	0	0

v nesterilizovanom hrachu v množstve 20—50/g. Ojedinele sa našli spóry vo vzorkách rotačne sterilizovaného hrachu (10—20/g), čo svedčí o tom, že aplikovaný sterilizačný režim v tomto prípade nepostačoval. Avšak vzhľadom na ojedinelosť a sporadickosť pozitívnych nálezov nemožno z výsledkov stanovení urobiť jednoznačné závery.

Koliformné mikroorganizmy sa nevyskytli ani v jednej analyzovanej vzorke, preto nepokladáme za potrebné tabelárne ich uvádzať. Z výsledkov možno však zhodnotiť dobrú kvalitu základnej suroviny, ako aj celkovú dostatočnú intenzitu termosterilizačných zákrokov. Dôkazom tohto konštatovania bola aj negatívna termostatová skúška po desaťdňovej inkubácii konzerv v termostate pri 37 °C [3].

Súhrn

V predloženej práci sme sa zamerali na štúdium zmien obsahu výživovo a senzoricke účinných látok (vitamín B₁, B₂, B₆ a niektorých mikrobiologických ukazovateľov) v nesterilizovanom a v stacionárne a rotačne sterilizovanom hrachu pri dvoch zahrievacích režimoch 15 min/121 °C a 30 min/121 °C, a to fyzikálnochemickými a mikrobiologickými metódami. Výsledky analýz dostatočne reprezentatívneho štatistického súboru vzoriek (10) dokumentujú

o niečo vyššiu šetrnosť rotačnej termosterilizácie ako stacionárnej oproti spomínaným termolabilným zložkám.

Súhrnne možno povedať, že obidva spôsoby sterilizácie, ako aj rozličné zahrievacie režimy sú postačujúce zo stránky dekontaminácie mikroorganizmov a prijateľné pre uchovanie vitamínov B₁, B₂ a B₆ v danom type zeleninového produktu.

Literatúra

1. Association of Vitamin Chemists: Methods of Vitamin Assay. New York, Interscience 1951.
2. Jednotné mikrobiologické metody pro stanovení vitamínů. II. Stanovení pyridoxinu. Praha, STI při ÚVÚPP 1973.
3. ČSN 56 0100: Mikrobiologické zkoušení poživatin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. Praha, ÚNM 1968.
4. KYZLINK, V.: Základy konzervace potravin. Praha, SNTL 1980, 513 s.

Б. Гозова — Л. Шорман

Исследование изменений содержания витаминов B₁, B₂ и B₆ и некоторых микробиологических показателей в разных способах термостерилизации гороха

Резюме

Мы занимались исследованием изменений содержания питательно и сенсуально активных веществ (вит. B₁, B₂ и B₆ и некоторых микробиологических показателей) в нестерилизованном и в стационарно и ротационно стерилизованном горохе в двух режимах нагрева, т. е. 15 мин/121 °C и 30 мин/121 °C, методами физикально-химическими и микробиологическими. Результаты анализ достаточно репрезентативного статистического комплекса образцов (10) доказывают немножко высшую экономию ротационной термостерилизации в сравнении со стационарной в отношении приведенных термолабильных компонентов.

Можно заключить, что оба способа стерилизации как и разные режимы показали достаточными с точки зрения обеззараживания микроорганизмов и также приемлемые для сохранения витаминов B₁, B₂ и B₆ в данном типе овощного продукта.

Stanovenie lipofilných vitamínov vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou. II

Determination of lipophile vitamins by the high-pressure liquid chromatography. II

M. ŠPAŇÁR — M. GRODOVSKÝ

Abstract: The high-pressure liquid chromatography is rapid, specific, it gives many advantages opposite to the standard method according to the Czechoslovak Standard (ČSN).

Prvý, ktorý upozornil na závislosť charakteristickej absorpcie nezmydeliteľného podielu rybácich olejov a ich vitamínového účinku, bol Takahaši [1].

Morton a Heilbron [2] dokázali, že medzi hodnotou absorbancie pri 328 nm a biologickou aktivitou existuje kvantitatívny vzťah. Táto skutočnosť sa stala podkladom pre spektrofotometrické stanovenie vitamínu A v rybácich olejoch. Stanovenia sa vyznačovali pomerne veľkou chybou, ktorá sa vysvetľovala prítomnosťou rozličných balastných látok, absorbujúcich v tejto oblasti. Prítomnosť balastných látok viedla k používaniu rozličných spôsobov čistenia vitamínu A od sprievodných látok. Glover [3] použil kolónku naplnenú odtučnenou kostnou múčkou a vitamín eluoval acetómom. Müller [4] použil na deštie stĺpec naplnený vrstvami kyslíčnika hlinitého s rozličnou aktivitou.

Z chemických metód najväčšie rozšírenie získalo stanovenie chloridom antimonitým, ktoré sa nazýva aj Carrova—Priceova metóda. Stanovenie podľa Carra—Pricea sa vyznačuje menšou presnosťou, ale väčšou špecifickosťou ako napr. meranie v ultrafialovej oblasti. Nevýhody, ktoré vyplývajú z tejto metódy, sú najmä citlivosť činidiel na vlhkosť, vznik nestabilného modrého chromofóru, interferencia sterolov a karotenoidov pri farebnej reakcii, ale aj toxicita chloridu antimonitého.

Intenzívne fluorescenčné vlastnosti retinolu využil Sobotka a spol. [5] na stanovenie v rybacom oleji. Ako veľa iných aj táto metóda zahŕňa prítomnosť interferujúcich zlúčenín v extrakte vzorky. Erdman a spol. [6] v tom istom čase opísali fluorometrickú metódu na stanovenie vitamínu A, ktorá je špecifická zavedením korekcie pre interferujúce zložky, napr. provitamíny A a iné.

Metóda, ktorá rieši problémy jednotlivých spektrofotometrických, fotometrických a fluorometrických stanovení, je vysokotlaková kvapalinová

M. Špaňár prom. farmaceut, Ing. M. Grodovský, Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 898 13 Bratislava.

chromatografia. Túto metódu vyvinuli Dennison a Kirk [7]. Aktivita vitamínu A je stanovená kvantitatívne obsahom retinolu. Retinol sa uvoľní postupným zmydlením vzorky s alkoholickým roztokom hydroxidu draselného, pričom sa premení retinylester na retinol [8]. Postupnou extrakciou sa retinol separuje z nezmydeliteľných zložiek a stanoví pomocou HPLC (high pressure liquid chromatography), použitím izokratickej elúcie pri teplote prostredia na kolónu μ -Porasil. Retinol bol kvantitatívne stanovený postupným monitorovaním kolónového prietoku buď pri 313 nm, buď pri ohraničenom absorpčnom maxime retinolu 325 nm. Ako sa uvádza v práci Dennisona a Kirka, identifikáciu retinolu potvrdila tenkovrstvová chromatografia a infračervená spektroskopia.

Head a Gibbs [9] opísali gradientovú elúciu HPLC na stanovenie retinolu z nezmydeliteľnej frakcie potravín. Nevýhodou tejto metódy je potreba nového kondicionovania kolóny Li Chrosorb Si 60-0 (Varian Micro-Pak) pred vstreknutím ďalšej vzorky do systému.

Söderhjelm a Andersson [10] vypracovali súčasné stanovenie vitamínu A a E v potravinách použitím reverznej fázy vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou. Zistili výťažok 86 % pre retinylacetát a 91 % pre tokoferylacetát. Retenčné časy boli 4 minúty pre vitamín A a 17 minút pre vitamín E. Štandardná odchýlka sa pohybovala v rozmedzí ± 3 %.

HPLC sa môže aplikovať pri stanovení vitamínu A v rozličných druhoch potravín, ako napr. mlieko, vajcia, pečeň, tekutá detská výživa a i. Výhodou HPLC je, že karotenoidy, pomocné látky a oxidačné produkty vitamínu A neinterferujú pri kvantitatívnom stanovení. Veľká výhoda metódy je najmä rýchlosť analýzy.

Experimentálna časť

Vitamín A sme stanovili vo vzorkách, ktoré sú výrobkami n. p. Palma. Sú fortifikované vitamínom A a E. Majú presne deklarované množstvo vitamínov.

Slnečnicový tuk Heliol má podľa ČSN 58 0220 obsahovať minimálne 7 mg/kg vitamínu A. Slnečnicový tuk Hera podľa ČSN 58 0250 obsahuje 6 mg/kg vitamínu A. Rastlinné maslo Juno má mať obsah vitamínu A podľa ČSN 58 0250 9,6 mg/kg a lahôdkový mliečny tuk Visa 9 mg/kg.

Porovnanie výsledkov stanovenia retinolu podľa HPLC, metódou podľa Landa [11] a ČSN 56 0053 uvádzame v tabuľke 2.

1. Stanovenie vitamínu A vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou

Princíp: Vzorka tuku alebo oleja sa postupne zmydelní. Nezmydeliteľný podiel sa extrahuje hexánom. Po vysušení a zahustení extraktu sa zvyšok v banke rozpustí v mobilnej fáze. Po nastreknutí na kolónku sa absorbancia eluátu stanovuje pri 325 nm a zapisuje zapisovačom. Záznam sa vyhodnotí na základe niektorej zo štandardných metód. V našom prípade na základe výšky píku.

Prístroje a zariadenia: Kvapalinový chromatograf Varian 8500, ktorý má bezpulzovú pumpu a môže pracovať s tlakmi 0—68,6 MPa. Detektor Vari-Chrom s rozsahom absorbancie v UV a viditeľnej oblasti v rozmedzí 200—700 nm. Československý zapisovač TZ 21 S.

Pracovný postup: K návažku vzorky pridáme 50 ml alkoholického roztoku KOH (10 g KOH sa za stáleho miešania rozpustí v 100 ml odmernej banke v 50 ml 90 % etanolu a po rozpustení sa doplní objem po značku) a vzorka sa zmydelňuje vo vriacom vodnom kúpeli 30 min v atmosfére dusíka. Po zmydlení (pridaním malého množstva vody sa roztok nesmie zakaliť) pridáme 50 ml destilovanej vody a extrahujeme štyrikrát s 30 ml hexánu. Spojené hexánové výtrepky premyjeme dvakrát destilovanou vodou. Hexánový extrakt vysušíme bezvodným síranom sodným, prefiltrujeme a odparíme do sucha na rotačnej vákuovej odparke. Odparok zriedime mobilnou fázou (hexán s 1,5 % izopropanolom) a nastrekne príslušný objem na kolónu.

2. Stanovenie vitamínu A podľa Langa

Princíp: Podstata stanovenia vitamínu A podľa Langa spočíva v tom, že retinol vyvoláva v prakticky bezvodnom prostredí, napr. v chloroforme s vhodnými zlúčeninami kyseliny sírovej (v tomto prípade s *p*-toluénsulfónovou kyselinou) spolu s kyselinou mravčou intenzívne modré sfarbenie, ktoré sa zmení na veľmi stabilnú fialovú farbu [11].

Reagencia: Roztok 1 : 1 g *p*-toluénsulfónovej kyseliny sa rozpustí v 90 ml chloroformu a pred použitím sa pridá 10 ml octového anhydridu. Roztok 2: koncentrovaná kyselina mravčia.

Referenčný roztok vitamínu A: Štandard vitamínu A so známym obsahom vitamínu sa rozpustí v 100 ml chloroformu. Vhodná je napr. kapsula firmy Vegan-Merck-Bayer, ktorá obsahuje 15,0 mg vitamínu A ako retinolu, čo je ekvivalentné 17,2 mg octanu retinolu.

Zriedený roztok štandardu: 10,0 ml základného štandardného roztoku zriedime do 100,0 ml v odmernej banke chloroformom. 1 ml zriedeného roztoku obsahuje 15 µg vitamínu A ako retinolu.

Prístroje a zariadenia: Spektrofotometer pre viditeľnú oblasť.

Pracovný postup: Zmiešame 5,0 ml chloroformového roztoku nezmydeliteľného podielu vzorky alebo priamo roztok vzorky v chloroforme s 1 ml reagenčného roztoku kyseliny *p*-toluénsulfónovej a 1 ml koncentrovanej kyseliny mravej. Za prítomnosti vitamínu A vznikne tmavomodré sfarbenie, ktoré sa zmení za 2—5 minút na fialové. Absorbanciu meriame po 15 minútach pri 545 nm.

Reakcia je pozitívna už za prítomnosti 1,5 µg retinolu v 1,0 ml. Výpočet urobíme na základe odčítania koncentrácie retinolu z kalibračnej krivky.

3. Stanovenie vitamínu A podľa ČSN 56 0053

Stanovenie retinolu spočíva v tom, že sa retinol stanoví kolorimetrickým zmeraním intenzity modrého sfarbenia, ktoré vznikne reakciou s chloridom antimonitým. Predchádza tomu príprava vzorky k vlastnému stanoveniu, a to zmydlenie vzorky a extrakcia nezmydeliteľného podielu a zostrojenie kalibračnej krivky z referenčnej vzorky vitamínu A.

Množstvo vitamínu A v mg/100 g vzorky sa vypočíta:

$$x = \frac{c \cdot V}{m \cdot 1000} \cdot 100,$$

kde c je počet μg vitamínu A v 1,0 ml — odčítané z kalibračnej krivky, V je objem chloroformu v ml, m je návažok vzorky v g.

Tabuľka 1. Stanovenie retinolu HPLC

Meranie	Juno	Heliol	Visa	Hera
		Výška píku (cm)		
1	7,6	5,9	6,5	5,0
2	7,2	6,0	6,6	4,9
3	7,8	6,0	6,7	4,8
4	7,2	6,4	6,5	4,8
5	7,2	6,1	6,7	5,1
Retinol ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				
1	20,6	16,4	18,4	14,1
2	20,4	16,6	18,6	13,6
3	22,2	16,6	19,0	13,4
4	20,4	18,0	18,4	13,4
5	20,4	17,2	19,0	14,4
\bar{x}				
priemer	20,80	16,96	18,68	13,78
s_x				
smerodajná odchýlka	0,788	0,654	0,500	0,448

Základné charakteristiky stanovenia:

Citlivosť	1
Detekcia	325 nm
Tlak pumpy	5 MPa
Prietok	90 ml/h
Kolónka	MICRO-PAK Si-10 (dlhá 25 cm)

Na základe uvedených výsledkov môžeme tvrdiť, že stanovenie retinolu vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou je metódou selektívnejšou, citlivejšou v porovnaní s metódou ČSN 56 0053 a stanovením podľa Langa, i keď sme neskúšali odstrániť pomerne zdĺhavý proces zmydelňovania a extrakcie vzorky, ako je to pri stanovení tokoferolov [12]. V porovnaní s ČSN 56 0053 odpadá práca s pomerne škodlivým chloridom antimonitým. Nevýhodou stanovenia podľa ČSN 56 0053 je nestálosť farebnej reakcie a citlivosť na vlhkosť. Činidlo veľmi ľahko už stopami vlhkosti hydrolyzuje, čo spôsobuje vznik zákalu a znemožňuje vlastné stanovenie. Farebná reakcia je veľmi citlivá, ale sfarbenie je nestále. Stanovenie vitamínu A kyselinou *p*-toluénsulfónovou je menej citlivé v porovnaní s metódou podľa Carra—Pricea. Výhodou je stálosť farebnej reakcie. Hodnoty, aké uvádza tabuľka 2, blížia sa hodnotám podľa ČSN 56 0053.

Jedna z hlavných úloh potravinárskej chémie je vyvíjanie presnejších a účin-

Tabulka 2. Porovnanie stanovení retinolu podľa jednotlivých metód

Vzorka	ČSN 56 0053 mg.kg ⁻¹	HPLC mg.kg ⁻¹	Lang mg.kg ⁻¹
Hera	10,8	13,7	10,0
Visa	10,5	18,6	12,5
Heliol	14,0	16,9	13,6
Juno	14,6	20,8	16,3

Poznámka: Stanovenie jednotlivými metódami sa robilo na totožných vzorkách.

nejších metód analýzy potravín. Vysokotlaková kvapalinová chromatografia je technikou, ktorá si neustále nachádza nové aplikácie v tejto oblasti.

Súhrn

Vysokotlaková kvapalinová chromatografia je rýchla, špecifická a poskytuje veľa výhod oproti štandardnej metóde podľa ČSN 56 0053.

Literatúra

1. TAKAHASHI, K. — NAKANUJIMA, Z. — KAWAKANI, K.: Sci. Pap. Ind. Phys. Chem. Res., Tokio, 3, 1925, s. 81.
2. MORTON, R. — HEILBRON, I. — SPRING, F. S.: Biochem. J., 24, 1930, s. 136.
3. GLOVER, J. — GOODWIN, T. W. — MORTON, R. A.: Biochem. J., 41, 1947, s. 94.
4. MÜLLER, P. B.: Helv. Chim. Acta, 27, 1944, s. 443.
5. SOBOTKA, H. — KANN, S. — LOWENSTEIN, J.: J. Amer. Chem. Soc., 65, 1943, s. 1959.
6. ERDMAN, J. — HOU, S. — La CHANCE, P.: J. Food Sci., 38, 1973, s. 447.
7. DENNISON, D. — KIRK, J.: J. Food Sci., 42, 1977.
8. KIRK, J. R.: AOAC, 60, 1977, s. 1235.
9. HEAD, M. — GIBBS, E.: J. Food Sci., 42, 1977, s. 395.
10. SÖDERHJELM, P. — ANDERSSON, B.: J. Sci. Food Agric., 29, 1978, s. 697.
11. LANG, H. — LANG, E.: Deutsche Lebensmitt. Rundschau, 73, 1977, s. 5.
12. ŠPANÁR, M. — GRODOVSKÝ, M.: Stanovenie lipofilných vitamínov vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou. I. Bull. VÚP, 20, 1981, č. 2, s. 29—32.

М. Шпаняр — М. Гродовски

Определение липофильных витаминов с помощью высоконагнетательной жидкостной хроматографии. II

Резюме

Высоконагнетательная жидкостная хроматография является скорым, специфическим методом. Оказывает много преимуществ в сравнении со стандартным методом по ЧСН.