

Gyors fotometriás eljárás L-aszkorbinsav mérésére
természetes anyagokban és ipari termékekben

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

K a r d o s É v a

JÓZSEF ATTILA TUDOMÁNYEGYETEM SZERVES KÉMIA TANSZÉK

S z e g e d

1974

TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
Bevezetés	1.
Irodalmi áttekintés	
1. Az aszkorbinsav táplálkozásélettani szerepe	
1.1. Az emberi szervezet C-vitamin szükséglete .	2.
1.2. A C-vitamin biológiai funkciói	3.
1.3. C-vitamin források	8.
1.4. Fontosabb C-vitamin hatású vegyületek fizikai kémiai tulajdonságai	10.
1.5. Az aszkorbinsav bioszintézise	12.
1.6. Az aszkorbinsav bomlása	16.
1.7. Az aszkorbinsav bomlását befolyásoló tényezők az élelmiszeripari feldolgozás és tárolás során	22.
1.8. Az aszkorbinsav szerepe az enzimes és nem enzimes élelmiszerbarnulásoknál	24.
1.9. Élelmiszerek C-vitaminnal való dúsításának lehetőségei	27.
2. C-vitamin meghatározási módszerek kritikai elemzése	29.
2.1. Titrimetriás - oxido-redukciós - módszerek	30.
2.2. Szinreakción alapuló meghatározások	36.
2.3. Kromatográfiás eljárások	39.
2.4. Polarográfiás meghatározás	42.

1. Az aszkorbinsav mennyiségi meghatározása kálium- hexaciano-ferrát/III/ oldattal, fotométeres kiértékeléssel	45.
1.1. Mérések kivitelezése	47.
1.2. A reakciókörülmények pontos megválasztása és a szinképződésre való hatása	48.
1.3. A berlinikék színreakción alapuló aszkor- binsav meghatározás	54.
1.4. Az eljárás alkalmazása gyümölcs- és zöldség- félék aszkorbinsavtartalmának mérésére . . .	57.
2. Néhány aszkorbinsav meghatározási módszer össze- hasonlítása	61.
3. Egyes ipari készítmények aszkorbinsavtartalmá- nak alakulása tárolás alatt	69.
4. Diskusszió	93.
5. Összefoglalás	113.
Irodalom	116.

B E V E Z E T É S

A C-vitamin tartalom meghatározása még ma is az élelmiszeranalitika legnehezebb feladatai közé tartozik. Egyrészt azért, mert a vegyület gyorsan oxidálódik, másrészt mert természetes forrásaiban a meghatározást egyéb redukáló anyagok bizonytalanná teszik.

Kísérleteink során a C-vitamin berlinikék színreakción alapuló meghatározásának lehetőségét vizsgáltuk, kerestük azokat a reakciókörülményeket, melyek biztosítják a vitamin kvantitatív mérésének feltételeit.

Az általunk leírt módszerrel mértük néhány gyümölcs és zöldségféle valamint négy különböző, C-vitaminnal dúsított készítmény vitamintartalmának alakulását, szem előtt tartva az ipar égető problémáját: hogyan lehet biztosítani a 6 hónapos szavatossági idő végéig az előírásnak megfelelő C-vitamin-tartalmat.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. Az aszkorbinsav táplálkozásélettani szerepe

1.1. Az emberi szervezet C-vitamin szükséglete

Az emberi szervezetben két vegyület, az L-aszkorbinsav és reverzibilisen oxidálható formája, az L-dehidroaszkorbinsav, mutatnak C-vitamin hatást.

A napi szükséglet a többi vitaminhoz képest viszonylag magas. Minimálisan 20 mg-ot kell naponta a szervezetbe juttatni a vitamin hiánybetegség tüneteinek megelőzésére, de 50-75 mg bevitele ajánlatos. Terheseknek és pubertás korban lévőeknek napi 100-200 mg szükséges. Emelkedik a szervezet C-vitamin igénye megerőltető fizikai munkavégzés, erős sportteljesítmények, lázas megbetegedések alkalmával. Különös gondot kell fordítani a terhes anyák és csecsemők megfelelő C-vitamin ellátottságára. Csecsemőknél a vitaminhiány erősen befolyásolja a növekedést, fejlődést, a szervezet ellenállóképességét.

A Szovjetunióban történt felmérések alapján a napi C-vitamin normák a következők /2/:

Felnőtteknek, közepes munka mellett	70 mg
Felnőtteknek, nehéz testi munka, vagy erős szellemi igénybevétel esetén	100 mg

Felnőtteknek, nagyon nehéz testi munka, vagy igen erős szellemi igénybevétel esetén	120 mg
Terhes nőknek	100 mg
Szoptató anyáknak	120 mg
Gyermekeknek egy éves korig	30 mg
Gyermekeknek 1-3 éves korig	40 mg
Gyermekeknek 4-6 éves korig	50 mg
Gyermekeknek 7-12 éves korig	60 mg
Gyermekeknek 13-15 éves korig	70 mg
Gyermekeknek 16-22 éves korig	70 mg

Hideg időjárás esetén a C-vitaminszükséglet 30-50 %
kal növekszik.

A szervezet aszkorbinsav készletéről tájékozódást
lehet nyerni a vér és vizelet, ill. a fehérvértetek vi-
tamintartalmának megállapítása révén. A plazma 100 ml-e
kb. 1 mg aszkorbinsavat tartalmaz, illetve 100 g leuko-
citában normális körülmények között 25-40 mg aszkorbinsav
van /1/.

1.2. A C-vitamin biológiai funkciói

Az aszkorbinsav élettani szerepe igen sokrétű, részt-
vesz a sejtlégzésben, mint hidrogén átvivő, kötőszövet
szintézisében serkentőleg hat az építő sejtekre /rostépi-

tők, csontépítők/. Szerepet játszik a tirozin anyagcserében, a folsav fólinsavvá történő átalakításában, oxidoredukciós folyamatokban, enzimgátlásban /3/.

Az aszkorbinsav növényeknél növekedési tényező, de tápláló anyag is. Az állatok /a majom és tengerimalac kivételével/ valamint a növények szintetizálják. Ezeknél hormonhatású vegyületként fogható fel /4,5/.

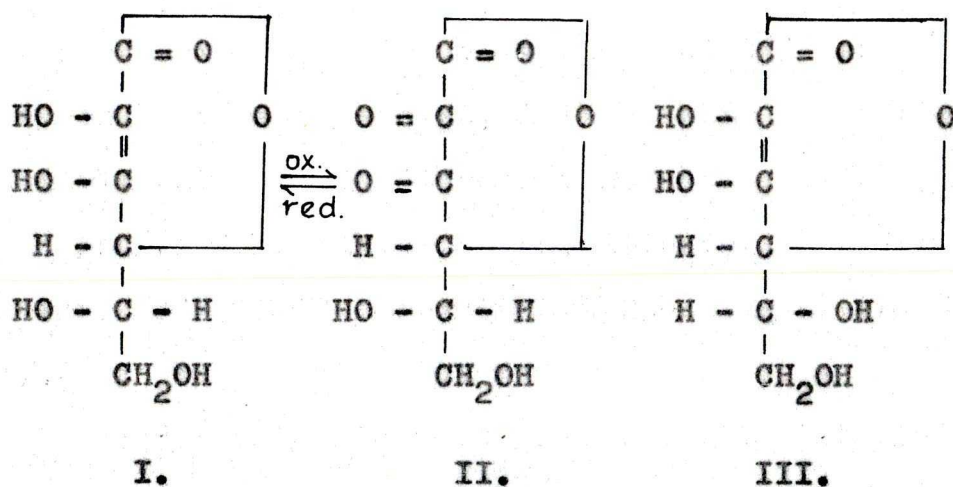
Az aszkorbinsav hiánybetegsége a skorbut, melynek jellemző tünetei általános gyengeség, zavart szív működés, vérzékenység, fogak lazulása illetve kihullása, sebek lassu gyógyulása stb. Dagadt és vérző foghús általában a C-vitamin hiányát jelzi. Lehetnek bizonyos elváltozások a csontokban is: pl. fokozott törékenységi és a fogak dentinjének szerkezetváltozása.

A mai táplálkozásélettani kutatásoknak nem a teljes vitaminhiányos táplálkozás a problémája, hanem az ún. hipovitaminózisos állapot, amikor a szervezetnek rendelkezésére áll ugyan a vitamin, de az a megnövekedett igény, vagy a rossz felhasználás miatt nem fedezi teljesen a szükségletet. A tavaszi fáradtság, a csont és végtagfájdalmak ugyancsak a C-vitamin hiányos táplálkozással hozhatók összefüggésbe.

A vitaminhiányos megbetegedés esetén a gyógyulási reakciók lényegesen lassabbak lehetnek. Főleg ilyen ese-

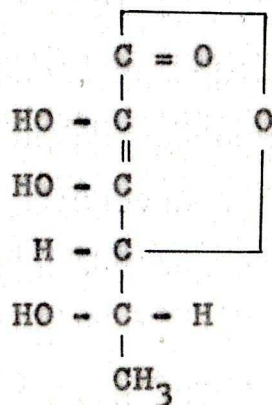
tekben kell az étrendet úgy összeállítani, hogy tudatosan segítse elő az egészség helyreállítását, illetve megvédését. A C-vitaminnal jól ellátott szervezet hatásosabban tud védekezni a különféle kórokozókkal szemben is. Ismert tény, hogy a szervezet a C-vitamint sem raktározni, sem szintetizálni nem képes, ezért pótlásáról állandóan gondoskodni kell, mivel a C-vitamin vízoldható, a szervezet a felesleget a vizelettel kiüríti.

A C-vitaminhatás összefügg bizonyos szerkezeti sajátságokkal. Az aszkorbinsavnak két aszimmetriás szén-atomja van /C₄ és C₅/, így négy izomerje lehetséges. Ezek közül csak az L-aszkorbinsav/I./ és a D-arabaszkorbinsav/III./ hatásosak.

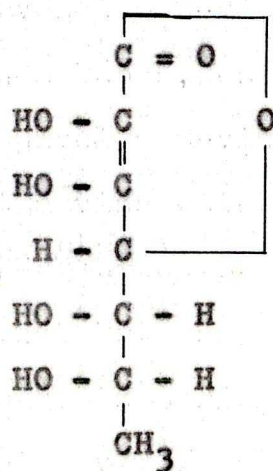


A fentiekből következik, hogy a biológiai aktivitást a C₄ atomon kialakult konfiguráció dönti el, tehát a jobb oldali laktongyűrű.

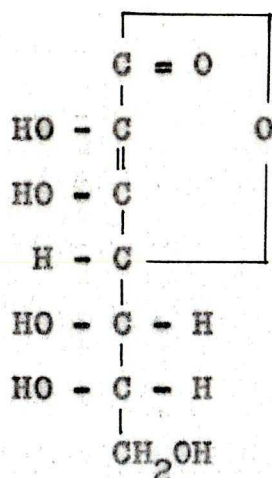
A lánchossz és a C₅-atom konfigurációja nem játszik döntő szerepet, amit az alábbi vegyületek vitamin jellege bizonyít.



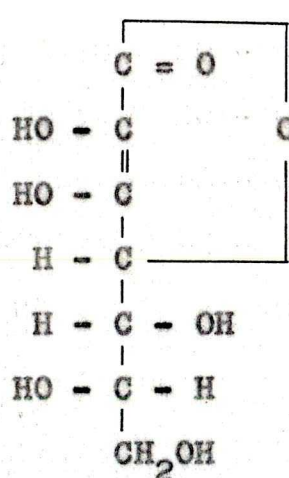
IV.



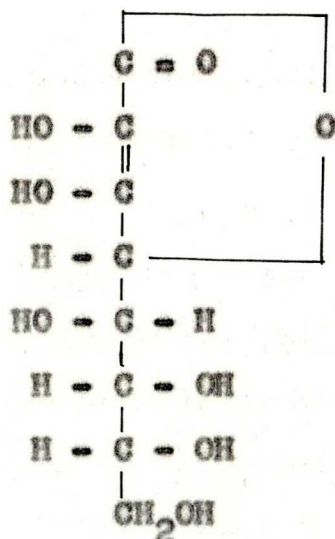
V.



VI.



VII.



VIII.

A C-vitamin jellegű vegyületek hatásossága /3/:

L-askorbinsav /I./	100 %
L-dehidroaskorbinsav /II./	100 %
6-dezoxi-L-askorbinsav /IV./	33 %
L-ramno-askorbinsav /V./	20 %
D-arabo-askorbinsav /III./	5 %
L-glüko-askorbinsav /VI./	2,5 %
L-fuko-askorbinsav /VII./	2,0 %
D-glüko-hepto-askorbinsav/VIII./	1,0 %

Az újabb kutatási eredményekben figyelemre méltóak azok a kísérletek, melyeket a természetes és szintetikus C-vitamin biológiai hatásosságának összehasonlítására végeztek. Bebizonyosodott, hogy a természetes forrásokban lévő askorbinsav élettani értéke jóval erősebb és tartó-

sabb, mint a mesterségesé.

A természetes vitaminforrásokban az Ősmagukban hatástalan flavonok fokozzák a vitaminhatást, de lehetséges, hogy a gyümölcsök egyéb bioelemei is szerepet játszanak a biológiai érték növelésében /6/.

1.3. C-vitamin források

Legfontosabb C-vitamin forrásaink a friss gyümölcsök és zöldségfélék. Ezekből a nyári és őszi hónapokban a lakosság minden rétege számára elérhető az a mennyiség, amely fedezi a szervezet C-vitamin szükségletét.

Más a helyzet azonban télen és tavasszal, amikor a természetes friss zöldségek és gyümölcsök nagyrészt hiányoznak étrendünkől. Nehezíti a vitaminellátást az a körülmény is, hogy a hosszú tárolás következtében a C-vitamin tartalom jelentősen csökken. Pl.: a népielnevezési cikknek számító burgonya C-vitamin tartalma a kezdeti 20 mg%-ról kora tavaszra 7-10 mg%-ra csökken.

A C-vitamin táplálkozásélettani szerepéből adódóan az élelmiszeripar az utóbbi időben törekszik C-vitaminban gazdag készítmények gyártására és azok széleskörű elterjesztésére. Ezek között a termékek között első helyen kell említeni a süritett paradicsomot és a pritamint. Az utóbbi vitamintartalma 300 mg/100 g.

1. táblázat

Fontosabb táplálékaink C-vitamin tartalmát az alábbi táblázat mutatja

Táplálék	C-vitamin tartalom mg/100 g	Táplálék	C-vitamin tartalom mg/100 g
Sav.káposzta	50	Egres	15-25
Karfiol	50	Birsalma	8
Hónaposretek	20	Földieper	40
Borsó	20	Sárgadinnye	15
Karalábé	20	Görögdinnye	5
Paraj	15	Áfonya	8
Paradicsom	15	Datolya	3
Burgonya	12	Füge	4
Zöldbab	10	Csipkebogyó	200
Alma	3-10	Narancs	40
Körte	4-5	Mandarin	20-40
Szilva	5	Grape-fruit	50
Kajszibarack	8-10	Citrom	60
Őszibarack	9-10	Banán	10
Cseresznye	10	Tej	2
Meggy	10-12	Halhus	1
Szőlő	4	Marhahus	1
Málna	20	Sertéshus	1
Ribizke	20	Kenyér	0

A gyorsfagyasztott készítmények elterjedése szintén javítja a C-vitamin ellátást, mivel ezekben jobban megőrződik a vitamintartalom, mint a hőkezeléssel tartósított készítményekben.

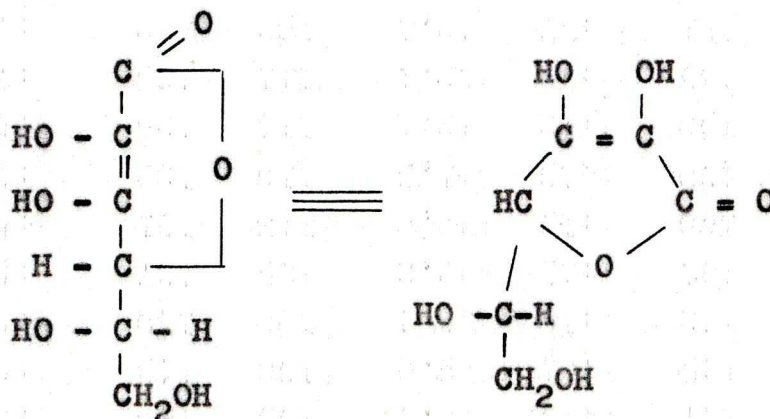
Néhány évvel ezelőtt kezdték el a C-vitaminnal dúsított élelmiszerek gyártását. Ezek közül a C-vitaminos sajt, gyümölcslevek és szörpök a legjelentősebbek. Az ilyen dúsított készítmények fogyasztásával napi 50 mg C-vitaminhoz juthatunk /7/.

1.4. Fontosabb C-vitamin hatású vegyületek fizikai, kémiai tulajdonságai

L-Aszkorbinsav

Fehér, kristályos anyag, mikroszkópikus méretű tűk jellemzik. O.p. 193°C . Fajlagos forgatóképessége $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24^{\circ}$. Az aszkorbinsavnak az ultraibolya tartományban (245 nm) van jellemző abszorpciós maximuma. Kristályos formában viszonylag stabil, de vizes oldatban /különösen semleges és lúgos pH-értéken/ könnyen bomlik: oxidálódik. Ezt a folyamatot oxigén jelenléte, hőhatás, enzimek, nehézfém-nyomok, egyes szerves savak katalizálják.

Kémiai szempontból az aszkorbinsav öttagu gyűrűt tartalmazó lakton.



L-askorbinsav

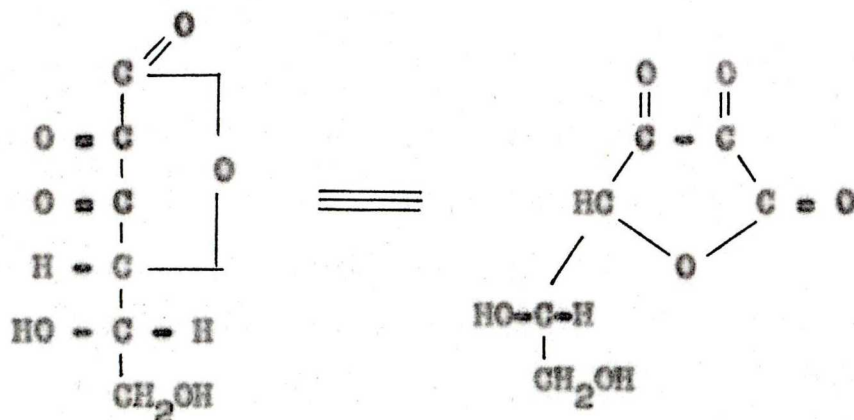
Savjellegét a furanoid gyűrűben lévő két vicinális enolos hidroxilcsoport okozza, melyek a karbonil szénatom mellett vannak /8/.

L-Dehidroaskorbinsav

Fehér, kristályos anyag. O.p. 225-227 °C. Fajlagos forgatóképessége: $[\alpha]_D^{20} = + 56^\circ$.

Az L-askorbinsav reverzibilis oxidáció következtében L-dehidroaskorbinsavvá alakul. A reverzibilitás következménye, hogy a szerkezet számára mindkét forma vitamin hatású.

Savas tulajdonságot nem mutat. Kénhidrogénnel, hidrogénjodiddal visszaredukálható L-askorbinsavvá /8/.



L-dehidroaszkorbinsav

Aszkorbigén

A fehérjékhez kötött aszkorbinsavat nevezzük aszkorbigénnek. A növényi szövetekben előforduló aszkorbinsav 70 %-a aszkorbigén.

Oxidálószerekkel, enzimekkel szemben ellenállóbb, semleges kémhatású, mégis friss oldatban a pH érték csökken. Hig savval L-aszkorbinsav hasítható le. Lugokban cukorkomponensek keletkeznek, az ilyen oldatból már nem állítható elő L-aszkorbinsav.

Biológiailag az aszkorbigén hatástalan, de aszkorbinsavvá alakulva hatásos /8/.

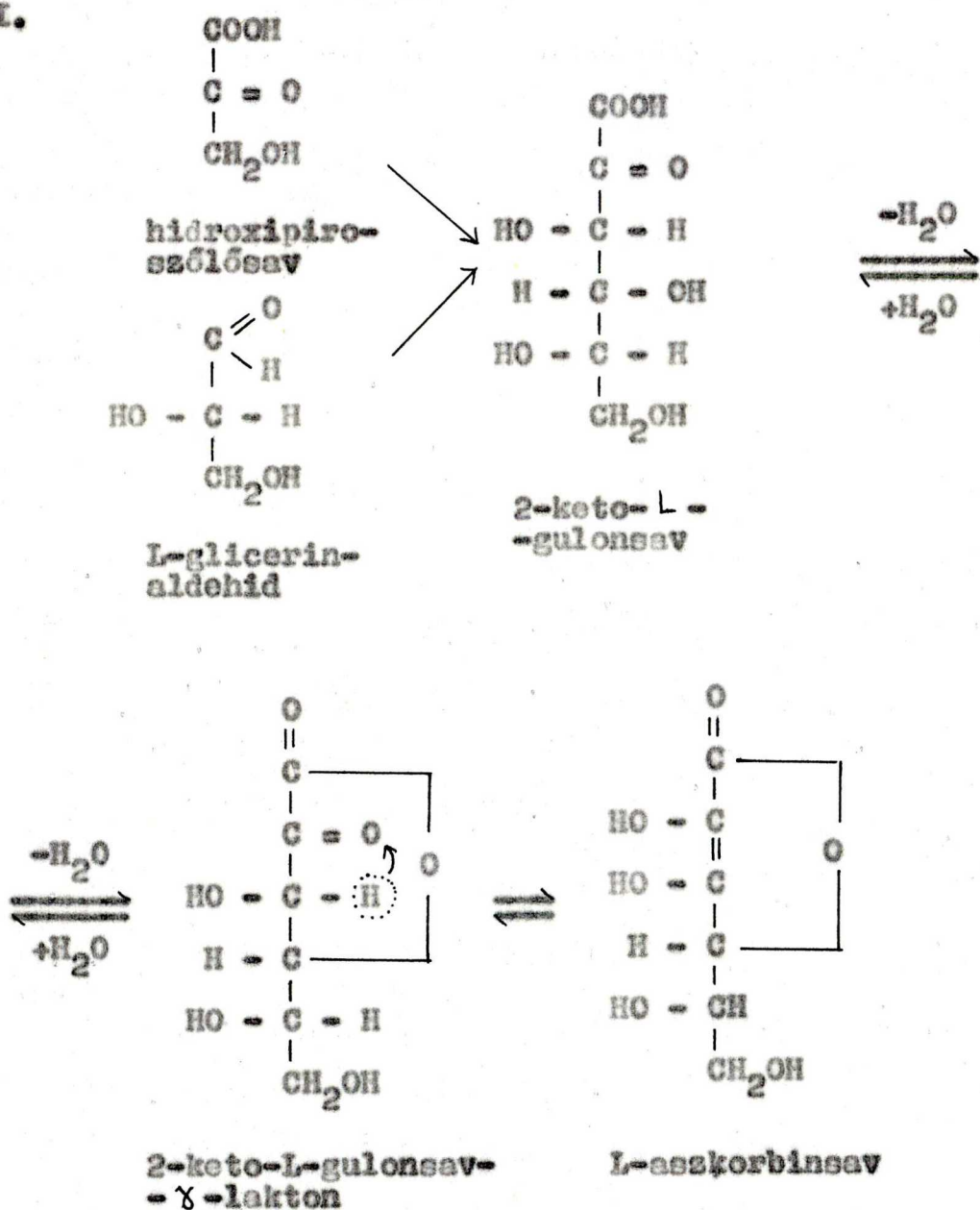
1.5. Az aszkorbinsav bioszintézise /3/

Az aszkorbinsav szerkezetileg igen közel áll a hexózokhoz, különösen a glükózhoz. Ezek szinte természetesen

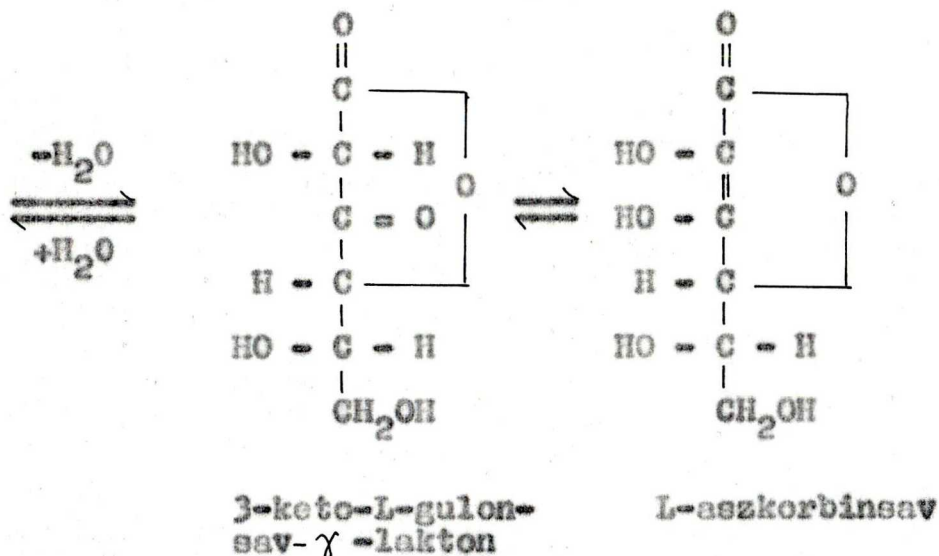
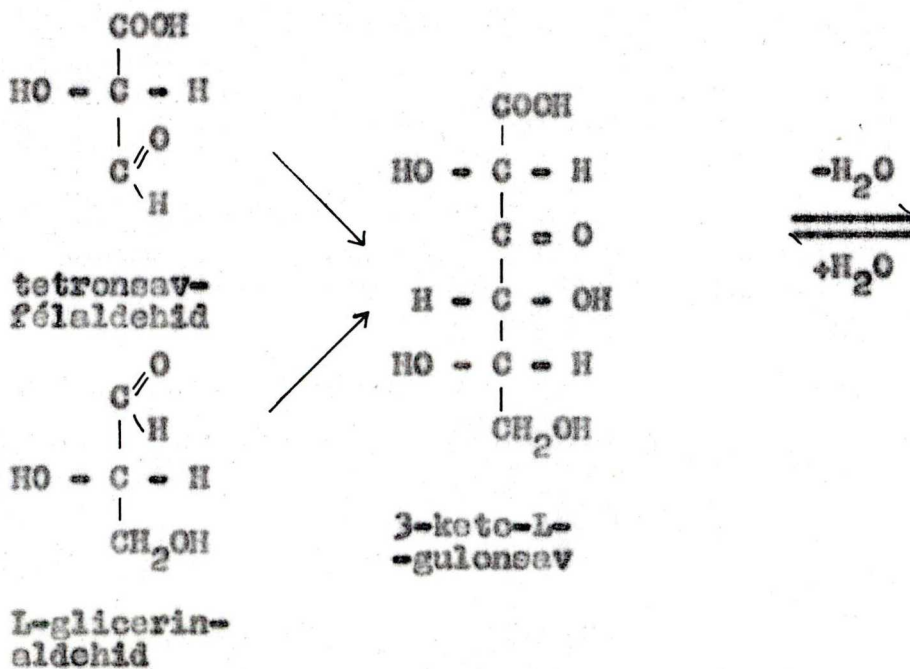
kinálkoznak a bioszintézis alapanyagaként. Mivel azonban a hexózok bioszintézise C_3 -vegyületekkel kapcsolatos, az aszkorbinsav képződése cukrokból kétféle utat követhet: közvetett és közvetlen átalakulás lehetséges.

Közvetett átalakulás két legvalószínűbb lehetősége:

I.



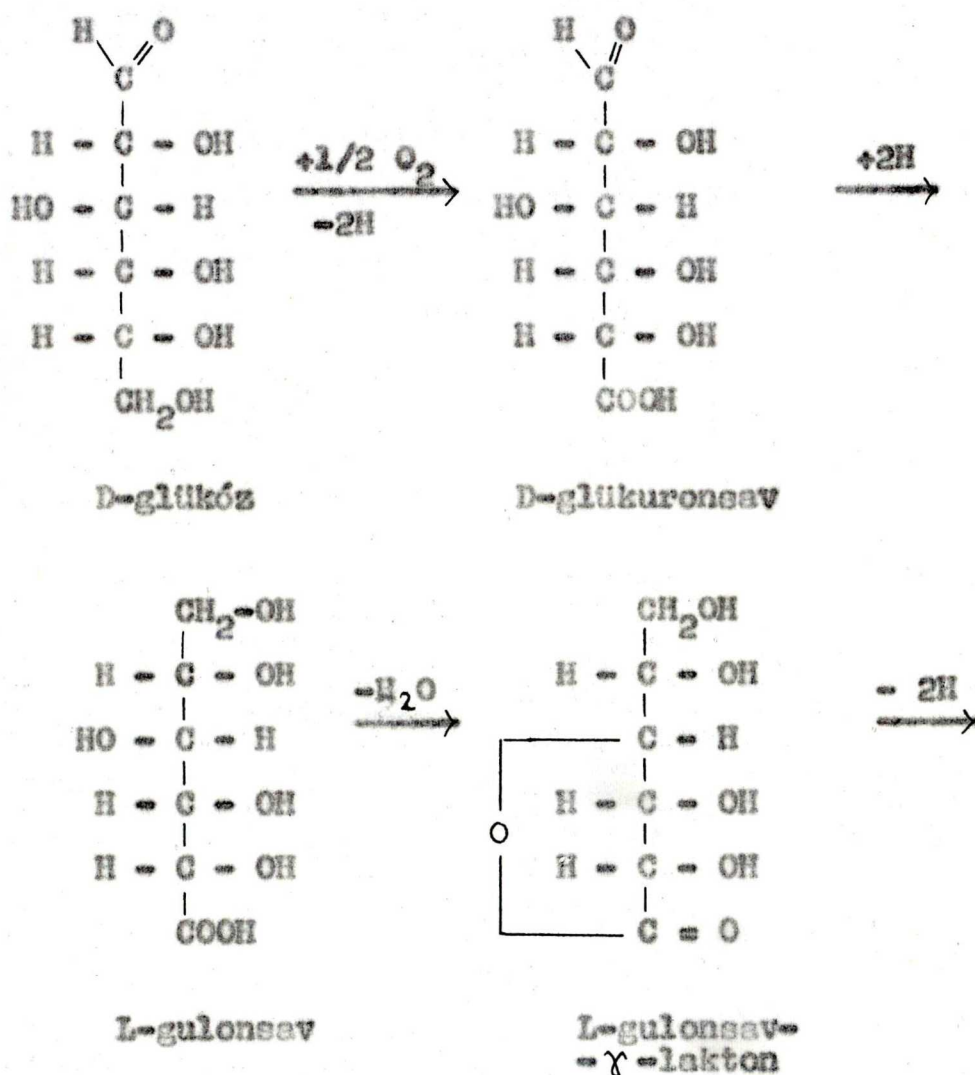
II.

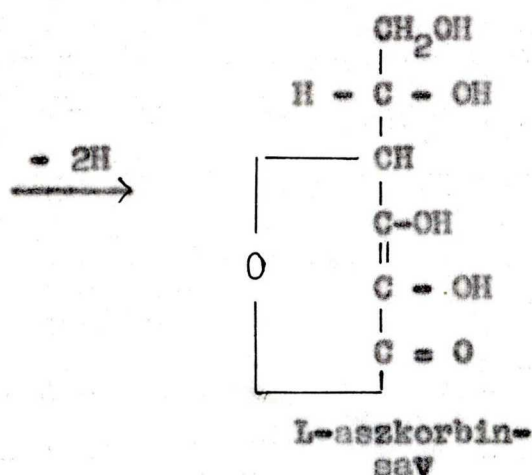


Ennek az elm\u00e9letnek megfelel\u0151en keletkezik 3-keto-L-gulonsav- γ -lakton az L-aszkorbinsavval tautom\u00e9r egyens\u00falyban van. Viszont olyan enzimet ezideig m\u00f3g nem siker\u00fclt

elkülöníteni állati vagy növényi szervezetben, mely a 2-keto-L-gulonsavat aszkorbinsavvá alakítaná.

A közvetlen átalakulásakor az aszkorbinsav a hexózlánc hasadása nélkül képződhet a következő módon:



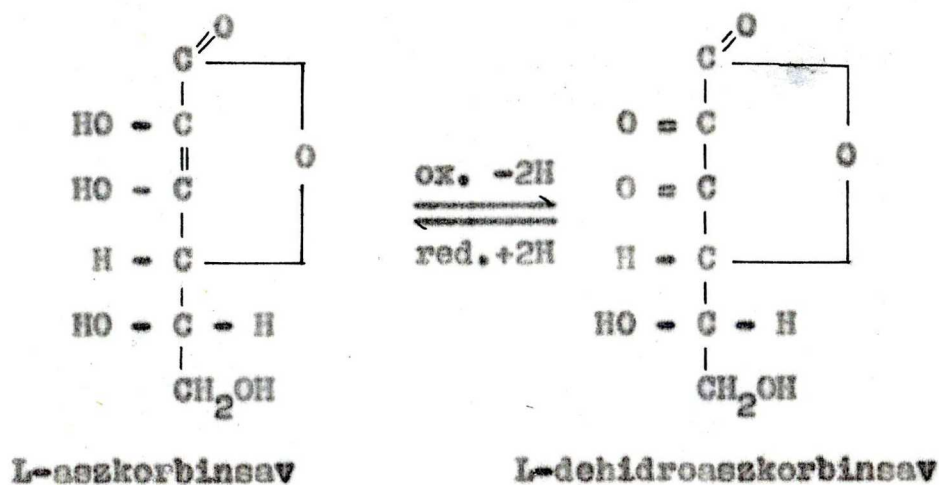


A bioszintézis feltétele, hogy az aldohexóz C₂ és C₃ szénatomjának konfigurációja D ill. L legyen. Ez a feltétel a D-glükóz és D-galaktózoknál teljesül, viszont a D-mannóz nem felel meg ennek a követelménynek.

1.6. Az askorbinsav bomlása

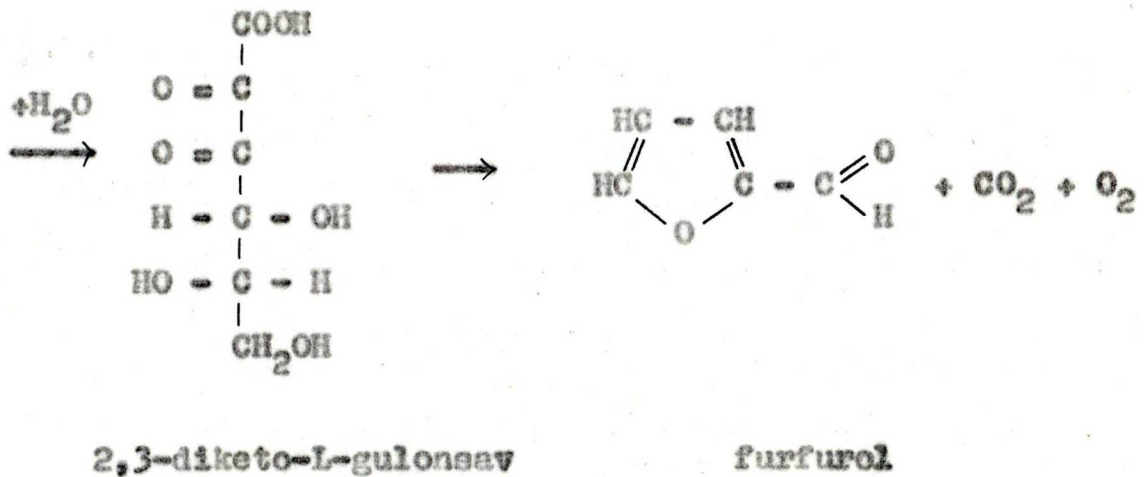
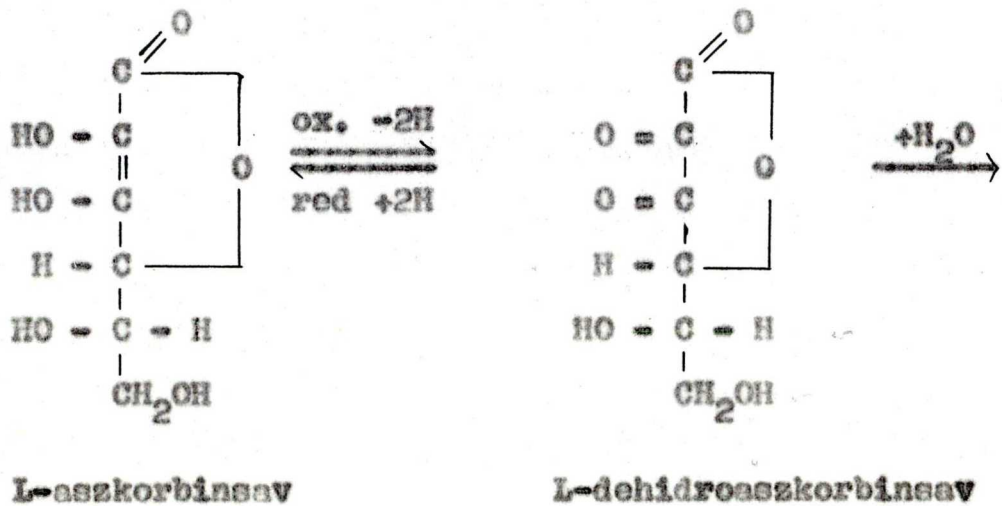
Az askorbinsav legjellemzőbb tulajdonsága, hogy reverzibilisen oxidálódik, és dehidroaskorbinsavvá alakul.

A folyamat megfordíthatósága miatt a szervezetben mindkét forma vitaminhatású.



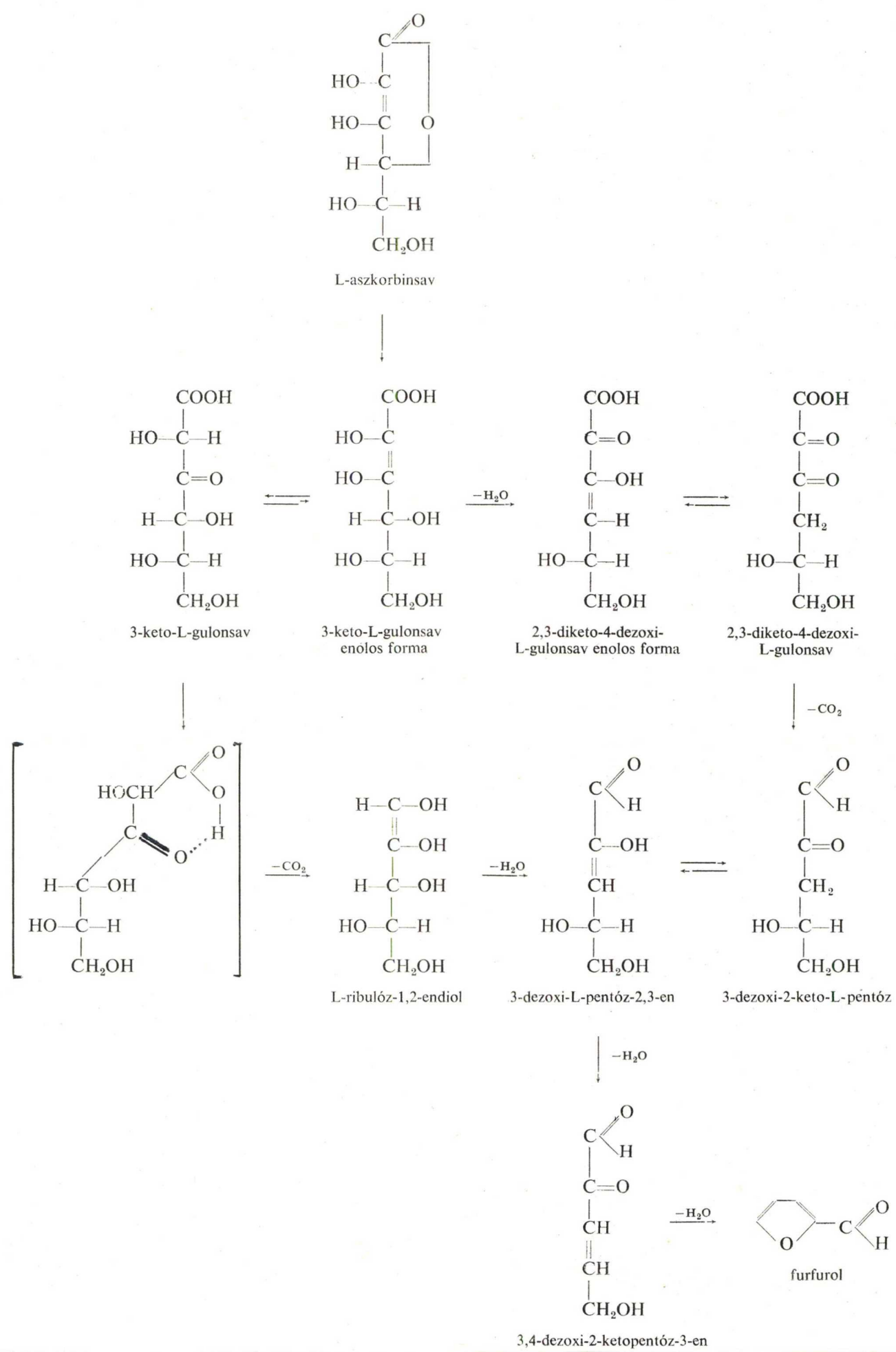
A további irreverzibilis átalakulásról, melynek során teljesen elveszti vitaminhatását, több teória látott napvilágot.

Snajdman /9/ szerint savanyu közegben a következőképp játszódik le az aszkorbinsav bomlása:

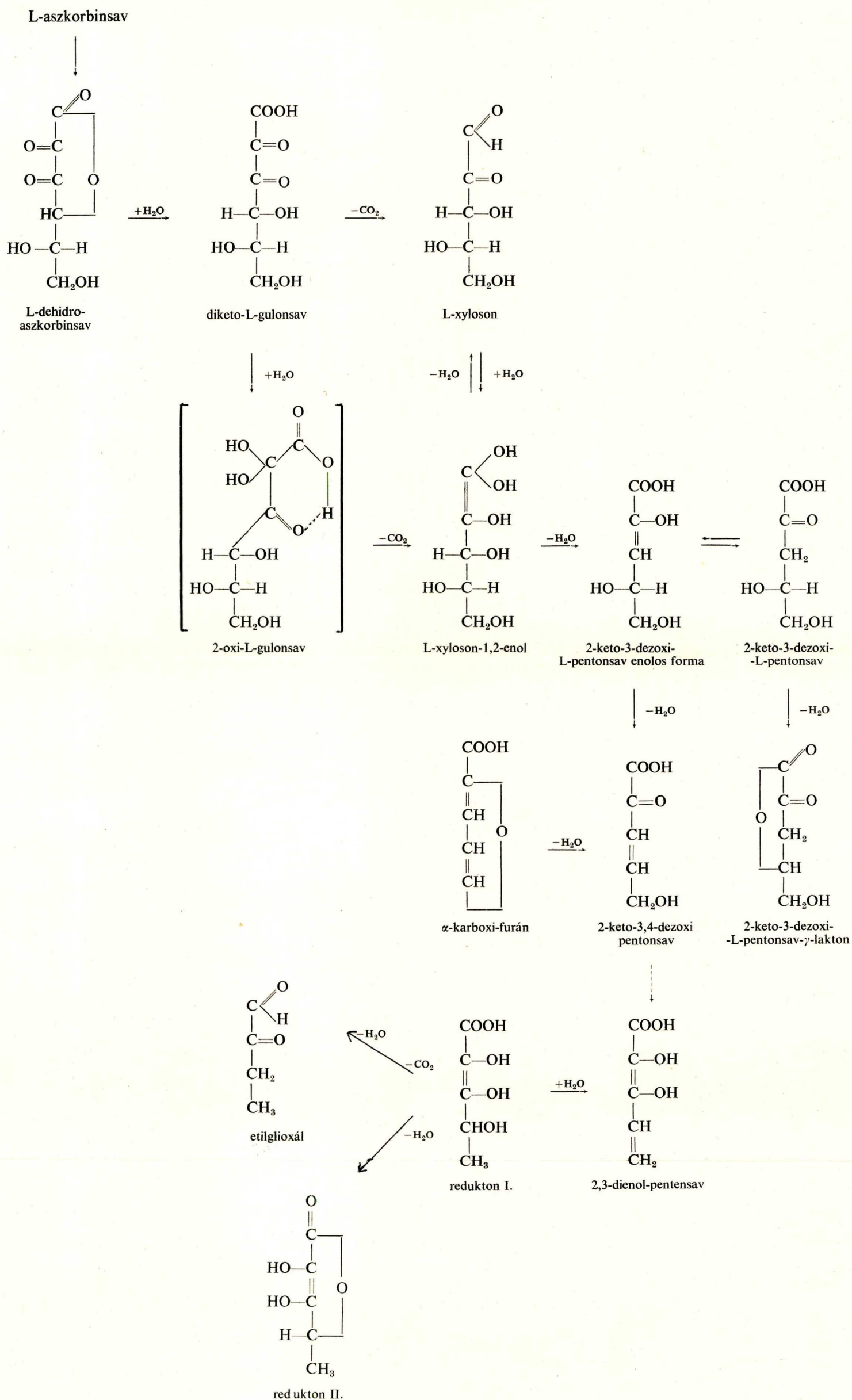


Borsecok és munkatársai /10/ fentiektől eltérő mechanizmust feltételeztek az átalakulásra.

AZ L-ASZKORBINSAV NEM OXIDATÍV BOMLÁSA



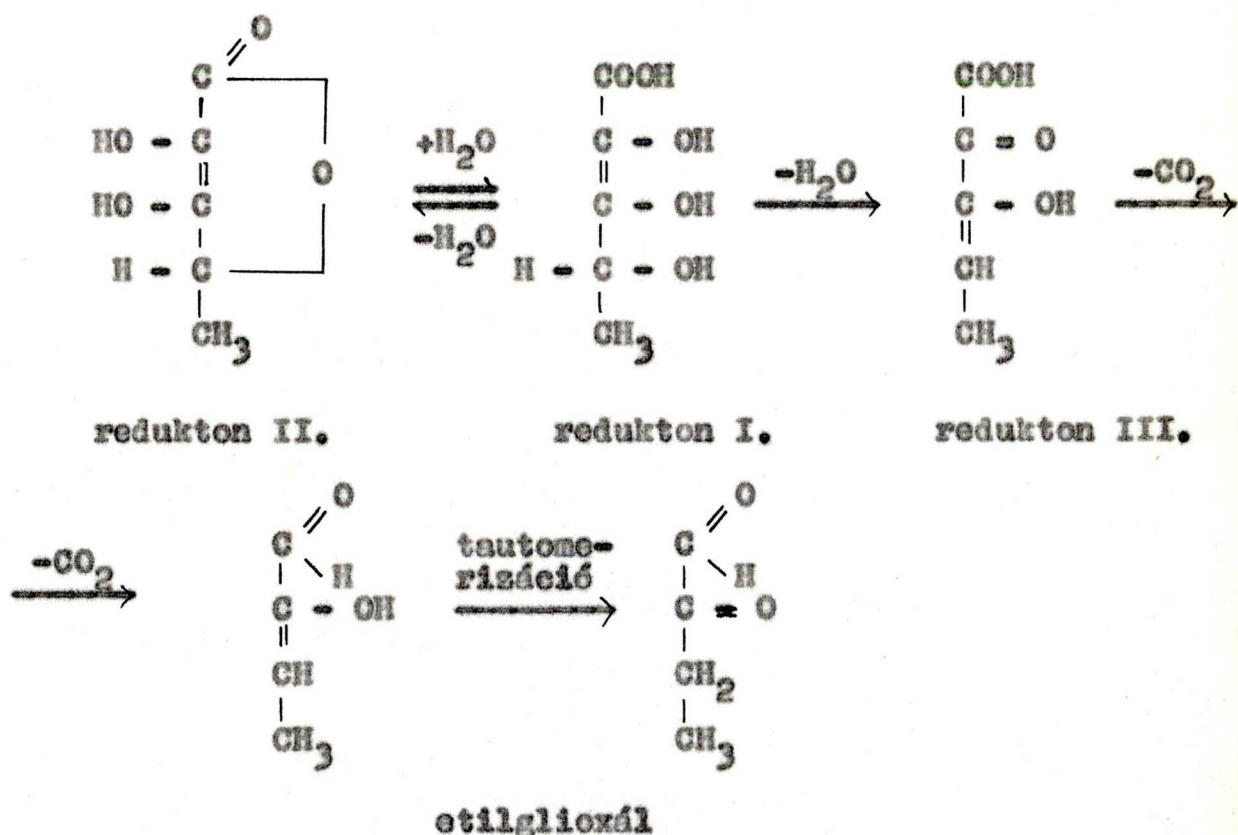
AZ L-ASZKORBINSAV OXIDATÍV BOMLÁSA



Tömény, édesített gyümölcslevek elszíneződését az adagolt szacharózból származó D-fruktóz okozza. De azoknál a gyümölcslevekénél, melyekben igen magas az aszkorbinsav-tartalom a bomlásért az aszkorbinsav felelős.

A szerzők azt is kimutatták, hogy az aszkorbinsav egy bizonyos mennyisége - még oxidatív tárolási körülmények között is - nem oxidatív úton bomlott le.

Az etilglioxál képződésénél még nem bizonyított, hogy a dekarboxileződés vagy a dehidratáció az első lépés. Az alábbi feltételezés szerint valószínűbb a dehidratáció elsőbbsége:



1.7. Az aszkorbinsav bomlását befolyásoló tényezők
az élelmiszeripari feldolgozás és tárolás során

A C-vitamin bomlásában elsőrendű szerepe van az oxigénnek, illetve a kezdeti szabad oxigéntartalomnak.

A tárolás első időszakában, amikor a lezárt konzervben szabad oxigén van jelen, az aszkorbinsav pusztulása nagyobb, mint a későbbi időszakokban.

Az oldott állapotban lévő szabad oxigén károsító hatását ezért is kell kiemelt kérdésként kezelni, mert a feldolgozási folyamatban több olyan fázis van, melyben a C-vitamin bomlását elősegítő oxigén a termékbe kerülhet.

1. A nyersanyag sejtnedvéből a melegítés során eltávozó oxigén.
2. A sejtek szétroncsolása alkalmával a szövetekből felszabaduló oxigén /hámozás, aprítás/.
3. A környező levegőből eredő oxigén, amely a feldolgozás során jut az anyagba /keverés, szivattyuzás/.
4. Záráskor az élelmiszerral lezárt levegő oxigénje.

A szabad oxigénnel szemben a pH 4-5 közötti kémhatású élelmiszerek aszkorbinsav tartalma a legellenállóbb. A pH mellett fontos tényező a hőmérséklet hatása is. Szabad oxigén kizárása esetén az aszkorbinsav lebomlás 107 °C-ig kisebb mértékben függ a hőfokváltozástól, ezen érték felett viszont az oxidáció erőteljesebbé válik.

A bomlást a nehézfémek mindegyike katalizálja. Legkárosabb - az említett okok miatt - a Cu^{++} , melynek szerepe ionos formában sokkal nagyobb, mint komplex kötésben. Egyes kutatók adatai szerint az órozott lemez védőhatást gyakorol az aszkorbinsavra. A védőhatás abban nyilvánul meg, hogy a lemez és a termék verseng a jelenlévő oxigénért. Adam angol kutató ezért célszerűbbnek tartja a nem lakkozott dobozok használatát. Az üveges termékek C-vitamin csökkenése nagyobb azonos nagyságú légpárna esetén, mint a dobozos áruké /15/.

Végül a feldolgozás alatti C-vitamin veszteség szempontjából fontos még, hogy az aszkorbinsav vízoldható, így a feldolgozás során alkalmazott nagymértékű mosás - melyet sok esetben már szelételt termékeknél alkalmaznak - valamint a vízben történő előfőzés további C-vitamin veszteséget eredményez. /Pl. a paradicsom mosás közben eredeti C-vitamin tartalmának 6-8 %-át veszíti el / /15/.

A C-vitamin bomlásával a nyers- és a már tartósított termékek tárolása alatt is számolni kell. A veszteségeket illetően nagy különbségek mutatkoznak az egyes gyümölcs és főzelékfélék között. A leveles zöldségek /paraj, prokedi/ még hűtőházi /0- + 4 °C/ tárolás közben is rövid idő alatt elvesztik C-vitamin tartalmuk jelentős részét. A burgonya még 4-6 °C hőfokon tárolva is aszkorbinsav tartalmának csak a felét őrzi meg. A szokásos tárolási mód mellett

egyes almafélékben 1-2 hónapi raktározás után az eredeti vitamintartalomnak csak a töredéke marad meg. Növekszik a veszteség, ha a tárolt termék sérült, vágott. A nyers termék kórhátása is befolyásolja az aszkorbinsav megmaradását. A savanyu almában tovább marad meg a C-vitamin, mint az édesben /16, 17/.

1.8. Az aszkorbinsav szerepe az enzimes és nem enzimes élelmiszerbarnulásoknál

I. Enzimes barnulás

Megindulásának feltétele a növényi és állati eredetű anyagokban a sejtszisztem megsérülése. Ez a reakció ott megy végbe, ahol az élelmiszer sérült része a levegő oxigénjével érintkezik. A folyamat során polifenoloxidáz és peroxidáz enzimek hatására fenolcsoportot tartalmazó vegyületek a levegő oxigénjével reakcióba lépnek. Először kinoidális szerkezetű vegyületek keletkeznek. Ezek fokozatosan polimerizálódnak és egyre oldhatatlanabb vegyületek keletkeznek. A kialakult barna anyagokat melaninoknak nevezzük /18/.

Magas aszkorbinsav tartalma gyümölcsöknél nem tapasztaltak enzimes bomlási reakciót, tehát a C-vitamin védő hatása az ilyen reakciókkal szemben. Ezt a hatást részben savassága, részben redukáló sajátossága okozza. A polifenol-

oxidáz és peroxidáz barnító hatását úgy gátolja, hogy előbb oxidálódik, mint az élelmiszer. Ez történik mindaddig, míg szabad aszkorbinsav van jelen. Miután a jelenlevő összes mennyiség dehidroaszkorbinsavvá átalakult, csak azután kezdődik a barnulás. A polifenolokkal szemben az aszkorbinsav tehát antioxidánsként viselkedik. Elég nagy mennyiségű aszkorbinsav az enzimeket inaktiválja, kis mennyiségben csak késlelteti a barnulási reakció bekövetkezését.

Vannak azonban olyan anyagok - antocianinok, karotinoidok -, melyek védő hatást mutatnak az aszkorbinsav bomlásával szemben. Ez esetben az aszkorbinsav nem fejt ki antioxidáns hatást.

Az enzimes barnulási reakcióknak - a többi enzimes folyamatokhoz hasonlóan - pH és hőmérséklet optimuma van, a reakciósebesség ilyen feltételek mellett a legnagyobb.

A pH optimum az egyes élelmiszereknél pH: 4,5-6 között van, mely érték általában megfelel a különböző anyagok természetes kémhatásának. Csak pH 2,0 alatt ill. 9,0 felett lehet elérni az enzimes barnulási folyamat megszüntetését. Ezek az értékek viszont természetes körülmények között élelmiszerekben nem fordulnak elő.

A hőmérséklet optimuma 40-50 °C között van. 0 °C alatt és 65 °C felett lényeges barnulás nincs. Az enzim csak erős hőhatásra inaktiválódik, hűtés alatt reverzibilis az inaktiválódás.

Mivel az enzimes barnulási reakció csak szabad oxigén jelenlétében indul meg, s azt a továbbiakban a jelenlevő oxigén döntően befolyásolja, ujabban ezt a láncreakciót több szakirodalom "oxidációs barnulás"-nak nevezi.

Spanyár /18/ és Biedermann /19/ kísérletei rámutatnak arra, hogy a növények polifenol-csoportos vegyületei az enzimhatás megszűnése után is átalakulhatnak melaninokká. Az enzimhatásra ill. anélkül végbemenő reakciók csak sebességükben mutatnak differenciát.

II. Nem enzimes barnulás /14/

Az aszkorbinsav az enzimes barnulásokkal szemben megvédi a terméket, de a nem enzimes barnulásoktól nem, s ha mesterségesen adagolnak aszkorbinsavat, az még csak fokozza ezeket a reakciókat.

Spanyár szerint a nem enzimes barnulást lényegében négyféle reakció eredményezi:

- Maillard-féle reakció /cukrok és aminosavak közötti/
- szabad karbonilcsoportot nem tartalmazó aminok és cukrok közötti
- redukáló szénhidrátszármazékok és aminocsoportot nem tartalmazó szerves savak /citromsav, borkősav/ közötti reakciók
- csak szénhidrátokból, ill. szénhidrátokból hő hatására keletkező ún. karamell-képződési reakciók.

A barnulási folyamatok nem különböznek az élelmiszeripari gyakorlatban. Andreotti megállapításai szerint, /20/ az aszkorbinsav jelentősen hozzájárul a sűrített paradicsom megbarnulásához. Más szerzők /21, 22/ is hasonló viselkedéssel találkoztak narancs, és szamóccával kapcsolatos vizsgálataik során.

Az aszkorbinsav kondenzációs reakcióba lép más vegyületekkel, a gyűrűs vegyületeket polifenolokká oxidálja, ezek vizes oldatban barna színek /23, 24, 25/.

Fruktóz és aszkorbinsav reakciója erős barnuláshoz vezet, a folyamatot a hőmérséklet növelése elősegíti. A szerves savak katalizáló hatásuk, fruktóz és szacharóz karamellizációja, citromsav, almasav és aszkorbinsav jelenlétében mindig barnulás növekedéshez vezet. De glükóz esetében csak aszkorbinsav jelenléte fokozza a barnulást. Réz-, vas és cink nyomnyi mennyisége is serkenti cukrok és a szerves savak közötti reakciókat, így a barnulási folyamatokat is.

1.9. Élelmiszerek C-vitaminnal való dúsításának lehetőségei

A C-vitaminban dús élelmiszerek előállítására három lehetőség kínálkozik:

- azon termékek gyártásának fokozása, melyek alapanyagai a legtöbb C-vitamint tartalmazzák,
- vitamindús nyersanyagokból új termékek előállítása,

- arra alkalmas gyártmányok mesterséges aszkorbinsavval való dúsítása.

A gyakorlatban mindhárom alternatívára találunk példát.

A biológiai hatóanyagokkal - vitaminokkal, ásványi sókkal - történő élelmiszerdúsítás különösen az USA-ban és Japánban öltött nagy méreteket, de találkoztunk ezzel a gyakorlattal több európai országban is. Kompletválásra elsősorban vegyileg szintetizált vitaminokat használnak.

Lengyelországban például az alma, körte és őszibarack levekhez 50 mg % aszkorbinsavat adagolnak. Ugyancsak mesterséges C-vitaminnal dúsítják a különböző zöldségleveket és a bábik részére készülő gyümölcsleveket /26/.

Magyarországon az élelmiszeriparban először nem a természetes C-vitamin pótlásra vezették be a mesterséges aszkorbinsav használatát, hanem antioxidáns hatásánál fogva a gyümölcs és zöldség feldolgozásnál az enzimes barnulás megakadályozására, a husiparban a fény kifakító hatása elleni védelem céljából, a tej feldolgozásánál a "faggyus" oxidált zamatjelleg ellen használták /2/.

2. C-vitamin meghatározási módszerek kritikai elemzése

A C-vitamin természetes körülmények között főleg L-aszkorbinsav, ritkábban L-dehidroaszkorbinsav alakjában fordul elő.

A kötött formájú aszkorbigén létezése és élettani szerepe ezideig még vitatott. Analitikai szempontból ez utóbbi meghatározása nem okoz különös problémát, mivel sósavas előkészítés után aszkorbinsavként viselkedik.

Az aszkorbinsav és dehidroaszkorbinsav egymástól igen eltérő kémiai tulajdonságu, ami a méréseknél problémát jelent. A legtöbb C-vitamin mérésre szolgáló eljárás ezen anyagok oxidációs-redukációs képességén alapszik. Az aszkorbinsav és dehidroaszkorbinsav meghatározása általában valamelyik - az oxidált vagy redukált - formára átalakítva együttesen történik /28/.

A meghatározásra szolgáló módszereket a következő felosztásban igyekszem tárgyalni:

- Titrimetriás módszerek
- Színreakción alapuló módszerek
- Kromatográfiás elválasztáson alapuló módszerek
- Polarográfiás módszerek.

Az egyes módszerek ismertetése

2.1. Titrimetriás - oxido-redukciós - módszerek

Ilyen titrálásos eljárások a jódos, klóraminos, bromátos, metilénkékes és elsősorban a már klasszikusnak számító 2,6-diklórfenolindofenolos titrálási módszer.

2.1.1. Az aszkorbinsav meghatározása jóddoldattal

A módszer elve:

Az aszkorbinsavat az ismert titerű jóddoldat savas közegben dehidroaszkorbinsavvá oxidálja, miközben a jóddoldat elszíntelenedik. A titrálás végpontján a jóddfeleslegget a jodometriában szokásos módon jelezzük /Strohecker és Henning/ /29/.

A módszer nagyon egyszerű, de csak szintelen oldatok esetén használható. Redukcionok, reduktinsavak, szulfitok a meghatározást zavarják. A módszer nem túlságosan érzékeny.

2.1.2. Aszkorbinsav meghatározása klóraminoldattal

Ugyanolyan elv alapján megy végbe, mint a jóddoldatos titrálás. A klóraminoldat a jóddoldatnál állandóbb, ezért szívesebben használják /Leonhardt és Moeser 1941/ /30/.

2.1.3. Bromatometriás aszkorbinsav meghatározás

A módszer elve:

Sósavas közegben 0,1 n KBrO_3 oldatból KBr -dal szabad-dá tett bróm az aszkorbinsavat oxidálja. A reakció végpont-ját a jelenlevő petoxikrizoidin indikátor színváltozása /el-szintelenedése/ jelzi. /Schulek és Kovács 1940/ /32/.

A módszer előnye, hogy a végpontjelzés igen éles. Alkalma-zására azonban csak jelentős /100-1000 mg/ aszkorbinsav tartalom mellett van lehetőség.

Természetesen ez a módszer sem specifikus, ha az aszkor-binsav mellett más zavaró anyagok is vannak jelen.

Alkalmasnak bizonyult azonban a módszer páclevek asz-korbinsav tartalmának meghatározására, ha a nitritsókat előzőleg Na-szulfít adagolással eltávolítják.

2.1.4. C-vitamin meghatározás lehetőségei 2,6 diklórfenolindo-fenollal

Az eredeti Tillmans-féle módszeren alapuló vizuális titrálás

A módszer elve:

A 2,6-diklórfenolindofenol festéket, mely savanyu közegben rózsaszínű, semleges és lúgos közegben kék szí-nű, az aszkorbinsav megsavanyított oldatban szintelen ve-gyületté redukálja, miközben maga dehidroaszkorbinsavvá oxidálódik.

A meghatározást szintelen oldatoknál titrálással végezh-
hetjük el. A végpontot a főlős 2,6-diklórfenolindofenol hal-
vány rózsaszíne jelzi /Tillmans 1930/133/.

A módszert egyszerűsége miatt még ma is szívesen használják
sorozatvizsgálatok elvégzésére szintelen, vagy enyhén színe-
zett gyümölcs- és zöldségfélék, szárított élelmiszerek asz-
korbinsav tartalmának meghatározására.

A meghatározás azonban nem specifikus az aszkorbinsavra.
Igy pl. a mintákban jelenlevő szerves SH-vegyületek /cisztein,
glutathion/ aromás alkoholok, aldehidek, ón-vegyületek, me-
lyek konzervkészítményekben hosszabb tárolás alatt keletkez-
nek, a meghatározást zavarják.

Zavaró lehet sok esetben az állott festék, mely a végpontot
felismerhetetlenné teszi.

Meghatározás 2,6-diklórfenolindofenollal, fotométeres
kiértékeléssel /34,36,37/

A kissé zavaros, vagy nem túl színes oldatok aszkor-
binsav tartalmát vizuális titrálás helyett fotométeres mé-
réssel határozzák meg. Ezzel az eljárással az oxidációs
folyamat időbeni alakulását is követni lehet. Az aszkor-
binsav okozta redukció időtartamának beállításával a zava-
ró hatás részben kiküszöbölhető.

A módszer elve:

A 2,6-diklórfenolindofenol festék aszkorbinsav okozta

elszintelenedését méri a vizsgálandó oldatban és egy standard oldatban. A festéket az aszkorbinsav másodperceken belül redukálja, a zavaró anyagok reakciója lényegesen lassabban megy végbe /Bessey 1938/.

A színmérést a reagens és a megfelelő pH-értékre pufferolt vizsgálandó oldat küvettába töltése után azonnal, majd még két időpontban 5 és 10 másodperc múlva kell elvégezni. Ezek után egy kis aszkorbinsav kristály hozzáadásával tökéletesen elszintelenítve a küvettában lévő festékoldatot, újabb színméréssel kell a vizsgálandó oldat zavarosságát, ill. saját színét is korrekcióba venni.

A módszernek igen sok hátránya van: /35/

1. A minta hozzávetőleges aszkorbinsav tartalmát már mérés előtt ismerni kell.
2. A vizsgálandó oldat igen pontos pH értékének /3,5-3,7/ beállítása elengedhetetlen.
3. A reagens és a minta néhány ml-nyi mennyiségének küvettába töltése, összekeverése és a színintenzitás változásának néhány másodperc alatti mérése igen pontos munkát, nagy gyakorlatot és igen jó felszerelést igényel.
4. A zavaró anyagok okozta hibák kiküszöbölése nincs megnyugtató módon megoldva /Spanyár 1953/.

A felsorolt hibák kiküszöbölésével már sok analitikus pró-

bátkozott. Robinson és Stok /1945/, majd Zeller /1952/ a nem aszkorbinsav jellegű redukáló anyagok külön meghatározását javasolják. Ennek az az elve, hogy az aszkorbinsavat - megfelelő pH érték mellett - formaldehiddel kondenzálják, majd a zavaró redukáló anyagokat külön titrálással meghatározzák. Ez utóbbi értéket az eredeti mérési adatból levonva az un. valódi aszkorbinsav értéket kapják.

A formaldehides kondenzációt együtt alkalmazva a fotometriás 2,6-diklorfenolindofenolos meghatározással, a mérést még komplikáltabbá teszi/37/.

Nagyon színes, vagy nagyon zavaros oldatok aszkorbinsav tartalmának 2,6-diklórfenolindofenol festékkoldattal történő meghatározása csak a maradék festék xilolos kioldása után történhet. A xilolos oldat színét mérik fotométerben. Zavaró anyagok távollétében a minta aszkorbinsav tartalma arányos az átrázott festék színintenzitás csökkenésével /Robinson és Stok, 1945/136/.

Ez a fotométeres eljárás olyan bonyolult, hogy sorozatvizsgálatra egyáltalán nem alkalmas. Továbbá egyes növényi anyagok jelentős saját színe savas közegben zavarhatja a xilolos extrakciót, ha xilolban oldható pigmenteket tartalmaz. Ezekből hidrokinon adagolás utáni színméréssel igyekeznek a kutatók megszabadulni.

2.1.5. Dehidroaszkorbinsav meghatározása 2,6-diklórfenolindofenollal /38/

Az eddig felsorolt módszerekkel csak aszkorbinsavat lehetett meghatározni.

Az összes C-vitamin tartalom mérése esetén az eljárások nagy részénél valamilyen redukáló anyaggal, pl. kénhidrogénnel a jelenlevő dehidroaszkorbinsavat aszkorbinsavvá redukálják és így mérik a felsorolt módszerek valamelyikével.

Kénhidrogénes redukció után az összes C-vitamint vagy 2,6-diklórfenolindofenolos titrálással /Pijanowski 1953, 1954/, vagy fotométeres módszerrel lehet meghatározni.

A dehidroaszkorbinsav kénhidrogénes redukciója nagyon sok hibát okozhat. A kénhidrogén hatására új redukáló vegyületek keletkeznek /kinol-, SH-vegyületek/, melyek a további C-vitamin meghatározást nagyon zavarják. A zavaró hatás növényi konzervek vizsgálatánál a legkifejezettebb. Ugyanis ilyen konzervekben tárolás alatt a fehérjék egy része elbomlik, s a bomlástermékekből H_2S -es kezelésnél poliszulfid jellegű vegyületek keletkezhetnek, melyek a meghatározást zavarják. A fölös kénhidrogén eltávolítása igen időigényes és bonyolult eljárás, mely még modell-kísérleteknél is nehezen reprodukálható.

A kénhidrogénes redukció említett hátrányainak felismerésével ujabban ciszteinnel, homociszteinnel végzik a

dehidroaszkorbinsav aszkorbinsavvá történő átalakítását.

2.1.6. Aszkorbinsav meghatározása N-brómszukcinimides titrálással /39,40/

Módszer elve:

Az N-brómszukcinimidin ecetsavas közegben az aszkorbinsavat teljesen dehidroaszkorbinsavvá oxidálja. A reakció gyors, végpontját KJ-ből szabaddá váló jód keményítő kimutatásával jelzik /Barakat 1955, Schaller és Raffai 1957/.

A szerzők szerint a titrálás specifikusabb az aszkorbinsavra, mint a diklórfenolindofenolos, de a szulfitek és szulfidok a meghatározást zavarják. Ebből kifolyólag a dehidroaszkorbinsav kénhidrogénes redukciója sem használható.

2.2. Szinreakción alapuló meghatározások

2.2.1. $\alpha\alpha'$ -dipiridiles módszer /41,42/

A módszer elve:

Az aszkorbinsav savas közegben az oldathoz adagolt vas/III/-ionokat vas/II/-ionokká redukálja, melyek $\alpha\alpha'$ -dipiridil reagenssel vörös színű vas/II/-dipiridil komplexet képeznek.

A keletkezett szín erőssége - spektrofotométerben mér-

ve - arányos a jelenlevő aszkorbinsav mennyiségével /Schulek és Floderer, 1939, Schulek és Kovács 1946/.

Az élelmiszerekben levő C-vitamin meghatározására Spanyol és munkatársai módosították az eljárást, ezzel a zavaró anyagok hatását részben kiküszöbölték, másrészt az aszkorbinsav és dehidroaszkorbinsav meghatározása külön-külön is lehetővé vált.

A dehidroaszkorbinsav redukálására Spanyol és munkatársai a ciszteint ajánlották, mellyel a reakció 100 %-osan lejátszódik, a kémszer feleslege a színreakciót nem zavarja. A zavaró anyagok elválasztása, és az un. látszólagos és valódi C-vitamin tartalom meghatározása igen hosszadalmas. Sorozatvizsgálatokra nem alkalmas. A módszer hőkezelt termékeknel igen nagy hibát eredményez.

2.2.2. Aszkorbinsav meghatározás diazotált 4-metoxi-2-nitroanilinnel /43,44,58/

A módszer elve:

Savas közegben a diazotált 4-metoxi-2-nitroanilin az aszkorbinsavval reakcióba lép. A keletkezett termék lug hozzáadására kék színű vegyületet ad.

A szín erőssége arányos a jelenlevő aszkorbinsav tartalommal, mely fotométeren lemérhető /Schmall és munkatársai 1953, 1954. Élelmiszerekre: Moor és munkatársai 1956/.

A módszer nagyon körülményes és hosszadalmas. Minden vissz-

gálati anyaggal kapcsolatosan 3 mérést kell végezni, - egy alpmérést, egy hozzáadott aszkorbinsavas mérést, és egy vakpróbát. A három mérés eredményéből lehet megadni az aszkorbinsav tartalmát.

A dehidroaszkorbinsav meghatározására H_2S -el történő redukció után az eljárást megismétlik.

2.2.3. N,N-dimetilacetamid aszkorbinsav meghatározás /45/

Módszer elve:

Az N,N-dimetilacetamid, vagy az N,N-dimetilformamid és aszkorbinsav borostyánkősavas oldatban glicin jelenlétében biborvörös színű komplex vegyületet képez /Müller, Mulot 1968/.

A meghatározás tulajdonképpen az aszkorbinsavból keletkező dehidroaszkorbinsav reakcióján alapszik.

2.2.4. Dehidroaszkorbinsav meghatározás 2,4-dinitrofenilhidrazinnal /46,47/

Módszer elve:

A dehidroaszkorbinsav és 2,4-dinitrofenilhidrazin megfelelő körülmények között 2,4-dinitrofenilhidrazont képez. Ez a vegyület 85 %-os H_2SO_4 oldatban vörös színnel jelentkezik. A szín erőssége arányos a dehidroaszkorbinsav mennyiségével /Roe és Kuether 1943/.

Az aszkorbinsav nem adja a reakciót, előbb gyenge oxidáló anyaggal dehidroaszkorbinsavvá alakítják.

Zavarhatnak a vizoldható szénhidrátok és dehidro-reduktonok. A dehidroaszkorbinsav bomlásterméke a 2,3-diketo-L-gulonsav is adja a reakciót, mely már C-vitamin hatást nem mutat.

Később a szerző az eljárást módosította. Megmérték a dehidroaszkorbinsav és diketo-L-gulonsav összegét. Egy következő meghatározással a dehidroaszkorbinsavat redukálják aszkorbinsavvá és a megmaradt diketo-L-gulonsavat újra meghatározzák. A két mérés különbsége adja a minta dehidroaszkorbinsav tartalmát.

Egy harmadik eljárással az aszkorbinsav+dehidroaszkorbinsav+diketo-L-gulonsav együttes mennyiségét határozzák meg. A minta teljes C-vitamin tartalma ezután kiszámítható.

3. Kromatográfiás eljárások

3.1. Papirkromatográfiás eljárás aszkorbinsav és dehidroaszkorbinsav elválasztására glikokollal ill. rodán-feniltioszemikarbaziddal /48/

Az aszkorbinsav és dehidroaszkorbinsav elválasztására i-propanol - foszfát puffer keveréket használnak /Fürlig és munkatársai 1964/.

A szétválasztott foltok közül a dehidroaszkorbinsavat

1 %-os glikokoll oldattal, vagy 0,25 %-os alkoholos rodán-feniltioszemikarbaziddal mutatják ki.

Az aszkorbinsav ilyen körülmények között nem hagy foltot, ezért leoldás után Tillmans reagenssel határozzák meg.

A diketogulonsav mennyiségileg is kiértékelhető foltot ad, mely a dehidroaszkorbinsavtól elkülönített leolvasás és a színintenzitás fotométeres mérése után meghatározható.

A papirkromatográfiás elválasztás, bármilyen körülmények között is történik igen lassu eljárás. A fenti módszer a meghatározásból eredő hibák mellett a papirkromatográfálás hibáit is magába foglalja.

3.2. Papirkromatográfiás eljárás aszkorbinsav és dehidroaszkorbinsav meghatározására 2,4-dinitrofenilhidrazinnal /49/

A módszer elve:

A jelenlévő, ill. az aszkorbinsav oxidációjával nyert dehidroaszkorbinsavból oszazon csapadékot állítanak elő, melyet alkalmas oldószerben oldva papirkromatográfiás elválasztással a zavaró anyagok oszazonjaitól elkülönítenek. /Szőke-Szotyori 1967/.

A foltok kiértékelése vagy denzitométerrel történik, vagy diklórmétánnal történő leoldás után az oldat színét mérik.

2.3.3. Rétegekromatográfiás eljárás a dehidroaszkorbinsav-
-oszazon meghatározására/50,54/

A hosszadalmas papirkromatográfiás elválasztások hátrányain igyekeznek javítani a rétegekromatografálással. Az első leírást Strohecker és Pies /1962/ közölte. A dehidroaszkorbinsav-oszazont kloroform, etilacetát /1:1/ keverékében futtatták, így egy élénk téglavörös színű csíkot kaptak, melyet a még nedves rétegről eltávolítottak. Néhány ml 85 %-os kénsavban oldva fotométerrel mérték az oldat színét.

Vuilleumier és munkatársai a rétegekromatografálás előtt a dehidroaszkorbinsav-oszazont szilikagél oszlopon előzetes tisztításnak vetik alá.

Petróné /1967/ az oszazon csapadékot etilacetátban oldva Kieselgél G rétegen választja el a zavaró anyagoktól. A futtatókeverék benzol, aceton, piridin /80:12:8/. A piridin adagolás pontos betartása mellett a dehidroaszkorbinsav-oszazonfoltok kékes-lila színnel különülnek el.

A rétegekromatográfiás elválasztások is igen hosszadalmasak, mivel az oszazon csapadék kvantitatív leválasztása 36 órás reakcióidőt igényel. A foltok lekaparása, oldása és a kiértékelés is időt rabló művelet, ami a módszert alkalmatlanná teszi sorozatvizsgálatra.

A Petróné által közölt meghatározás ideje annyival lerö-

vidül, hogy a kapott oszazon foltokat nem veszi fel oldószerben egy további fotometráláshoz, hanem ismert mennyiségű dehidroaszkorbinsavból képzett oszazonok foltjaival összeveti. Ezen félkvantitatív kiértékelés miatt az eredmények szórása lényegesen nagyobb, mint más módszeré, annak ellenére hogy a zavaró anyagokat történetesen sikerült elkülönítenie a dehidroaszkorbinsavtól.

2.4. Polarográfiás meghatározás/52/

Az aszkorbinsav az endiolokhoz hasonlóan a csepegő higany-elektrodon diketonná oxidálódik. A keletkezett diketon nem stabilis mert az elektrodreakciót hidratáció követi, így a folyamat irreverzibilis. A pH 3 és pH 6 között kapott anódos lépcső magassága arányos az aszkorbinsav koncentrációval, így kvantitatív meghatározásra alkalmas. Az aszkorbinsavat rendszerint 1 %-os oxálsavval extrahálják ki és megfelelő pufferrel felhígítják. Az oldott oxigén zavarja a polarográfiás meghatározást, ezért el kell távolítani. Az oxidáció megakadályozására Na-oxalátot szoktak alkalmazni. A polarogram felvétele -0,3 V-ig anódos kapcsolással történik.

Kvantitatív kiértékeléshez 25-250 µg/ml között felvett kalibrációs görbét alkalmaznak.

A meghatározást zavarják: reduktonok, SH-csoportot tartal-

mazó vegyületek. Kiküszöbölésükre formaldehides kondenzációt ajánlanak. Alacsony pH értéknél a halogenidek is jelentősen befolyásolják a mérési eredményt.

A dehidroaszkorbinsav redukciós lépcsője kb. 0,5 V-tal negatívabb potenciálon jelentkezik. Ez a lépcső jelentősen kisebb, mint az anyag koncentrációja alapján várható volna. A lépcső magassága független a higany magasságától és a hőmérséklet függése is a kinetikus áramra jellemző. Valószínű, hogy e kinetikus áram erősségét a diketon dehidratációjának sebessége szabja meg. A dehidroaszkorbinsav polarográfiás mérése ezideig nincs megoldva.

KISÉRLETI RÉSZ

Az előző részben számos, a C-vitamin meghatározására szolgáló módszert ismerttettem. Az élelmiszeranalitikának egyik alapvető problémája e fontos vitamin mérése. Az ezzel kapcsolatos nagy terjedelmű irodalom ellenére sincs a kérdés megnyugtató módon lezárva. A legutóbbi közlemények az aszkorbinsavnak papir- és vékonyréteg-kromatográfiás elválasztását javasolják.

A kromatográfiával társított meghatározásoknak vitathatatlanul nagy előnye, hogy a vitamint szelektíven lehet elkülöníteni a zavaró anyagoktól, viszont az eredmények foltterület alapján történő becslése, úgynevezett "félkvantitatív" kiértékelése, nagy bizonytalanságot eredményez. Az oszazonok hosszadalmas leválasztása, tisztítása a módszert sorozatvizsgálatokra egyébként is alkalmatlanná teszik.

Ezek után érthető, hogy az analitikusok többsége nem vetette el az oxidimetriás eljárásokat. Üzemi körülmények között, még ma is leginkább a gyorsan kivitelezhető Tillmans-féle titrálósos módszert alkalmazzák, mely sok esetben a C-vitaminnal együtt nagyon sok zavaró anyagot is mér.

Irodalmi adatok szerint a C-vitaminnal együtt reagáló vitaminhatást nem mutató anyagok redoxpotenciálja ma-

gasabb, mint az L-aszkorbinsav megfelelő értéke. Ez vetette fel azt a gondolatot, hogy az L-aszkorbinsavat redukáló tulajdonságánál fogva közel azonos redoxpotenciálu anyaggal határozzuk meg, mely rendszernek az oxidáló ereje éppen elegendő a vitamin mérésére, de a zavaró anyagokkal már nem képes reakcióba lépni.

Dolgozatom célja a fent vázolt feltételeknek megfelelő anyag és kvantitatív mérésre alkalmas reakció kiválasztása, a reakció körülményeinek tanulmányozása, és egy objektív, tiszta és természetes anyagokban levő aszkorbinsav mérésére egyaránt alkalmas gyors módszer kidolgozása.

L-aszkorbinsav továbbiakban: AS

L-dehidroaszkorbinsav továbbiakban: DAS

1. Aszkorbinsav mennyiségi meghatározása kálium-[hexacianoferrát/III/] oldattal, fotométeres kiértékeléssel

A már leírt feltételeknek megfelelően választásunk a $K_3[Fe/CN/6]/K_4[Fe/CN/6]$ redoxpárra esett.

DAS/AS + 0,36 V/pH függő/

$K_3[Fe/CN/6] / K_4[Fe/CN/6]$. . + 0,45 V/pH-tól független/

Összehasonlítás végett közöljük a C-vitamin mérésére eddig leggyakrabban használt mérőrendszerek redoxpotenciálját.

J_2/J^- + 0,62 V

2,6-diklórfenolindofenol . . + 0,60 V

Az aszkorbinsavnak kálium-[hexacianoferrát/III/]-tal történő reakciója kálium-[hexacianoferrát/II/]-ot eredményez, mely Fe/III/-ionokkal berlinikék szineződést mutat.

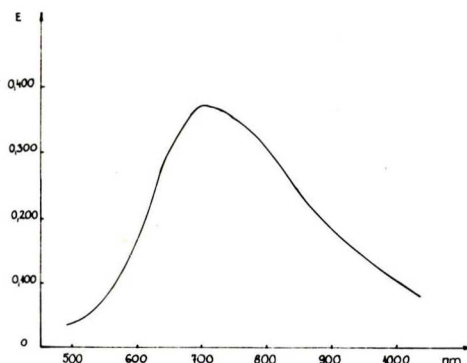
Vizsgálataink alapján az oldat fényelnyelésének mérésével az AS mennyisége megadható.

A továbbiakban feladatul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk azokat a körülményeket, amelyek befolyásolják a színreakciót, továbbá tanulmányoztuk hogyan lehet biztosítani az AS kvantitatív mérésének feltételeit. Legelőször azt kellett megállapítani, hogy az alkalmazott kémszerek feleslege nem zavarja-e a színintenzitás alakulását.

1.1. Mérések kivitelezése /53/

A méréseket Spektromom 201 fotométeren, 10 mm-es küvettákban végeztük szobahőfokon. Az oldatokat esetenként frissen készítettük a.l.t. tisztaságu REANAL vegyszerekből, és 0,02 ml pontossággal mértük össze a reakcióhoz.

A kvantitatív mérésre alkalmas hullámhossz kiválasztására felvettük az oldat spektrumát, melyet az 1. ábrán tüntettünk fel. A színintenzitás mérésére a 710 nm-t, valamint két további hullámhosszt 690 és 740 nm-t választottuk.



1. ábra

$95 \cdot 10^{-6}$ mol/100 ml koncentrációju Vas/III/-
- [hexacianoferrat/II/] /berlinikék/ oldat
fényelnyelése 450-1000 nm között.

1.2. A reakciókörülmények pontos megválasztása és a színképződésre való hatása

A meghatározás elve:

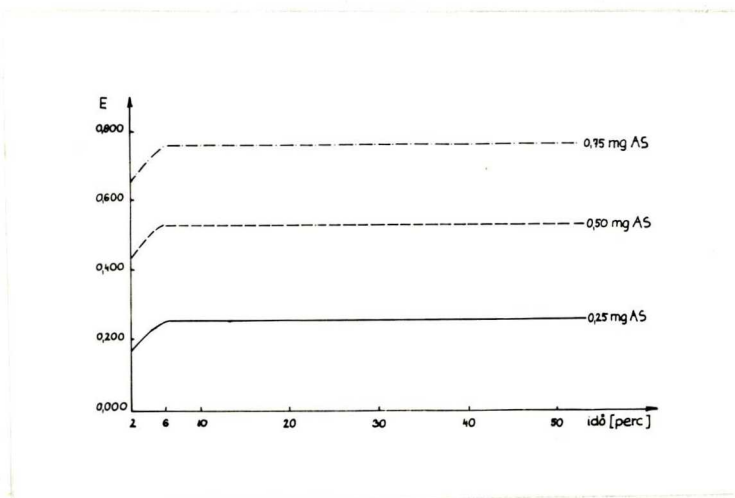
Az AS tartalmu oldat ismert részletéhez fölös mennyiségben kálium-[hexacianoferrat/III]-ot adunk. Ekkor a ferricianid-ionoknak aszkorbinsavval arányos része ferrocianiddá redukálódik, mely Fe /III/-ionokkal berlinikék színeződést mutat. A ferricianid ionok feleslege, fluorid-ionok egyidejű adagolása mellett nem zavar.

Felhasznált oldatok:

Aszkorbinsav	25 mg%	FeCl_3	2 %
NaF	2 %	$\text{K}_3[\text{Fe}/\text{CN}/_6]$	1 %

1.2.1. Az oldat extinkciójának időbeni változása

Legelőször a reakció időbeli lefolyását vizsgáltuk, méréseinket a 2. ábra szemlélteti. Látható, hogy az oldat színe 5 perc után állandóvá válik, tehát ennyi idő elteltével az extinkció reprodukálhatóan mérhető.



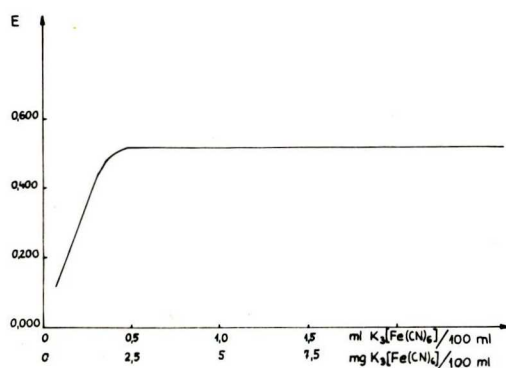
2. ábra

A színintenzitás időbeni alakulása különböző aszkorbinsavtartalom mellett. /710 nm/

1.2.2. A kálium-[hexacianoferrát/III/] kémszer változó
mennyiségének hatása a színreakcióra

A továbbiakban a kálium-[hexacianoferrát/III/] növekvő mennyiségének függvényében vizsgáltuk az oldat extincióját, ugyanazon AS-tartalom mellett. A mérési eredményeket a 3. ábra mutatja.

Kezdetben lineáris az összefüggés az adagolt $K_3[Fe/CN/6]$ és az oldat extinkciója között. Ebben az intervallumban feltehetően nincs elegendő reagens az AS teljes átalakításához, de megfelelő mennyiség bevitele után a görbe telítési értéket vesz fel, ettől kezdve a fényelnyelés független a hozzáadott ferricianid-ionok mennyiségétől.



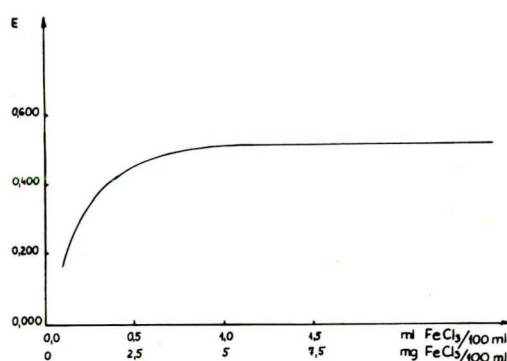
3. ábra

Összefüggés az adagolt $K_3[Fe/CN/6]$ és az oldat fényelnyelése között, állandó AS-tartalom mellett, 710 nm hullámhosszon. Reakcióidő: 5 perc



1.2.3. A vas/III/-klorid oldat változó mennyiségének hatása a berlinikék szín kialakulására

Megvizsgáltuk, hogy a FeCl_3 növekvő mennyiségének jelenlétében hogyan alakul az oldat színintenzitása, ugyanazon AS-tartalom mellett. Mérési eredményeinket a 4. ábrán foglaltuk össze.



4. ábra

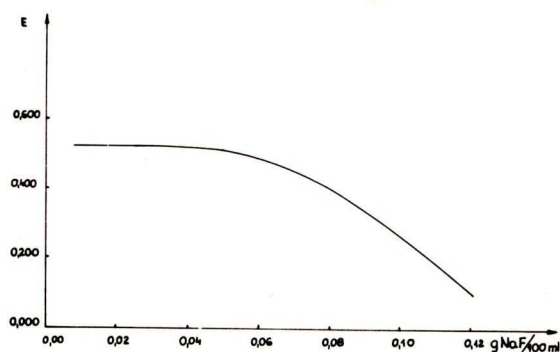
Összefüggés a FeCl_3 mennyisége és a színintenzitás között, azonos AS-tartalom mellett, 710 nm hullámhosszon. Reakcióidő: 5 perc.

Kezdetben az extinkció hirtelen emelkedése figyelhető meg, majd a görbe ellaposodik. Az oldat színintenzitása lényegesen lassabban állandósul, mint a kálium-

ferricianid mennyiségének változtatásával. Feltételezhető, hogy a színreakció sebessége is változik a vas/III/-klorid koncentrációtól. A grafikon egy idő utáni vízszintes szakasza viszont arra enged következtetni, hogy a vas/III/-klorid feleslege nem zavar, és erről mindenképpen gondoskodni kell, csakugy, mint az előbbieken vizsgált ferricianid-ionok elegendő beviteléről.

1.2.4. A NaF hatása a színreakcióra

A vas/III/-[hexacianoferrát/II/] /berlinikék/ rozs-szul oldódó vegyület, fluorid-ionok alkalmazása nélkül csapadék alakjában kiválik. Az adagolt nátriumfluorid optimális mennyiségének megállapítására kísérleteket végeztünk. A következő ábra növekvő nátriumfluorid koncentráció és az oldat extinkciója közötti összefüggést szemlélteti. Megállapítható, hogy ezen reagens mennyisége, csak adott határok között ingadozhat, és hogy a reakció-elegyen maximálisan megengedhető koncentráció 0,05 g NaF/100 ml.



5. ábra

NaF változó mennyiségének hatása a berlinikék színreakcióra, azonos AS-tartalom mellett, 710 nm hullámhosszon. Reakcióidő: 5 perc

1.2.5. Extrahálószerrek és a közeg pH értékének hatása

Az élelmiszerek AS-tartalmának kivonására általában savas pH-ju oldatokat használnak, leggyakrabban ecetsavat, oxálsavat, foszforsavat, citromsavat. Szükségesnek tartottuk vizsgálatokat végezni annak eldöntésére, hogy az általunk használt módszert az említett savak befolyásolják-e? A kísérlethez 2-2 ml 20 mg%-os AS-at 1 ml káliumferricianidot, 1 ml nátriumfluoridot és 2 ml ferrikloridot mértünk

össze. Az AS bemérése után a fenti savakból 2; 5; 10; 20 ml-eket vittünk be.

A mért adatok szerint a citromsav és ecetsav nem, a foszforsav és oxálsav jelenléte zavarja a berlinikék színreakciót. Az utóbbi hatás feltehetően azzal magyarázható, hogy a szinkialakításához szükséges Fe/III/-ionokkal az oxálsav és foszforsav komplexeket képez, emiatt az AS mérésére alkalmas reakció elmarad.

Ezen mérések elvégzése után úgy döntöttünk, hogy az élelmiszerek aszkorbinsavtartalmának kivonására citromsavat, ill. citrát tartalmu puffert használunk.

A továbbiakban kipróbáltuk az eljárást 10-10 ml 3,6; 4,0; 4,5; 5,0; 6,0 pH-értékű citrát puffer egyidejű alkalmazásával. Azt tapasztaltuk, hogy a színreakció maximálisan pH: 5,0-ig megbízható.

Ellenőrizni kívántuk, hogy az általunk használt eljárással milyen koncentráció intervallumban lehet mérni az AS-tartalmat, ill. az oldat milyen felső értékig követi a Lambert-Beer törvényt.

Megmértük, hogy különböző aszkorbinsavkoncentráció mellett, a reakció lejátszódása után hogyan alakul a színintenzitás. A 0,1 mg AS koncentráció alatt az oldat fényelnyelése még nem, ill. 2,0 mg felett - az üzemi laboratóriumi gyakorlatot figyelembevéve - már nem mérhető. Az em-

litett koncentráció határok között a vitamintartalom, és az oldat extinkciója között lineáris összefüggés van. Az élelmiszerkivonatból tehát olyan részletet kell a meghatározáshoz felhasználni, melynek AS-tartalma 0,1 és 1,8 mg között van.

Ezen előkísérletek után az alábbiak szerint végeztük az AS-tartalom mérését:

1.3. A berlinikék színreakción alapuló aszkorbinsav meghatározás kivitelezése /54/

Felhasználandó oldatok

Pufferoldat /egyben extrahálószer/ pH = 3,6

0,1 mólus Na-citrát; 0,1 n HCl /1:1/

$K_3 [Fe/CN/6]$ 1 g/100 ml /esetenként frissen készítve/

NaF 2 g/100 ml

$FeCl_3$ 2 g/100 ml

hitelesítő oldat: 20,0 mg %-os aszkorbinsav oldat /esetenként frissen készítve/.

A vizsgálati anyagból nyert extraktum, melynek 1,0 - 5,0 ml-ét használjuk fel a meghatározáshoz.

Eljárás

a. Standard

- szintelen anyagok mérése esetén: 10 ml puffer 1,0 ml kálium- [hexacianoferrát/III/], 1,0 ml nátriumfluorid, 2,0 ml Fe/III/-klorid 100 ml-es mérőlombikban jelig töltve, a fenti sorrendben,
- színes anyagok mérése esetén: 10 ml puffer 1,0-5,0 ml AS-tartalmu kivonat, - a $K_3[Fe/CN/6]$ elmarad - 1,0 ml nátriumfluorid, 2,0 ml Fe/III/-klorid 100 ml-es mérőlombikban jelig töltve.

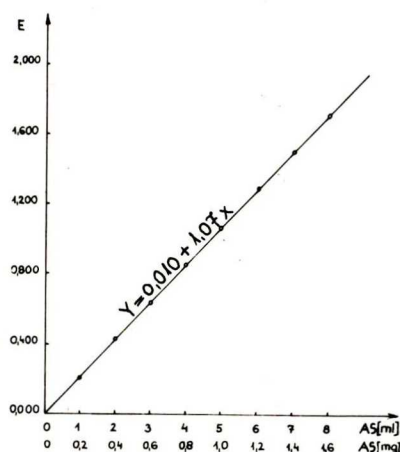
- b. 100 ml-es mérőlombikba először az AS-tartalmu kivonatot visszük be, melynek az AS-tartalma 0,2-1,5 mg között lehet. 10 ml pufferoldat, 1 ml kálium- [hexacianoferrát/III/] oldat hozzáadása után az egészet jól összerázzuk. A csapadékképződés elkerülésére 1 ml nátriumfluorid oldatot adunk hozzá és kiegészítjük desztillált vízzel kb. 80-90 ml-re. Ezután hozzámérünk 2 ml Fe/III/-kloridot. Jelleg töltve 5 perc elteltével 710 nm-nél, 10 mm-es küvettákban mérjük az oldat extinkcióját, a standarddal szemben.

2. táblázat

Kalibrációs mérések AS berlinikék színreakción
alapuló mennyiségi meghatározására

Felhasznált AS oldat, ml	AS mg	Extinkció
1,00	0,2	0,215
2,00	0,4	0,430
3,00	0,6	0,650
4,00	0,8	0,855
5,00	1,0	1,070
6,00	1,2	1,300
7,00	1,4	1,510
8,00	1,6	1,720

Az adatokból szerkesztett kalibrációs görbét a 6. ábra
szemlélteti.



A kalibrációs diagramot a legkisebb négyzetek módszerével pontosítottuk. Kiszámoltuk a regressziós egyenest, az alábbi összefüggés szerint:

$$Y = b_0 + b_1 x$$

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

A módszerünkre az alábbi egyenletet kaptuk:

$$Y = 0,010 + 1,07 X$$

A t-próbával meggyőződünk a regressziós egyenes b_0 értékének elhanyagolhatóságáról. Kiderült, hogy a kalibrációs görbe eltolódása az y tengelyen nem áll fenn, és az egyenes becsült egyenletében elhanyagolhatjuk a $b_0 = 0,010$ értéket, ezáltal az origóból kiinduló lineáris összefüggést kapunk.

1.4. Az eljárás alkalmazása gyümölcs- és zöldségfélék AS-tartalmának mérésére

A C-vitamin tartalom mérése természetes anyagokban még akkor sem egyszerű, ha találunk egy olyan eljárást, mely a kívánt alkotórészt reálisan, a zavaró anyagoktól mentesen tükrözi. Tekintettel arra, hogy az AS igen bomlékony, és a gyümölcs- és zöldségfélék természetes kémhatása a szövetek megsértése után kedvez az oxidatív átalakulásnak, a meghatározás sikerének alapfeltétele, hogy a vizsgálati anyag előkészítését és a vitamin kioldását gyorsan végezzük, valamint az anyag aprítása után a vitamint azonnal stabilizáljuk.

Az átalakulást mi a közeg savanyításával kívántuk meggátolni.

A vizsgálati anyagot az alábbiak szerint készítettük elő a meghatározáshoz:

Az AS tartalomtól függően 15-20 g közötti mennyiséget mértünk be, 3,6 pH értékű citrát pufferrel BIOMIX készülekben homogenizáltuk, majd 10 perc rázatás után szűrtük. Az így nyert extraktumot használtuk az AS mérésére.

3. táblázat

L-AS tartalom gyümölcs- és zöldségfélékben
berlinikék színreakción alapuló eljárással

Anyag	AS mg%	Anyag	AS mg%
I. Kelkáposzta	12,5	II. sárgadinnye	30,5
	12,1		30,0
	12,5		32,5
	12,0		30,1
	12,5		31,0
	11,5		31,2
	11,6		29,0
	12,5		29,0
	12,2		31,0
átlag	12,1	átlag	30,5
szórás	0,30	szórás	1,08
relativ %-os hiba	0,83	relativ %-os hiba	1,18
III. Ószibarack	18,5	IV. alma	17,5
	18,0		17,0
	18,5		17,25
	18,5		17,3
	18,0		17,75
	17,3		18,25
	19,0		18,0
	17,8		18,5
	17,0		17,75
átlag	18,0	átlag	17,7
szórás	0,60	szórás	0,45
relativ %-os hiba	1,11	relativ %-os hiba	0,88

3. táblázat folytatása

Anyag	AS mg%	Anyag	AS mg%
V. Paradicsom	21,3	VI. Zöldpaprika	210,0
	22,0		210,0
	21,3		205,0
	22,0		208,0
	20,0		215,0
	21,0		215,0
	22,5		216,0
	20,8		218,0
	21,0		209,0
átlag	21,3	átlag	211,7
szórás	0,67	szórás	4,58
relatív %-os hiba	1,03	relatív %-os hiba	0,79
VII. Szőlő	14,0	VIII. Citromlé	100,0
	14,0		100,0
	14,5		98,0
	14,0		96,0
	14,5		103,0
	13,8		95,0
	13,5		101,0
	14,0		100,0
	14,2		98,0
átlag	14,0	átlag	99,0
szórás	0,30	szórás	2,35
relatív %-os hiba	0,71	relatív %-os hiba	0,79

3. táblázat folytatása

Anyag	AS mg%	Anyag	AS mg%
IX. Paradicsomlé	5,0	X. Pritamin	180,0
	4,5		182,0
	5,0		180,0
	5,0		182,0
	4,5		179,0
	5,4		181,0
	5,0		186,0
	4,9		183,0
	5,0		175,0
átlag	5,0	átlag	180,0
szórás	0,31	szórás	2,98
relativ %-os hiba	2,00	relativ %-os hiba	0,55

A módszer pontosságát AS adagolásával ellenőriztük. Minden vizsgált mintához párhuzamosan ismert mennyiségű aszkorbinsavat adtunk és a meghatározást így is elvégeztük. A két mérés közötti eltérés egyetlen esetben sem volt számottevő.

2. Néhány aszkorbinsav meghatározási módszer összehasonlítása

Kísérleteink további részében módszerünket három, ezidő szerint leggyakrabban használt eljárással hasonlítottuk össze: a jodometriás és Tillmans-féle titrálásokkal, valamint az α, α' -dipiridiles eljárással.

A meghatározási módok összehasonlítását először zavaró anyagot nem tartalmazó AS modelloldattal végeztük el. Az volt a célunk ugyanis, hogy tiszta oldatban megállapítsuk a párhuzamos mérések hibáját.

25 mg AS-at tartalmazó oldatból 5 párhuzamos bemérés-sel, mind a négy vizsgálati módszerrel meghatároztuk az oldat AS tartalmát. A mérési adatokat, valamint az ezekkel kapcsolatos számításainkat a 4. táblázat tartalmazza.

A berlinikék színreakción alapuló módszer a táblázatokban "fotometriás" megjelöléssel szerepel.

A természetes anyagok zavaró hatásának felmérésére, az összehasonlítás következő lépéseként, elsősorban fehérjét tartalmazó sajtextraktumot, ill. a C-vitamin méréseket leginkább zavaró színes anyagot /C-vitamint nem tartalmazó meggylevet/ adtunk ismert mennyiségű AS-at tartalmazó ol-

datokhoz. Erre a célra hóvirág sajtból készítettünk szűrletet /melynek alapanyag összetétele megegyezik a későbbiekben vizsgált C-vitaminos sajttal, de vitamint nem tartalmaz/, továbbá a Békéscsabai Konzervgyárból szereztünk be meggylevet, ennek összetétele a KÁMA-, ill. meggyiszörpökhöz használt alapanyagával azonos.

Ezzel a vizsgálatssorozattal azt kívántuk megállapítani, hogy hatással bírnak-e ezek az egyéb redukáló anyagot is tartalmazó adalékok az AS mérési módszerekre. Eredményeinket az 5. és 6. táblázatok tartalmazzák.

A táblázatokban a mérési adatok mellett feltüntetjük a matematikai statisztikai értékeléshez szükséges adatokat:

a./ számtani átlagot

b./ szórást

Mivel kis mintaszám volt a "korrigált empirikus szórás"-t képeztük az alábbi képlettel

$$s = \frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x)^2}{n-1}$$

c./ relatív hiba

$$V \% = \frac{100 \cdot s}{\bar{x}}$$

d./ Képeztük a 2s értéket, és segítségével kiszámi-

tottuk a megbízhatósági intervallumot. Így megállapítottuk, hogy 90 %-os statisztikai biztonsággal milyen tartományba esnek a párhuzamos mérések adatai.

A 7. táblázatban a mérések pontosságát tüntettük fel, ezt a valódi érték és a számtani középérték közötti különbség megállapításával nyertük. Ha V a valódi érték, akkor a módszer hibáját (Δ) a

$$\Delta = V - \bar{x}$$

különbség adja. Ezt a hibát a valódi érték százalékában is kifejezhetjük:

$$\Delta \% = \frac{V - \bar{x}}{V} \cdot 100$$

4. táblázat

Az AS meghatározási módszerek összehasonlítása
modell oldatokon

Mérési módszer	Aszkorbin- sav tart. mg%	Számta- ni átl. $\bar{x}$	Szórás s	Relatív hiba v%	Egyedi érték ingadozás $\pm 2s$	Megbízható- ségi in- tervallum $\bar{x} \pm 2s$
Jodometriás	24,69 25,07 25,00 24,85 24,88	24,89	0,147	0,60	$\pm 0,294$	24,60-25,18
Tillmans- féle	24,70 24,88 24,51 24,33 25,00	24,68	0,274	1,11	$\pm 0,548$	24,13-25,23
α -dipi- ridiles	24,43 23,46 23,65 24,73 23,17	23,89	0,645	2,70	$\pm 1,290$	22,60-25,18
Fotometriás	24,54 24,99 24,72 24,54 24,99	24,76	0,218	0,88	$\pm 0,436$	24,32-25,20

5. táblázat

Sajtextraktumot tartalmazó oldatban az AS meghatározási módszerek összehasonlítása

Mérési módszer	Aszkorbin- sav tart. mg%	Számta- ni átl. $\bar{x}$	Szórás s	Relatív hiba v%	Egyedi érték ingadozás $\pm 2s$	Megbízható- sági in- tervallum $\bar{x} \pm 2s$
Jodometriás	24,92 24,89 24,66 24,09 24,35	24,58	0,36	1,47	$\pm 0,722$	23,86-25,30
Tillmans- féle	24,07 23,52 23,40 24,22 23,59	23,77	0,326	1,37	$\pm 0,652$	23,12-24,42
α, α' -dipi- ridiles	15,06 14,24 16,24 14,78 15,52	15,17	0,76	4,99	$\pm 1,516$	13,65-16,68
Fotometriás	24,78 24,92 24,86 24,55 24,73	24,75	0,142	0,88	$\pm 0,284$	24,48-25,04

6. táblázat
Meggylevet tartalmazó oldatban az AS meghatározási módszerek összehasonlítása

Mérési módszer	Aszkorbin. sav tart. mg%	Számta- ni átl. $\bar{x}$	Szórás s	Relatív hiba v%	Egyedi érték ingadozás $\pm 2s$	Megbízható- sági in- tervallum $\bar{x} \pm 2s$
Jodometriás	26,50 26,75 26,75 26,90 26,30	26,65	0,236	0,885	$\pm 0,472$	26,18-27,12
Tillmans- féle	27,10 26,70 27,05 27,50 27,38	27,14	0,311	1,189	$\pm 0,622$	26,52-27,76
α -dipi- ridiles	17,32 16,50 17,25 17,08 16,90	17,01	0,242	1,423	$\pm 0,484$	16,53-17,49
Fotometriás	24,80 24,76 24,43 24,90 24,65	24,70	0,175	0,707	$\pm 0,350$	24,35-25,05

7. táblázat

AS mérések pontossága különböző oldatokban

Minta Módszer	Modell 25 mg- $\bar{x}$	Sajtban 25 mg- $\bar{x}$	Meggylében 25 mg- $\bar{x}$
Jodometria	- 0,12	- 0,42	+ 1,65
Tillmans	- 0,35	- 1,23	+ 2,14
α, α' -dipiridil	- 1,11	- 9,83	+ 7,99
Fotometria	- 0,24	- 0,24	- 0,30

3. Egyes ipari készítmények aszkorbinsavtartalmának alakulása tárolás alatt

Az élelmiszeripar a fokozott fogyasztói igények kielégítésére állandóan törekszik a választék bővítésére. Ezzel kapcsolatos a C-vitaminnal dúsított termékek megjelenése is. Itt a fő problémát a szintetikus vitamin több okra visszavezethető bomlékonysága jelenti. A gyors lebomlással kapcsolatosan a következő problémák merülnek fel:

- A bevitt vitamin milyen mértékben bomlik le a tárolási idő és hőmérséklet függvényében?
- Mennyi szavatossági időt célszerű vállalni a C-vitaminra az adott $\pm 10\%$ tűrésen belül, figyelembe véve azt, hogy a kereskedelem nem szívesen foglalkozik rövid szavatossági idejű termékek forgalmazásával?
- Mennyi AS-at kell a termékbe bevinni a névleges értéken felül ahhoz, hogy a szavatossági idő végére is biztosított legyen az előírt mennyiség?

A felsorolt problémáknál természetesen gazdasági kérdéseket is szem előtt kell tartani.

Az előállító számára elsősorban annak ismerete szükséges, hogyan alakul a C-vitamin tartalom a tárolás alatt. Dolgozatom további részében ezért néhány termék AS tartalmának raktározás alatti csökkenését vizsgáltam. Így lehető-

ségem nyílt egyidejűleg arra is, hogy a berlinikék színreakción alapuló AS meghatározás gyakorlati alkalmazhatóságát - más módszerekkel összehasonlítva - megvizsgáljam.

Meggy alapanyagú készítmények dusicása aszkorbinsavval

Tárolási kísérletet állítottunk be kétféle szörp /KÁMA-szörp, meggy-szörp/ meggy befőtt megfigyelésére. Ezeket a gyártás során dusicottuk AS-val.

A dusicás céljára választott termékeket a meggy befőtt kivételével az ipar jelenleg is gyártja, a befőtt komplettálására irodalmakban említett lehetőségek alapján került sor. A dusicás mértékét az alábbi táblázat tartalmazza.

4. táblázat

Megnevezés	Névleges AS-tartalom mg %
KÁMA-szörp	50
KÁMA-szörp	80
KÁMA-szörp	110
KÁMA-szörp	140
Meggy-szörp	50
Meggy-szörp	80
Meggy-szörp	110
Meggy-szörp	140
Meggybefőtt	80
Meggybefőtt	140

A mintákat üzemi körülmények között, az érvényben levő technológiák alapján készítettük. Az AS-at vizes oldatban adagoltuk a gyártás utolsó folyamataként a szörphöz, ill. a befőtt felöntőléhez.

A felsorolt készítmények mellett, a kereskedelemben kapható C-vitaminos sajtnak is figyelemmel kísértük az AS-tartalmát. A mintákat a Pécsi Tejüzem bocsátotta rendelkezésünkre.

A tárolási körülmények megválasztása

Tájékozódunk néhány kereskedelmi vállalatnál a raktározási körülményekre vonatkozólag. Így a választott tárolási hőfokok gyakorlatilag megfelelnek a kereskedelemben előforduló, évszaktól függő raktározási hőmérsékletnek.

A fenti módon előállított terméket kétféle hőfokon tároltuk, 20 és 30°C-on. A tényleges tárolási hőmérsékletek 19-21 °C ill. 29-32 °C között ingadoztak.

A C-vitaminos sajt tárolása 5, 20, 30 °C-on történt.

A minták aszkorbinsav tartalmának meghatározása

Az AS-tartalmat hetenként, később kéthetenként vizsgáltuk. A berlinikék színreakciók alapuló módszerünkkel párhuzamosan egy másik eljárással is megmértük minden esetben az AS-koncentrációt. A KÁMA-szörp gyártási engedélyében

a vitamintartalom ellenőrzésére a Tillmans módszert írják elő, ezért mi is ezt a kontrollt választottuk. Más esetekben pedig jodometriásan mértük az AS-összetételt.

Előkészítés

A szörpből és felöntőléből tízszeres hígítással készítettünk törzsoldatot. A vizsgálati anyagból 25 g-ot 0,01 g pontossággal kimértünk, 250 ml-es mérőlombikba. A vitamin bomlás megakadályozására 25 ml 10 %-os citromsavat adtunk hozzá, és jelig töltöttük. Ezt az oldatot használtuk a további meghatározásokhoz.

A meggy befőttből 25 g-ot kevés tengeri homokkal alaposan és gyorsan eldörzsöltünk és 25 ml 10 %-os citromsavval, majd desztillált vízzel 250 ml-es mérőlombikba mostuk, jelig töltöttük, szűrtük. Az így kapott extraktumot használtuk a meghatározáshoz.

C-vitaminos ömlesztett sajtot porcelán dörzsmozsárban kb 5 g homokkal, majd kis részletekben hozzáadott 10 %-os ecetsavval eldörzsöltünk. A kapott szuszpenziót 10 %-os ecetsavval 20 ml-es Stifft lombikba mostuk és 5 ml 25 %-os kénsavat mértünk be a fehérjék kicsapására. Az így előkészített oldatot centrifugáltuk. Ezzel az eljárással tiszta, átlátszó oldatot kaptunk, mely a meghatározást zavaró anyagot nem tartalmazott.

Az egyes módszerekkel kapott vizsgálati eredményeket a 8.-14. számú táblázatok és a 7.-13. grafikonok tartalmazzák. A táblázatokban a hetenként ill. kéthetenként mért adatok mellett, a matematikai kiértékeléshez feltüntettük a kétféle eljárással mért AS-tartalom közti különbséget, ill. a veszteséget a kiindulási AS százalékban kifejezve. A közölt adatok három párhuzamos mérés átlagértékei.

8. táblázat
KÁMA-szörp AS tartalmának alakulása tárolás alatt

Rakt. idő /hét/	Raktározási hőmérséklet							
	20°C				30°C			
	Aszkorbinsav mg%							
	Foto- metr.	Till- mans	Elté- rés	Veszte- ség	Foto- metr.	Till- mans	Elté- rés	Veszte- ség
	Kiindulási névleges AS: 50 mg%							
0.	46	49	+ 3	0	46	49	+ 3	0
1.	42	45	+ 3	8,7	39	44	+ 5	15,5
2.	39	45	+ 6	15,5	38	41	+ 3	17,3
3.	39	42	+ 3	15,5	37	40	+ 3	19,2
4.	37	40	+ 3	19,6	36	38	+ 2	19,6
6.	36	39	+ 3	21,8	34	35	+ 1	26,7
8.	36	39	+ 3	21,8	33	34	+ 1	28,3
10.	35	37	+ 2	24,0	32	33	+ 1	30,5
12.	35	36	+ 1	24,0	30	31	+ 1	34,8
14.	33	34	+ 1	28,3	28	29	+ 1	39,2
16.	30	33	+ 3	34,8	25	26	+ 1	45,7
18.	29	31	+ 2	37,0	24	24	0	48,0
20.	28	31	+ 3	39,2	21	23	+ 2	54,5
	Kiindulási névleges AS: 80 mg%							
0.	76	81	+ 5	-	76	81	+ 5	-
1.	68	74	+ 6	10,5	66	70	+ 4	13,1
2.	64	68	+ 4	15,8	61	64	+ 3	19,7
3.	60	67	+ 7	21,2	58	60	+ 2	23,6
4.	55	66	+ 11	27,6	53	60	+ 7	30,2
6.	52	60	+ 8	31,2	49	58	+ 9	35,4
8.	50	58	+ 8	34,2	46	56	+10	39,5
10.	50	55	+ 5	34,2	46	54	+ 8	39,5
12.	45	55	+ 8	38,2	45	53	+ 8	40,7
14.	45	54	+ 1	40,5	43	53	+10	43,5
16.	44	54	+10	42,0	42	54	+ 8	44,7
18.	43	52	+ 9	43,4	42	53	+ 9	44,7
20.	42	51	+ 9	44,8	41	52	+11	46,2

9. táblázat
KÁMA-szörp AS tartalmának alakulása tárolás alatt

Rakt. idő /hét/	Raktározási hőmérséklet							
	20 °C				30 °C			
	Aszkorbinsav mg%							
	Foto- metr.	Till- mans	Elté- rés	Veszte- ség	Foto- metr.	Till- mans	Elté- rés	Veszte- ség
	Kezdeti, névleges AS: 110 mg%							
0.	100	108	+ 8	-	100	108	+ 8	-
1.	97	106	+ 9	3,0	94	104	+10	6,0
2.	95	104	+ 9	5,0	91	101	+10	9,0
3.	92	104	+ 8	8,0	88	99	+11	12,0
4.	91	102	+11	9,0	87	98	+11	13,0
6.	90	97	+ 7	10,0	83	95	+12	17,0
8.	87	95	+ 8	13,0	81	92	+11	19,0
10.	85	94	+ 9	15,0	79	90	+11	21,0
12.	84	93	+ 9	16,0	78	89	+11	22,0
14.	82	93	+11	18,0	75	88	+13	25,0
16.	82	91	+ 9	18,0	73	86	+13	27,0
18.	81	92	+11	19,0	72	86	+14	28,0
20.	80	92	+12	20,0	71	85	+14	29,0
	Kiindulási névleges AS: 140 mg%							
0.	141	152	+11	-	141	152	+ 9	-
1.	138	147	+ 9	2,1	133	146	+13	5,7
2.	134	145	+11	5,0	130	143	+13	7,8
3.	132	142	+10	6,4	128	140	+12	9,2
4.	128	141	+13	9,2	125	137	+12	11,4
6.	127	140	+13	10,0	118	131	+13	16,3
8.	125	138	+13	11,3	116	129	+13	17,7
10.	124	136	+12	12,1	114	126	+12	19,3
12.	124	133	+ 9	12,1	111	125	+14	21,3
14.	124	131	+ 7	12,1	109	122	+ 13	22,7
16.	122	130	+8	13,5	106	121	+15	24,8
18.	121	128	+ 6	14,2	106	120	+14	24,8
20.	119	126	+ 7	15,6	105	118	+13	25,6

10. táblázat
Meggyszörp AS tartalmának alakulása tárolás alatt

Rakt. idő /hét/	Raktározási hőmérséklet							
	20 °C				30 °C			
	Aszkorbinsav mg%							
	Foto- metr.	Jodo- metr.	Elté- rés	Veszte- ség	Foto- metr.	Jodo- metr.	Elté- rés	Veszte- ség
	Kiindulási névleges AS tartalom: 50 mg%							
0.	50	56	+ 6	-	50	56	+ 6	-
1.	49	54	+ 5	2,0	48	50	+ 2	4,0
2.	47	52	+ 5	6,0	46	47	+ 1	6,0
3.	44	50	+ 6	12,0	43	47	+ 4	14,0
4.	42	48	+ 6	16,0	43	45	+ 2	14,0
6.	39	47	+ 8	22,0	42	45	+ 3	16,0
8.	40	47	+ 7	20,0	38	44	+ 6	24,0
10.	38	45	+ 7	24,0	36	43	+ 7	28,0
12.	37	43	+ 6	26,0	35	42	+ 7	30,0
14.	33	42	+ 9	34,0	31	40	+ 9	38,0
16.	29	40	+11	42,0	26	38	+12	48,0
18.	28	38	+10	44,0	24	36	+12	52,0
20.	28	37	+ 9	44,0	23	35	+12	54,0
	Kiindulási néveleges AS tartalom: 80 mg%							
0.	81	84	+ 3	-	81	84	+ 3	-
1.	78	82	+ 4	3,7	77	79	+ 2	5,0
2.	75	82	+ 7	7,4	74	76	+ 2	8,6
3.	72	80	+ 8	11,1	72	74	+ 2	11,1
4.	69	77	+ 8	14,8	71	74	+ 3	12,3
6.	68	75	+ 7	16,0	68	72	+ 4	16,0
8.	68	72	+ 4	16,0	67	70	+ 3	17,3
10.	66	69	+ 3	18,5	65	69	+ 4	19,6
12.	65	67	+ 2	19,7	61	68	+ 7	24,7
14.	62	66	+ 4	23,4	59	66	+ 7	27,1
16.	60	65	+ 5	25,9	55	63	+ 8	32,0
18.	59	63	+ 4	27,1	52	61	+ 9	35,8
20.	59	63	+ 4	27,1	51	60	+ 9	37,0

11. táblázat
Meggyszörp AS tartalmának alakulása tárolás alatt

Rakt. idő /hét/	Raktározási hőmérséklet							
	20 °C				30 °C			
	Aszkorbinsav mg%							
	Foto- metr.	Jodo- metr.	Elté- rés	Veszte- ség	Foto- metr.	Jodo- metr.	Elté- rés	Veszte- ség
	Kiindulási névleges AS: 110 mg%							
0.	100	109	+ 9	-	100	109	+ 9	-
1.	98	106	+ 8	2,0	94	103	+ 9	6,0
2.	96	104	+ 8	4,0	90	99	+ 9	10,0
3.	92	100	+ 8	8,0	88	95	+ 7	12,0
4.	91	98	+ 7	9,0	86	92	+ 6	14,0
6.	86	96	+10	14,0	82	88	+ 6	18,0
8.	84	95	+11	16,0	79	88	+ 9	21,0
10.	84	91	+ 7	16,0	76	85	+ 9	24,0
12.	82	91	+ 9	18,0	74	83	+ 9	26,0
14.	79	89	+10	21,0	72	80	+ 8	28,0
16.	77	86	+ 9	23,0	72	78	+ 6	28,0
18.	76	84	+12	24,0	71	77	+ 6	29,0
20.	75	83	+ 8	25,0	70	76	+ 6	30,0
	Kiindulási névleges AS: 140 mg%							
0.	128	137	+ 9	-	128	137	+ 9	-
1.	122	131	+ 9	4,6	119	132	+13	7,0
2.	119	127	+ 8	7,0	113	128	+15	11,6
3.	116	124	+ 8	9,0	108	124	+16	15,5
4.	113	122	+ 9	11,6	105	121	+16	18,0
6.	107	118	+11	16,4	103	116	+13	19,6
8.	106	117	+11	17,2	100	114	+14	21,2
10.	104	112	+ 8	18,7	98	111	+13	23,2
12.	104	111	+ 7	18,7	97	110	+13	24,2
14.	101	108	+ 7	21,0	94	106	+12	27,6
16.	100	106	+ 6	21,2	92	103	+11	28,6
18.	97	105	+ 8	24,2	91	101	+10	29,0
20.	96	103	+ 7	25,4	90	98	+ 8	30,7

12. táblázat
Meggybefőtt AS tartalma tárolás alatt

Rakt. idő /hét/	Raktározási hőmérséklet							
	20 °C				30 °C			
	Aszkorbinsav mg%							
	Felöntőlé		Gyümölcs		Felöntőlé		Gyümölcs	
	Foto- metr.	Jodo- metr.	Foto- metr.	Jodo- metr.	Foto- metr.	Jodo- metr.	Foto- metr.	Jodo- metr.
	Kiindulási névleges AS 80 mg%							
0.	162	172	30	36	162	172	30	36
1.	88	95	51	69	78	83	50	67
2.	78	81	58	74	81	83	56	74
3.	71	76	58	74	74	76	57	74
4.	70	75	58	74	74	74	57	72
6.	70	75	58	72	74	76	57	71
8.	70	76	57	63	73	76	56	69
10.	63	73	54	61	73	76	51	60
12.	61	70	52	61	62	69	48	58
14.	59	69	51	59	56	65	45	56
16.	57	65	48	58	53	60	44	53
18.	55	63	46	56	50	56	44	52
20.	54	60	45	54	48	51	43	50
	Kiindulási névleges AS: 140 mg%							
0.	250	258	35	45	250	258	35	45
1.	158	170	90	95	136	-	91	100
2.	126	130	80	96	120	-	89	98
3.	114	120	82	96	117	125	71	75
4.	110	120	82	96	116	128	71	75
6.	110	119	82	96	115	128	70	75
8.	110	116	80	92	112	128	70	70
10.	109	115	79	91	100	125	66	68
12.	109	113	78	87	97	119	64	67
14.	107	112	78	84	95	116	63	67
16.	106	110	76	80	94	110	60	67
18.	103	110	75	78	90	106	60	65
20.	101	110	78	78	88	100	58	64

13. táblázat
C-vitaminos sajt AS-tartalmának alakulása tárolás alatt

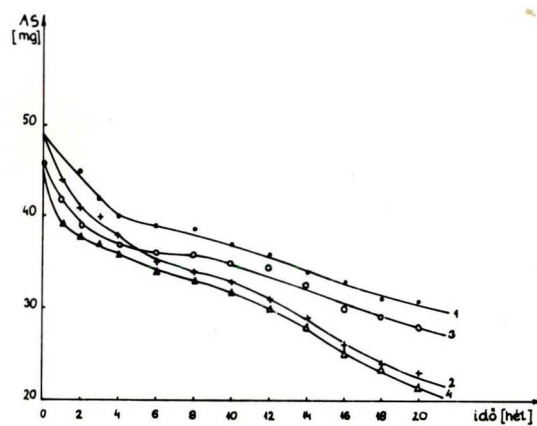
Rakt. idő /hét/	Raktározási hőmérséklet								
	5 °C			20 °C			30 °C		
	Aszcorbinsav mg/cikk								
	Foto- metriás	Jodo- metriás	Veszte- ség%	Foto- metriás	Jodo- metriás	Veszte- ség%	Foto- metriás	Jodo- metriás	Veszte- ség%
0.	57,57	58,28	-	57,57	58,28	-	57,57	58,28	-
1.	57,13	58,00	0,75	56,86	57,44	1,2	54,95	56,03	2,3
2.	56,53	57,30	1,8	56,17	57,05	2,4	53,63	53,98	6,9
3.	56,10	56,46	2,6	55,40	56,20	3,8	51,51	51,65	10,5
4.	55,51	55,70	3,6	53,32	54,47	7,4	48,48	49,62	15,2
6.	52,48	53,52	8,8	50,96	52,26	11,5	-	-	
8.	51,25	53,07	11,0	47,46	49,21	17,6	-	-	
10.	50,54	51,18	12,3	46,45	47,02	19,4	-	-	
12.	48,37	49,44	16,0	45,01	45,38	21,6	-	-	
14.	47,02	47,62	18,4	44,10	44,40	23,2	-	-	

A 30°C-on tárolt sajtot csak négy hétig vizsgáltuk, mivel a későbbiekben érzékszervileg elfogadhatatlan volt.

14. táblázat

C-vitaminos sajt AS-tartalmának alakulása tárolás alatt

Rakt. idő /hét/	Raktározási hőmérséklet								
	5°C			20°C			30°C		
	Aszcorbinsav mg/100 g								
	Foto- metriás	Jodo- metriás	Veszte- ség%	Foto- metriás	Jodo- metriás	Veszte- ség%	Foto- metriás	Jodo- metriás	Veszte- ség%
0.	172,7	174,8		172,7	174,8		172,7	174,8	
1.	171,4	174,0	0,75	170,6	172,3	1,2	168,8	168,1	2,3
2.	169,6	171,9	1,8	168,5	171,1	2,4	160,9	161,9	6,9
3.	168,3	169,8	2,6	166,2	168,6	3,8	154,5	154,9	10,5
4.	166,5	167,1	3,6	159,9	163,4	7,4	145,4	148,8	15,2
6.	157,4	160,6	8,8	152,9	156,8	11,5	-	-	
8.	153,7	159,2	11,0	142,3	147,6	17,6	-	-	
10.	151,6	153,6	12,3	139,0	141,0	19,4	-	-	
12.	145,1	148,3	16,0	135,3	136,1	21,6	-	-	
14.	141,0	142,8	18,4	132,5	133,2	23,2	-	-	

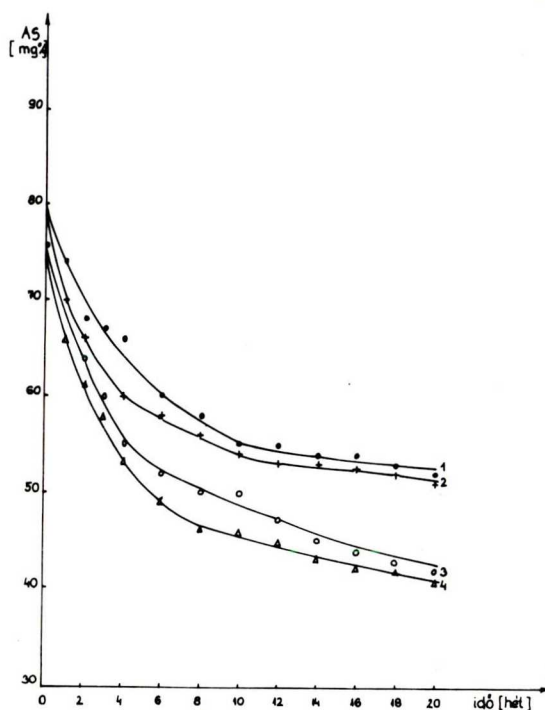


7. ábra

KÁMA-szörp AS tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 50 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

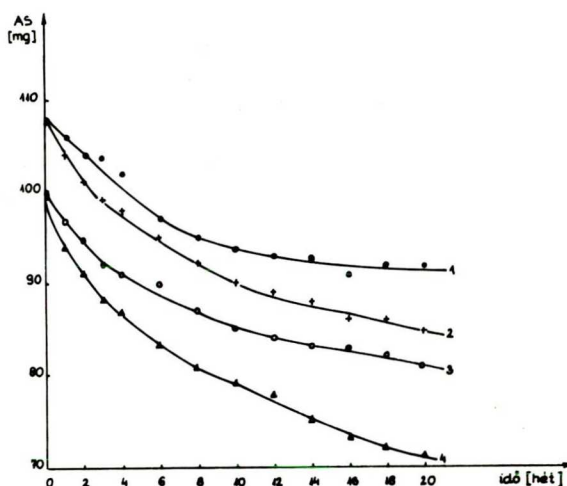


8. ábra

KÁMA-szörp AS-tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 80 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

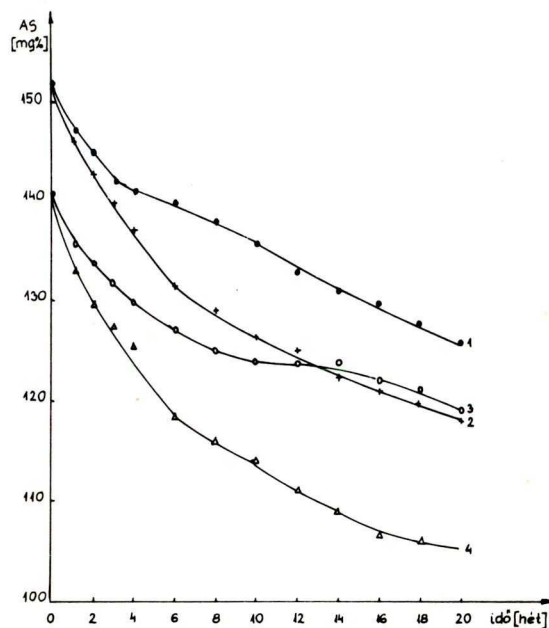


9. ábra

KÁMA szörp AS-tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 110 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

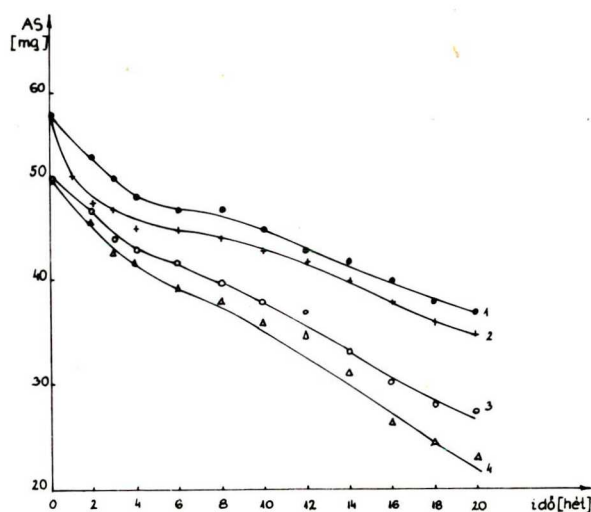


10. ábra

KÁMA-szörp AS-tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 140 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, Tillmans módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

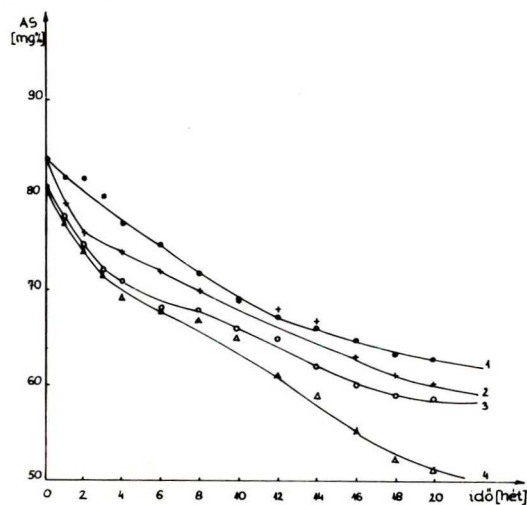


11. ábra

Meggyszörp AS-tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 50 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

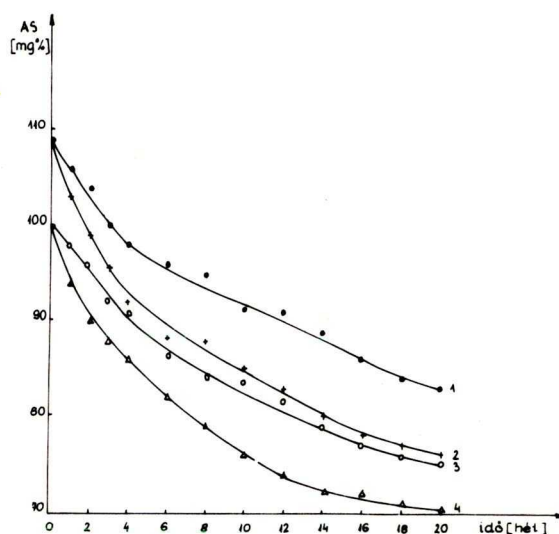


12. ábra

Meggyszörp AS-tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 80 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

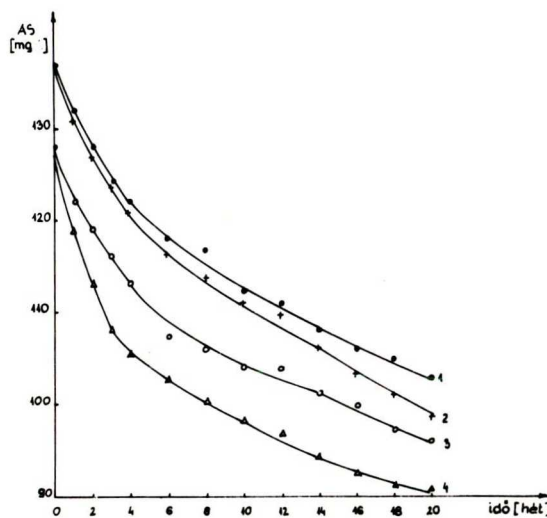


13. ábra

Meggyszörp AS-tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 110 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

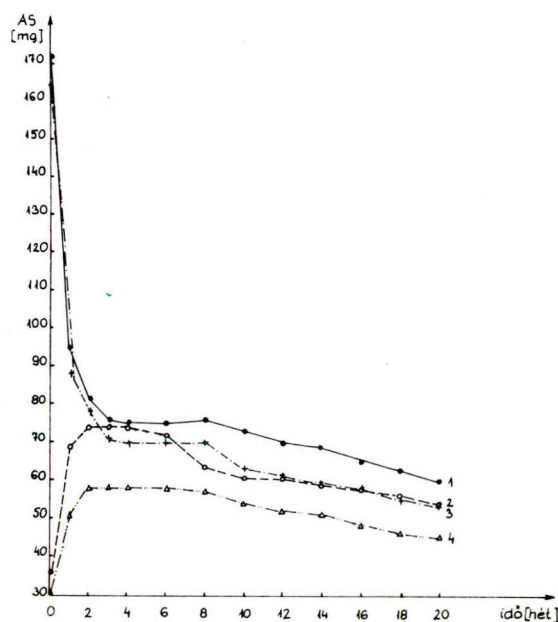


14. ábra

Meggyszörp AS-tartalmának alakulása tárolás
alatt

Kiindulási névleges AS-tartalom: 140 mg/100 g szörp

1. 20 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
2. 30 °C-on tárolt minta, jodometriás módszerrel mérve
3. 20 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve
4. 30 °C-on tárolt minta, fotometriás módszerrel mérve.

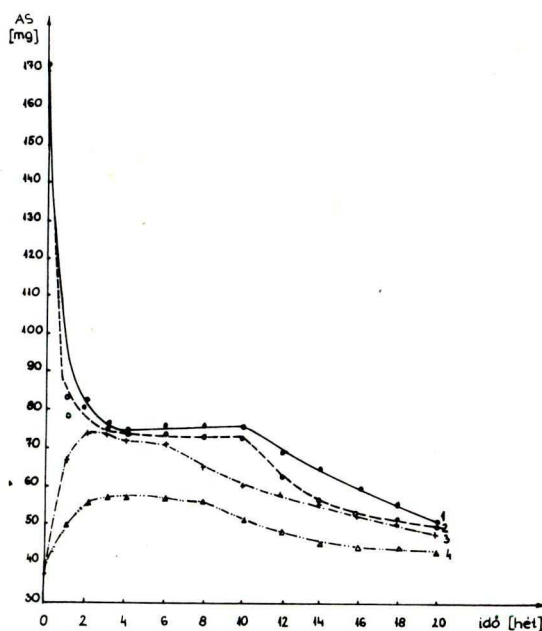


15. ábra

Meggy befőtt AS-tartalmának alakulása 20 °C-on
tárolva

Kiindulási névleges AS-tartalom: 80 mg/100 g felöntőlé

1. Felöntőlé vitamintartalma jodometriás módszerrel
2. Gyümölcs vitamintartalma jodometriás módszerrel
3. Felöntőlé vitamintartalma fotometriás módszerrel
4. Gyümölcs vitamintartalma fotometriás módszerrel.

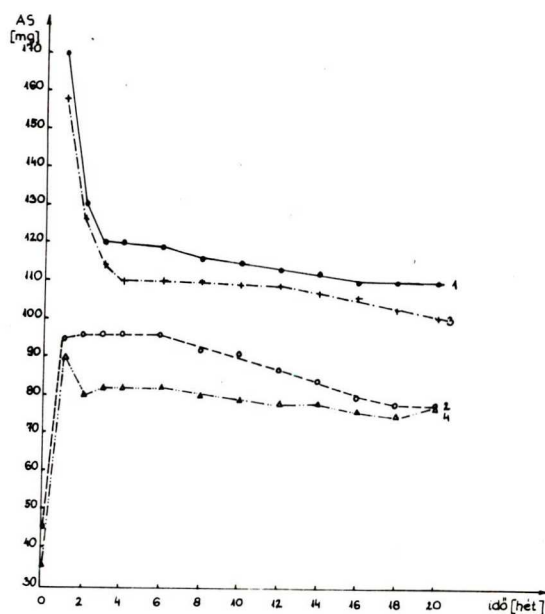


16. ábra

Meggy befőtt AS-tartalmának alakulása 30 °C-on
tárolva

Kiindulási névleges AS-tartalom: 80 mg/100 g felöntőlé

1. Felöntőlé vitamintartalma jodometriás módszerrel
2. Gyümölcs vitamintartalma jodometriás módszerrel
3. Felöntőlé vitamintartalma fotometriás módszerrel
4. Gyümölcs vitamintartalma fotometriás módszerrel.

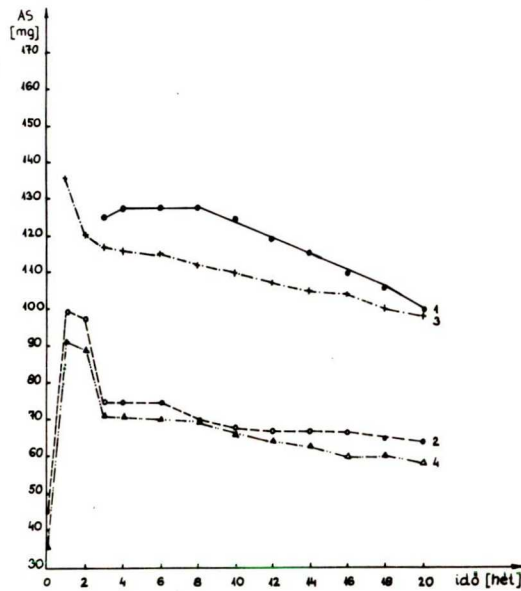


17. ábra

Meggy befőtt AS-tartalmának alakulása 20 °C-on
tárolva

Kiindulási névleges AS-tartalom: 140 mg/100 g felöntőlé

1. Felöntőlé vitamintartalma jodometriás módszerrel
2. Gyümölcs vitamintartalma jodometriás módszerrel
3. Felöntőlé vitamintartalma fotometriás módszerrel
4. Gyümölcs vitamintartalma fotometriás módszerrel.



18. ábra

Meggy befőtt AS-tartalmának alakulása 30 °C-on
tárolva

Kiindulási névleges AS-tartalom: 140 mg/100 g felöntőlé

1. Felöntőlé vitamintartalma jodometriás módszerrel
2. Gyümölcs vitamintartalma jodometriás módszerrel
3. Felöntőlé vitamintartalma fotometriás módszerrel
4. Gyümölcs vitamintartalma fotometriás módszerrel.

4. D I S Z K U S S Z I Ó

Dolgozatom első részében az AS berlinikék színreakción alapuló meghatározásának kidolgozásával foglalkoztam. Feladatomban volt a reakció körülményeinek pontos megválasztása, valamint annak eldöntése, hogy az alkalmazott kémszerek feleslege milyen hatással van az oldat extinkciójának alakulására. A kísérletek során a következő problémák jelentkeztek: nagyobb mennyiségű AS reakciójához szükséges kálium- [hexacianoferrat/III/] alkalmazása mellett az oldatban csapadék vált ki, ami a mérést lehetetlenné tette. Ezt a zavaró körülményt megfelelő mennyiségű nátriumfluorid adagolásával sikerült kiküszöbölni. Bebizonyosodott azonban, hogy a nátriumfluorid mennyisége csak bizonyos határok között mozoghat, tulajdonképpen a Fe/III/-ionokkal történő komplex képzés miatt az AS mérésére alkalmas színreakció visszaszorul. Méréseink szerint az oldat extinkciója 5 perc elteltével állandóvá válik, és azt a $K_3 [Fe/CN_6/]$ ill. $FeCl_3$ feleslege nem befolyásolja.

Megállapítottuk, hogy a színreakció követi a Lambert-Beer törvényt, így 0,1 - 1,8 mg AS határok között alkalmas az aszkorbinsav kvantitatív mérésére. Kiderítettük továbbá, hogy a C-vitamin extrahálására leggyakrabban használt foszorsav, oxálsav, citromsav, ecetsav közül az előbbi kettő - ugyancsak a Fe/III/-ionokkal történő komplex képzés miatt -

a színreakciót zavarja. Ezért az oldat kémhatásának beállítására a 3,6 pH értékű citrát puffert tartjuk a legmegfelelőbbnek.

Felvettünk a mérések kiértékelésére egy kalibrációs egyenest, amit a legkisebb négyzetek módszerével matematikailag finomítottunk. Kiszámoltuk a regressziós egyenest, amely a következőnek adódott:

$$Y = 0,010 + 1,07 X$$

A t-próbával ellenőriztük az összefüggésre fennáll-e a $\beta_0 = 0$ hipotézis. Számításaink szerint 95 % statisztikai biztonsággal a kalibrációs egyenes Y tengelyen való eltolódása nem áll fenn, a $b_0 = 0,010$ konstans elhanyagolható.

Az eljárást alkalmasnak találtuk természetes anyagok C-vitamin tartalmának mérésére is. Ezekből az anyagokból savas pH-jú pufferrel extraháltuk az AS-at, ami egyuttal stabilizálja is a vitamint. Erre azért van szükség, mert az AS igen bomlékony, és a gyümölcs- és zöldségfélék természetes kémhatása, a szövetek megsértése után különösen kedvez az oxidatív átalakulásnak. A folyamat savas pH tartományban lényegesen lassabban megy végbe.

Kísérleti munkánk következő részében az általunk javasolt módszert, további három - igen gyakran alkalmazott - eljárással hasonlítottunk össze: a jodometriás és Till-

mans szerinti titrálással, valamint az α, α' -dipiridiles, ugyancsak színreakción alapuló méréssel.

Első lépésben zavaró anyagot nem tartalmazó modell oldatokkal dolgoztunk, hogy megállapítsuk a párhuzamos mérések hibáját. A 4. táblázat adatai szerint ilyen körülmények között megközelítőleg azonos AS értékeket kaptunk mind a négy eljárással.

Az adatokat először matematikailag hasonlítottuk össze. A négy eljárás érzékenységének jellemzésére kiszámítottuk a százalékos szórást, ily módon az alábbi adatokhoz jutottunk:

jodometriás módszer	0,264
Tillmans szerinti	0,496
α, α' -dipiridiles	1,205
fotometriás	0,393

A továbbiakban a legérzékenyebb jodometriás módszert választottuk a matematikai összehasonlítás alapjául. Felhasználtuk az F-próbát annak elbírálására, hogy 10 %-os szignifikancia szinten / $\alpha/2 = 0,05$ / a módszerek pontossága eltér-e egymástól.

$$\frac{s^2_{\text{fotometria}}}{s^2_{\text{jodometria}}} = 2,1992 < F_{0,05/4,4/} = 6,39$$

Mivel az $F_{\text{számított}}$ kisebb, mint a táblázati érték, ebből

következik, hogy modell oldatokban a két módszer közötti eltérés nem szignifikáns.

$$\frac{s^2_{\text{Tillmans}}}{s^2_{\text{jodometria}}} = 3,472 < F_{0,05/4,4/} = 6,39$$

tehát a jodometriás és Tillmans szerinti titrálások ugyan-
csak nem különböznek egymástól jelentős mértékben, a két
eljárás egyformán pontos.

$$\frac{s^2_{\alpha\alpha'\text{-dipiridil}}}{s^2_{\text{jodometria}}} = 19,25 > F_{0,05/4,4/} = 6,39$$

Az α, α' -dipiridiles módszer eltérése erősen szignifi-
kans.

A mért adatokból és a matematikai számításokból meg-
állapítható, hogy zavaró anyagot nem tartalmazó oldatokban
is van eltérés a négy eljárással kapott AS értékek között.
A bevitt 25 mg AS-at számértékileg a jodometriás módszer
közelíti meg legjobban, ezt követi a fotometriás módszer.
Ennek szórása ugyan valamivel nagyobb, de a kettő közötti
különbség 95 %-os statisztikai biztonságot feltételezve
nem szignifikáns, a tényleges értéket mindkettő ugyanolyan
pontosan adja meg.

A módszerek összehasonlításával kapcsolatosan eldöntésre váró kérdés, hogy melyik alkalmas üzemi ill. kutató laboratóriumi mérésekre. A felsorolt módszerek közül viszonylag egyszerűen kivitelezhetők a titrimetriás eljárások, érthető, hogy üzemi körülmények között elterjedtek.

Vizsgálat tárgyává tettük a meghatározások technikai kivitelezését. A Tillmans módszerrel kapcsolatban megállapítottuk, hogy nehézséget jelent a festék igen rossz oldhatósága. Így az oldat faktorát csak néhány nap után lehet meghatározni, ugyanakkor a mérőoldat nem tartható el hosszú ideig, mert az állott festék a végpontot felismerhetetlenné teszi. A jó mérőoldat faktora idővel ugyancsak változik.

Az eddig használt objektív módszerről az α, α' -dipiridiles eljárásról megállapítottuk, hogy még zavaró anyagot nem tartalmazó oldatban sem pontos.

A 7. táblázatban feltüntettük a mért és tényleges AS értékek közötti különbséget, ebből következtetni lehet a módszerek rendszeres hibájára. Ez az érték^{is} ennél a meghatározásnál a legnagyobb, megnéztük mi lehet ennek a magyarázata.

Elsődlegesen azt állapítottuk meg, hogy a színreakció csak frissen készített α, α' -dipiridil oldattal egyértelmű - ellentétben a leírás megjegyzésével - továbbá, hogy a reakcióelegy 30 percig 37 °C-os termosztátban tartandó, és a hőfok legkisebb ingadozása a mérendő szín reprodukálha-

tatlan változását vonja maga után. A termosztálást a reagensek összemérése követi, és csak további 30 perc után mérhető az oldat fényelnyelése. Tapasztalataink szerint ez idő alatt nem minden esetben stabilizálódik az oldat színe.

Ezek a problémák már modell oldatokban is, de kísérő anyagok jelenlétében még fokozottabban jelentkeznek.

Mindezeket összegezve a négy módszer közül az új fotometriás eljárás a legmegfelelőbb. A mérés elvégzése valamivel hosszabb időt vesz ugyan igénybe, mint a két térfogatos méréssel. Sorozat vizsgálat esetén azonban az egy meghatározásra jutó idő lényegesen lerövidül, kb. 10 perc alatt elvégezhető. Ugyancsak mellette szól az objektív kiértékelés.

A természetes anyagok zavaró hatásának felmérésére, az összehasonlítás következő lépéseként, elsősorban fehérjét tartalmazó sajtextraktumot, ill. a C-vitamin méréseket leginkább zavaró színes anyagot, C-vitamint nem tartalmazó meggylevet adtunk, ismert AS-tartalmu oldatokhoz.

Ezzel a vizsgálatssorozattal azt kívántuk megállapítani, hogy hatással bírnak-e ezek az egyéb redukáló anyagot is tartalmazó adalékok az AS-mérési módszerekre. Eredményeinket az 5. és 6. táblázatok tartalmazzák.

Az adatokból általában megállapítható, hogy az össze-

hasonlítás alapjául választott módszereknél a szórás és relatív hiba értékei magasabbak, mint a korábban elemzett, kizárólag AS-at tartalmazó oldatokban. Ilyen körülmények között a vitamintartalmat legkisebb relatív hibával a mi módszerünkkel tudtuk mérni /mind a kétféle adalékanyagnál 1 % alatt/.

Az α, α' -dipiridiles módszer eredményei adalékanyagok kíséretében sem tükrözik reálisan a keresett AS-tartalmat.

Mivel az oldatok adalékanyagokkal is ugyanolyan mennyiségű AS-at tartalmaztak, mint modell oldatokban, a mért mennyiségek és a matematikai jellemzők összevethetők a 4. táblázat azonos értékeivel.

Az adatok matematikai kiértékelésére elvégeztük a t próbát. 10 %-os megbízhatósági szinten $/\alpha/2 = 0,05/$ az alábbi összefüggés felhasználásával:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{R_1 + R_2}{2}}}$$

ahol $\bar{x}_1$ és $\bar{x}_2$ a két módszer számtani középértéke
 R_1 és R_2 a mérések terjedelme.

alapanyag módszer	Sajtextraktum	Meggylé
Jodometria	nem szignifikáns	szignifikáns
Tillmans	határeset	szignifikáns
α, α' -dipiridil	szignifikáns	szignifikáns
fotometria	nem szignifikáns	nem szignifikáns

A matematikai értékelés megmutatta:

1. Modell oldatokhoz képest a Tillmans-féle és az α, α' -dipiridiles módszereket az adalékanyagok jelentősen befolyásolták.
2. A két alkalmazott anyag közül a sajt kevésbé zavart.
3. Fotometriás méréssel a változás mindkét adalékanyaggal lényegtelennek bizonyult.

A továbbiakban azt kívántuk eldönteni, miből adódhat a klasszikus módszerek bizonytalansága.

Első közelítésben megállapítottuk, hogy a fehérje anyagok kevésbé hamisítják meg az eredményt, mint a sok telítetlen kötést és egyéb oxidálható csoportot tartalmazó színes anyagok. A fehérje alapanyagok is zavarják ugyan a C-vitamin mérését /Tillmans módszernél, az eltérés szignifikans/, de ez a zavaró hatás elsősorban abból adódik, hogy maradéktalanul nem, vagy csak igen körülményesen távolíthatók el, ezáltal a zavaros oldatban a szubjektív titrimetriás eljárások végpontja nehezen felismerhetővé válik. /Gyors meghatározást igénylő ipari laboratóriumokban a teljes elkülönítést nem oldják meg./ A ténylegesnél magasabb értéket kapunk a vitamintartalomra, ha szabad -SH csoportot tartalmazó fehérje van jelen. Ilyenek távollétében, mint pl. a sajtextraktumnál is, a nehézségek ellenére, megfelelő rutin birtokában a vitamintartalom fehérje kísérő anyagok mellett is reálisan mérhető.

Ezzel szemben a meggylevet tartalmazó modelleknél jelentős különbség mutatkozik a tényleges 25 mg AS és az összehasonlításhoz választott 3 módszerrel kapott adatok között. A fotometriás módszer eltérése és szórása itt sem nagyobb, mint az ideális esetnek tekinthető tiszta AS oldatban.

Ennek a megnövekedett AS értéknek egyrészt az az oka, hogy a vizuális végpontmeghatározás színes oldatban elég bizonytalan, másrészt a meggylé tartalmazhat olyan anyagokat, melyek a mérési eredményt meghamisítva az AS-val együtt reagálnak a mérőoldattal. Ezzel szemben a kálium-[hexacianoferrát/III/] 0,45 V redoxpotenciáljából adódóan, az 0,36 V-nál pozitívabb zavaró anyagokkal nem tud reakcióba lépni.

Mérési eredményeink alátámasztják Spanyol nézeteit, miszerint az AS-val együtt reagáló anyagok, az ún. "reduktorok és reduktinsavak" redoxpotenciálja magasabb, mint az AS-é. A kálium-[hexacianoferrát/III/] oxidáló ereje elegendő az AS kvantitatív átalakításához, de az ennél pozitívabb anyagokat változatlanul hagyja. Ugyanakkor a 0,62 V redoxpotenciálú jódsav, ill. a 0,60 V 2,6-diklórfenolindofenol oldat fogyásokból számított AS érték magasabb, mint az általunk ténylegesen bevitt 25 mg. Ez az eltérés nagyobb, mint amennyit az oldat színe miatti túltitrálás esetleg jelenthet, az AS növekedés kizárólag az AS és az egyéb redukáló

anyagok együttes méréséből adódhat.

A berlinikék színreakción alapuló módszerrel a bevitt 25 mg AS-at - 0,25 mg eltéréssel mértük vissza.

A 7. táblázatban az elméletileg bevitt és a különböző módszerekkel mért AS értékeket vetjük össze. Ezek az adatok ugyancsak az elmondottakat látszanak igazolni.

Módszerünket a redukáló tulajdonságu zavaró anyagokon túl, a természetes anyagok saját színe sem zavarja, mivel a standardhoz is hozzáadunk a mérendővel azonos mennyiségű extraktot, ezáltal a szint a fotométer nullapontjának beállításakor kompenzáljuk. Másodszorban módszerünk érzékenysége sokkal nagyobb, mint az eddigi eljárásoké, 1-5 ml kivonatot 100 ml-re higitunk a fényelnyelés mérése előtt /míg a másik két módszerrel a tömény kivonatot titráljuk/. Ilyen kis koncentrációban a legtöbb természetes anyag saját színe elhanyagolható.

Összehasonlító méréseinket összegezve megállapítottuk, hogy míg idealizált körülmények között - a természetes anyagokban levő zavaró anyagok kizárása mellett - több módszer, viszonylag elfogadható relatív hibával adja meg a C-vitamin tartalmat, addig kísérő anyagok jelenlétében az eljárások megbízhatatlanná, az ipari laboratóriumok számára megengedhetetlenné válnak.

Amennyiben egy vállalat garantál bizonyos termékében, adott vitamintartalmat, a fogyasztók számára nem közömbös,

hogy a gyártástechnológiában a meglevő módszerek közül melyiket írják elő az AS-tartalom ellenőrzésére. Nem engedhető meg olyan eljárás a vizsgálatokra, mely a vitamin mellett nagyon sok zavaróanyagot is mér.

A C-vitaminnal dúsított termékekre vonatkozó vizsgálataink kiértékelése variancia analizissel történt. /8-10. táblázat/ A számításokhoz a következő összefüggéseket használtuk:

$$S_A = \frac{\sum_{i=1}^2 (Y_i)^2}{n \cdot q} - \frac{Y_{ijk}^2}{N}$$

$$S_B = \frac{\sum_{j=1}^2 (Y_j)^2}{n \cdot p} - \frac{Y_{ijk}^2}{N}$$

$$S_C = \frac{\sum_{k=1}^{13} (Y_k)^2}{p \cdot q} - \frac{Y_{ijk}^2}{N}$$

$$S_{O/AB/} = \frac{\sum_{i=1}^8 Y_i^2}{n} - \frac{Y_{ijk}^2}{N}$$

$$S_{O/AC/} = \frac{\sum_{j=1}^{26} Y_j^2}{q} - \frac{Y_{ijk}^2}{N}$$

$$S_{O/BC/} = \frac{\sum_{k=1}^{52} Y_k^2}{p} - \frac{Y_{ijk}^2}{N}$$

$$S_{AB} = S_{O/AB/} - S_A - S_B$$

$$S_{AC} = S_{o/AC/} - S_A - S_C$$

$$S_{BC} = S_{o/BC/} - S_B - S_C$$

$$S_o = \sum_{ijk=1}^{108} y_{ijk}^2 - \frac{y_{ijk}^2}{N}$$

$$S_r = S_o - S_A - S_B - S_C - S_{AB} - S_{AC} - S_{BC}$$

A faktor: tárolási hőmérséklet

B faktor: AS dusítás mértéke

C faktor: tárolási idő

p: A szintek száma

q: B szintek száma

n: C szintek száma

i: A mérések száma

j: B mérések száma

k: C mérések száma

Szabadsági fokok:

$$S_A : p-1$$

$$S_B : q-1$$

$$S_C : n-1$$

$$S_{AB} : /p-1//q-1/$$

$S_{AC} : /p-1//n-1/$

$S_{BC} : /q-1//n-1/$

$S_r : /p-1//q-1//n-1/$

$S_o : N-1$

8. táblázat

Különböző C-vitamin dúsítású KÁMA-szörp variancia analízisét
összesítő táblázat

Variencia forrása	Négyzet összeg	Szabadsági fok	Közepes négyzet összeg	F _{számított} F _{0,05} /táblázati/		
Tárolási hőm.	S _A = 665	1	665	8,40 +++	>	4,11
AS dúsítás	S _B = 119380	3	39793	520,76 +++	>	2,86
Tárolási idő	S _C = 9437	12	786,40	9,94 +++	>	2,03
T.hőm. x AS dúsítás	S _{AB} = 180	1x3	60,04	0,758 +	<	2,86
T.hőm. x t.idő	S _{AC} = 2600	1x12	216,67	2,74 ++	>	2,03
AS dúsítás x t.idő	S _{BC} = -2341	3x12	65,03	0,82 +	<	1,72
Reziduális maradék	S _r = 2849	36	79,15			
Teljes négyzet- összeg	S _o = 127561	103				

9. táblázat
különböző C-vitamin dúsításu meggy-szörp variancia analízisét
összesítő táblázat

Variencia forrása	Négyzet összeg	Szabadsági fok	Közepes négyzet összeg	F számított $F_{0,05}$ /táblázati/
Tárolási hőm.	$S_A = 343$	1	343	141,74 +++ > 4,11
AS dúsítás	$S_B = 63686$	3	21228,6	8771 +++ > 2,86
Tárolási idő	$S_C = 7854$	12	654,53	270,24 +++ > 2,03
T.hőm. x AS dúsítás	$S_{AB} = 86,65$	1x3	28,83	11,91 ++ > 2,86
T.hőm. x t.idő	$S_{AC} = 76,42$	1x12	6,36	2,63 ++ > 2,03
AS dúsítás x t.idő	$S_{BC} = 240$	3x12	6,68	2,70 ++ > 1,72
Reziduális maradék	86,97	36	2,42	
Teljes négyzet- összeg	$S_o = 72374$	103		

A táblázatokban előforduló jelölések:

- + : nem szignifikáns
- ++ : szignifikáns
- +++ : erősen szignifikáns

Meggy alapanyagu, C-vitaminnal dúsított termékekre vonatkozó vizsgálatainkból a következőket állapíthatjuk meg:

- a./ Az AS lebomlás mértéke a magasabb, - jelen esetben 29-32 °C-hőmérsékleten nagyobb, mint az alacsonyabb - 18-21 °C - hőfokon tárolt mintáknál.
- b./ A magasabb AS-tartalmu termékekben a vitamin bomlás mértéke kisebb, mint alacsonyabb koncentráció esetén.
- c./ A névleges AS tartalom az 50 és 80 mg%-kal dúsított szörpöknél már az első hónap végére kevesebb, mint amilyen mértékű csökkenést az előírás megenged. A 110 és 140 mg% névleges vitamintartalomnál a 10 %-os csökkenés a harmadik hónap végére következik be, 20 °C-on tárolva.
- d./ A tárolási veszteségek a befőttnél is a szörpökhöz hasonlóan alakultak, azzal a különbséggel, hogy ott a gyümölcs vitamintartalma kezdetben jóval alacsonyabb, mint a felöntőléjé. A tárolás alatt a gyümölcs AS-tartalma nő, ezzel párhuzamosan a lében a

koncentráció a vártnál gyorsabban csökkent, de a kettő sehol sem ért el azonos mennyiséget. Magasabb hőmérsékleten ez utóbbi folyamat gyorsabban játszódott le. /A meggybefőtthöz szándékosan több AS-at adagoltunk /80, 140 mg%/ számítva arra, hogy a pasztörözésnél nagyobb a veszteség. Ez azonban a várokozás alatt maradt./

10. táblázat

C-vitaminos sajt variancia analízisét összesítő táblázat

Variencia forrása	Négyzet-összeg	Szabadsági fok	Közepes négyzet-összeg	F számított /táblázati/
Tárolási hőmérs.	$S_A = 18,43$	1	18,43	$1,1 * < 5,12$
Tárolási idő	$S_B = 230,62$	9	25,62	$1,66 * < 3,18$
Reziduális maradék	$S = 138,46$	9	15,38	$1,3 * < 3,18$
Teljes négyzetössz.	$S_o = 387,52$	19	20,40	

A C-vitaminos sajt minták AS tartalma az idő és hőmérséklet függvényében egyenes arányban, közel lineárisan csökkent. A csökkenés mértéke a 30 °C-on tárolt mintáknál a legnagyobb, legkisebb a hűtőszekrényben tartott sajtnál. A gyártó vállalatok szempontjából elsősorban az a problé-

ma, hogy a szavatossági idő végére megmarad-e az 50 mg C-vitamin egy sajtcikkben.

Erre vonatkozó méréseinkből kiemeljük az alábbi adatokat:

5°C-on	14. héten	47,02 mg AS/cikk
20°C-on	12. héten	45,01 mg AS/cikk
30°C-on	4. héten	48,48 mg AS/cikk

Fentiek szerint - figyelembe véve a megengedett $\pm 10\%$ tűrést is - a vitamintartalom megmarad a szavatossági idő végéig. Kiderült, hogy a lebomlás sajtokban lényegesen lassabb folyamat mint szörpökben vagy befőttben. Kivételt képeztek ez alól a 30 °C-on tartott minták, melyek egy hónap múlva érzékszervileg elfogadhatatlanok voltak. Tekintettel arra, hogy a C-vitaminos sajtot elsősorban a téli és koratavaszi hónapokban forgalmazzák, nem valószínű, hogy ez időszak alatt a 30 °C-os raktározási hőmérséklet előfordul. Reálisabb a hűtőpulton, ill. 20 °C körüli raktárban történő tárolás, mely feltételek mellett, méréseink szerint az előírt vitamintartalom megmarad a szavatossági idő végéig.

A gyakorlatban szokásos mennyiségű C-vitaminnal dúsított OÉVI-, ill. KÁMA-szörpök vitamintartalma, a 6 hónapos szavatossági idő végére nem felel meg az előírásnak. Az álta-

lunk vizsgált, minta mérési adataiból megállapítható, hogy ez az idő, a szokásos raktározási feltételek mellett, még egy hónapnál is kevesebb.

Mai ismereteink alapján a vitaminbomlás megakadályozására nincs sok lehetőség. A flavonoid típusu vegyületek, melyek mint antioxidánsok szóbajöhetnének igen drágák, ipari alkalmazásuk ezideig nincs kidolgozva /57/.

A gyártó vállalat a kereskedelemben előforduló raktározási hőmérsékletre nem tud hatást gyakorolni. A túl rövid szavatossági idő nagy mértékben csökkentené a kereskedelem forgalmazási kedvét. Mindezeket figyelembe véve véleményünk szerint egyetlen megoldás kínálkozik, a névleges mennyiségnél 50-60 %-kal több AS-at adagolni a termékbe. Így biztosítható a 6. hónap végére is az előírásnak megfelelő vitamintartalom.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteinkben az AS-at redukáló tulajdonságánál fogva határoztuk meg, közel azonos redoxpotenciálu anyaggal - kálium- [hexacianoferrát/III/] oldattal - reagáltatva. Ezáltal minimálisra csökkent a C-vitamin hatást nem mutató "reduktonok" zavaró hatása. Fenti reakció kálium- [hexacianoferrát/II/] -ot eredményez, mely vas/III/-ionokkal sötét-kék színeződést mutat. Vizsgálataink szerint az oldat színintenzitásának mérésével 0,1 - 1,8 mg AS-tartalom között az AS-koncentráció kvantitativ meghatározható. A mérés kivitelezésére javaslatot tettünk, a kalibrációs görbének megadtuk a regressziós egyenesét.

Ezen eljárást összehasonlítottuk három, a gyakorlatban legelterjedtebb AS meghatározási metodikával. A pontosság megítélésére kiszámítottuk a szórás ill. relatív százalékos hiba értékeket. A módszerek matematikai összehasonlítására felhasználtuk az F és t próbát. Megállapítottuk, hogy a szintelen C-vitaminos sajtextraktum vitamintartalmának mérése 95 %-os statisztikai biztonsággal azonos hibahatáron belül adható meg a jodometriás és az általunk javasolt módszerrel. A színes C-vitaminnal dúsított meggylé AS tartalmát a zavaró anyagok kiküszöbölése és az objektív értékelés miatt az új módszer adja meg helyesen.

Vizsgáltuk egyes C-vitaminnal dúsított élelmiszeripari készítmények AS tartalmának alakulását, különböző, a kereskedelemben előforduló raktározási feltételek mellett. Erre a célra elsősorban szörpöket választottunk, ezek mellett meggybefőttel és a már kapható C-vitaminos sajtot.

Ezeknek a termékeknek az előállítását a C-vitamin táplálkozásélettani jelentőségére való tekintettel kiemelt kormányprogramoként hamarosan megkezdik. A gyártással és tárolással kapcsolatosan ismerni kell, hogy a különböző paraméterek /tárolási hőmérséklet, tárolási idő, dúsítási mértéke/ hogyan hatnak a vitamin-tartalom alakulására. Tisztáztuk e három faktor szerepét a vitamin bomlásában, számításokat végeztünk a variencia analízis módszerével. Ezen vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy a szörpök esetében nem, de a C-vitaminos sajtnál a szavatossági idő végére is megmarad az előírásnak megfelelő vitamintartalom. A KÁMA-szörpben a szokásos raktározási feltételek mellett, még egy hónapnál is rövidebb ideig van elfogadható mennyiségű vitamin, ha az előírt értékről indulnak. Ez azt jelenti, hogy a gyártó vállalatnak a névlegesnél 50-60 %-kal több AS-at kell a termékbe adagolni, ha 6 hónapig kívánja garantálni a C-vitamin tartalmat.

A termékek minőségének ellenőrzésével kapcsolatosan elsődleges problémaként jelentkezik a C-vitamin tartalom mérése. A fogyasztók szempontjából nem közömbös, hogy mi-

lyen módszert irnak elő az AS mérésére. Nem választható olyan eljárás, mely a C-vitamin mellett nagyon sok zavaró anyagot is mér. Másrészt pedig, az üzemi laboratóriumok csak gyorsan kivitelezhető módszert alkalmaznak, bármilyen alkotórész mérésére.

A tárolási kísérlettel igen nagyszámu mérési adathoz jutottunk. Ennek birtokában megállapítottuk, hogy módszerünk gyorsaságára és pontosságára való tekintettel, üzemi sorozatvizsgálatokra is alkalmas.

I R O D A L O M J E G Y Z É K

- /1/ Straub, F. B.: Biokémia, Medicina Könyvkiadó Bp. 1958.
- /2/ Balla, F.: Élelmezési Ipar, 16, 107. /1962/
- /3/ Telegdy Kovács, L.: Válogatott fejezetek az élelmiszer-
kemiából /Vitaminok/. Tankönyvkiadó Bp. 1962.
- /4/ Doby, G.: Növényi biokémia, Akadémiai Kiadó Bp. 1959.
- /5/ Kuthy, S.: Biokémia, Mezőgazdasági Könyvkiadó Bp. 1953.
- /6/ Tarján, R.: Az egészség, 65, 5. /1971/
- /7/ Rigó, J.: Az egészség, 63, 4. /1969/
- /8/ Fragner, J.: Vitamine, VEB Gustav Fischer Verlag Jena.1964.
- /9/ Snajdman, L.O.: Az Összövetségi Vitaminkutató Intézet
/UNIVI/ munkái, 4, 43., 51. /1953/
- /10/ Borschook, H., Davenport, H.W., Jeffroys, C.E.P., Warner,
R.C.: J. Biol. Chem. 117, 237. /1937/
- /11/ Balla, F.: Élelmezési Ipar, 13, 248. /1959/
- /12/ Kurata, T., Wahabayoshi, H., Sakurai, Y.: Agr. Biol.
Chem. 1., 2., 3. /1967/
- /13/ Széchényi, L.-né: Az élelmiszerek gyártásánál és tá-
rolásánál fellépő nemkívánatos változások el-
leni védekezés korszerű módszerei, Mérnöki
Továbbképző Intézet Bp. 1963.
- /14/ Schmall és munkatársai: Anl. Chem. 25, 1486. /1953/
- /15/ Mohamed, A., Halim, M.: A feldolgozás és tárolás ha-
tása paradicsomkészítmények C-vitamin és ka-

rotin tartalmának stabilitására.

/Kandidátusi értekezés/ Műszaki Egyetem
Élelmiszerkémia Tanszék. Bp. 1961.

/16/ Tangl, H.: A táplálkozás, Gondolat Könyvkiadó Bp. 1962.

/17/ Telegdy Kovács, L., Holló, J.: Élelmezési iparok,
Tankönyvkiadó Bp. 1957.

/18/ Spanyol, P.: Élelmiszervizsg. Közl. 3, 135. /1957/

/19/ Biedermann, W.: Mitteil. Lebensmittel und Hygiene, 47,
86. /1956/

/20/ Andreotti, R.: Ind. Conserve, Roma Parma 1956.

/21/ Moore, E. J. és munkatársai: Fruit Products, 22,
100. /1942/

/22/ Beatlie, H.G. és munkatársai: Food Research, 8, 395.
/1943/

/23/ Yourga, F.J. és munkatársai: Food Research, 2, 188. /1944/

/24/ Rosenfeld, B.J.: Biol. Chem., 150, 281. /1943/

/25/ Seaver, J.I., Kertesz, Z.I.: J. Am. Chem. Soc., 68,
2178. /1946/

/26/ Kardos, E.: Beszámoló a tátralomneci üdítőital konfe-
renciáról, Konzerv és Paprikaipar, 5, 197. /1967/

/27/ de Bruyn, L., Ekenstein, A.: Trev. Chim. des Paus-Bas.,
14, 203. /1895/

/28/ Kevei, J.-né: Élelmezési Ipar, 24, 161. /1970/

/29/ Strohecker, R., Hennig, H.M.: Vitamin-Bestimmungen,
Verlag Chemie GmbH., Weinheim. 235. /1963/

/30/ Leonhardt, H., Moeser, W.: Z. Analyt. Chem., 123, 3.

/1941/

/31/ Herbert, R.W., Hirst, E.L.: Chem. Soc., 1270. /1933/

/32/ Schulek, E., Kovács, J.: Magyar Gyógyszerésztud. Társ.

Értesítője, 16, 334. /1940/

/33/ Tillmans, J.: Z. Unters. Lebensmitteln, 60, 34. /1930/

/34/ Bessey, O.A.: J. Biol. Chem., 126, 771. /1938/

/35/ Spanyol, P., Kiszél M., Demel, I.: Magyar Kémiai Folyó-

irat, 59, 143. /1953/

/36/ Robinson, Stotz: J. Biol. Chem., 160, 217 /1945/

/37/ Zeller, A.: Z. Vitam. Horm. Fermentforsch., 5, 1. /1952/

/38/ Pijanowski, E.: Bull. Acad. Polan. Sci., 1, 73. /1953/

/39/ Barakat, M.Z. és társai: Anal. Chem., 27, 536. /1955/

/40/ Schaller, A., Raffai, G.: Fruchtsaft-Ind., 2, 201. /1957/

/41/ Schulek, E., Floderer, J.: Angewandte Chemie, 52, 615.

/1939/

/42/ Spanyol, P., Kevei, E., Blazovits, M.: Lebensmitt. Unt.

u. Forsch., 123, 93. /1963/

/43/ Schmall és munkatársai: Anal. Chem., 25, 1486. /1953/

/44/ Moor és munkatársai: Mitt. Lebensmitt. Unt. u. Hyg. 47,

20. /1956/

/45/ Müller-Mulot, W.: Z. Lebensmitt. Unt. u. Forsch., 140,

208. /1968/

/46/ Roe és Knether: J. Biol. Chem., 147, 399. /1943/

/47/ Roe, J.H., Oesterling, M.J.: J. Biol. Chem., 152, 511. /1944/

- /48/ Fürtig, W.: Pharmazie, 19, 209. /1964/
- /49/ Szőke-Szotyori, K.: Die Nahrung, 11, 139. /1967/
- /50/ Strohecker, R., Pies, H.: Lebensmitt. Unt. u. Forsch.,
118, 394. /1962/
- /51/ Petró, M.: Élelmiszervizsg. Közl., 14, 234. /1968/
- /52/ Török, A.-né: Élelmiszeripari Főiskola, Tudományos
Közlemények, 1, 37. /1971/
- /53/ Vámosné, Kardos, É.: Élelmiszeripari Főiskola, Tudos-
mányos Közlemények 2, 39. /1972/
- /54/ Vámos, E., Gabor, E.: Die Nahrung, 17, 409. /1972/
- /55/ Vámosné, Kardos, É., Gábor, M.-né: Élelmiszervizsgá-
lati Közlemények, 19, 83. /1973/
- /56/ Spanyol P.: Élelmiszerbarnulásokat okozó folyamatok
mechanizmusa és összefüggése a C-vitamin tar-
talommal. /Doktori értekezés/ 1963.
- /57/ Gábor, M.-né, Vámos, K.-né: Élelmiszervizsgálati
Közlemények, 16, 75. /1970/
- /58/ Schmall és munkatársai: Anal. Chem., 26, 1521. /1954/
- /59/ Felix M. - Blaha K.: Matematikai statisztika a vegy-
iparban, Műszaki Könyvkiadó, Bp., 1964.

Köszönetem fejezem ki Dr. Bartók Mihály egyetemi docensnek, hogy az általa vezetett Tanszéken lehetővé tette doktori értekezésem benyújtását.

Köszönettel tartozom Dr. Lakosné, Dr. Láng Kornélia adjunktusnak munkámhoz nyújtott segítségéért, szakmai tanácsaiért.

Ugyancsak köszönettel tartozom tanszékvezetőmnek, Dr. Gábor Miklósné főiskolai tanárnak szakmai segítségéért, valamint Fülöp Lászlónénak a technikai segítségért.

