

Diabetikus készítmények szénhidráttartalmának vizsgálata vékonyréteg kromatográfiás-spektrofotometriás módszerrel

TEKES LAJOSNÉ

Megyei KÖJÁL, Szolnok

FARKAS JÓZSEFNÉ

Élelmiszerkémiai Tanszéki Csoport,

Kertészeti Egyetem, Budapest

Érkezett: 1979. január 10.

A diabetikus készítmények egyre nagyobb számban való megjelenése indokoltá teszi fokozottabb ellenőrzésüket is. A termékek elbírálásánál fő szempont annak megítélése, hogy az ellenőrzött gyártmány jellemzői a csomagoláson feltüntetett értékeknek megfelelnek-e. Nem elég csak az összes-szénhidrát mennyiségét megadni, hanem az egyes szénhidrátokat külön-külön is fel kellene tüntetni. Ez azonban ma még nem minden gyártmány esetében fordul elő.

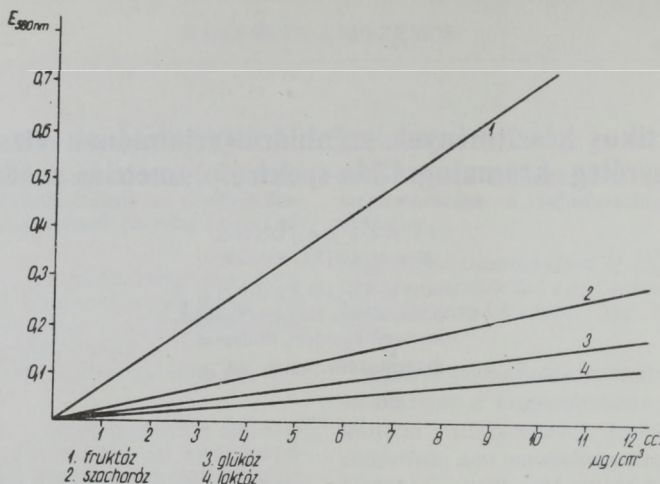
Köztudott, hogy a diabetikus készítmények nem tartalmazhatnak glükózt és szacharózt, mert ezeknek nagy a vércukorszint-emelő hatása. Ezért inkább olyan szénhidrátokat, ill. szénhidrátszármazékokat alkalmaznak, melyeknek glükózra alakulása, vagy a véráramba jutása lassú (fruktóz, cukoralkoholok).

Kísérleteink célja egyrészt az volt, hogy olyan módszert keressünk, amellyel a diabetikus készítményekben a szénhidrátok mennyiségét külön-külön is, viszonylag gyorsan meg lehet határozni, másrészt, hogy a módszert segítségével ellenőrizzük, mennyire egyezik a készítmények szénhidráttartalma a csomagoláson feltüntetett értékekkel.

KÍSÉRLETI RÉSZ

Vizsgálataink során a szabad szénhidrátokat vékonyrétegekromatográfiás úton határoztuk meg (1), majd mennyiségüket kétféle módszerrel mértük, vagy a rétegről való leoldás után, vagy közvetlenül a vékonyrétegen. Az előbbi fotometriás meghatározás, melynek elvi alapja az ún. *Molisch*-próba (2). E szerint a mono- és oligoszacharidok alfa-naftollal kénsavas közegben vöröses-ibolya színreakciót adnak. A színes oldat abszorpció maximumát — a szénhidrát fajtájától függetlenül — 580 nm hullámhossznál állapítottuk meg. Az utóbbi alkalmazott mennyiségmérés a foltok területének és színintenzitásuknak mérése közvetlenül a vékonyrétegen anilindifenilamin eleggyel történt előhívás után, extinkcióregisztrálással.

Az összes szénhidráttartalom meghatározását sósavas hidrolízis után alfa-naftollal való színreakció fotométeres mérése alapján, valamint Bertrand módszerrel végeztük.



Diabetikus készítmények szénhidráttartalma
(a minta 100 g-jában)

A vizsgált minták

Gyümölcs töltésű nápolyi (NDK gym.)

Tejszokoládé (osztrák és NDK gym.)

Keserű csokoládé (NDK gym.)

Dzsemek (sárgabarack, málna, szamóca, meggy, őszibarack; gyártotta a Nagykőrösi Konzervgyár)

Befőttek (körte Nagykőrösi Konzervgyár gym., alma, őszibarack, GYÜFŐ, Dunakeszi Konzervgyár gym.)

Tésztás termékek (Párisi henger, Kókusz tekercs, Diós beigli stb. VII., VV. Diabetikus Üzeme, Bp. gym.).

A meghatározáshoz szükséges anyagok és eszközök

Vékonyréteg, szilikagél, 105 °C-on, 2 órát aktiválva

Kromatografáló elegy: aceton-jégecet-víz 90:5:5 elegy

Kromatográfiás előhívó:

1%-os anilin oldat,

2%-os alkoholos difenilamin oldat,

konc. foszforsav,

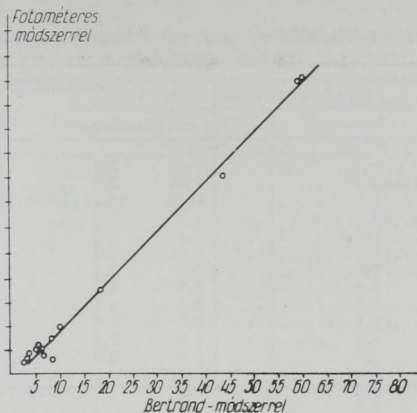
10:10:2 arányú elegye

(Az előhívó néhány napig sötét üvegben és hűtőszekrényben eltartható.)

Molisch reagens: 10%-os alfa-naftol (hűtőszekrényben 1–2 napig eltartható).

Spekol 2 V UV VIS automata spektrumiró fotométer.

ERI 10 Zeiss gym. extinkcióregisztráló.



Szabad-szénhidrátok meghatározása vékonyrétegekromatográfiás módszerrel

A minta előkészítése (3)

A befőttekből, dzsemekből homogenizálás után 0,1%-os oldatot készítettünk. A 35%-nál kisebb zsírtartalmú készítmények esetében zsírtalanítást végeztünk úgy, hogy a felapritott minta 10–50 g-ját egy Erlenmeyer lombikba állított, tölcserbe tett szűrőpapírkúpba helyeztük és 28–48 órán át szárítószekrényben 105 °C-on szárítottuk, közben a szűrőpapírt gyakran cseréltük. Nagyobb zsírtartalmú készítmények, pl. csokoládé zsírtalanítását úgy végeztük, hogy kb. 80 °C-os vízzel 1%-os oldatot készítettünk, centrifugálás és fagyasztás után a centrifugacsőben felül elhelyezkedő zsírreteg átszűrhető és a tiszta oldat a csőből kiönthető. A zsírtalanított mintákból is 1%-os oldatot készítettünk.

A szénhidrátok kromatográfiája

A vékonyréteg lapot két félre osztottuk, mindkét félre 2–2 mikrolitert vittünk fel minden egyes mintából. A kromatografálást acetone – jégcet – víz elegyében, háromszor ismételtelen végeztük. Ezt követően a lemezt megszáritottuk, és az egyik felét anilines előhívóval bepermeteztük. 15 percig 105 °C-os szárítószekrényben tartva a szénhidrátok jellemző színben jelentkeznek. A színes foltokat denzitométerrel értékeltük. A fotométeres méréshez a lemez másik, elő nem hívott feléről az előhívott foltokkal azonos magasságban a réteget lekapartuk, a szénhidrátokat 1–1 cm³ etanol – víz 1:1 elegyével leoldottuk, ez oldatot szűrtük, 5 csepp (kb. 0,5 cm³) 10%-os etilalkoholos alfa-naftolt és 1 cm³ cc. kénsvatadtunk hozzá, végül összerázás és lehűtés után a reakcióelegy extinkcióját 580 nm-en mértük.

(Nagyon fontos, hogy a fotométeres mérést azonnal elvégezzük, mert a kialakult lilás szín néhány percen belül opálósodik és sárgába megy át.) A koncentrációt az előzetesen elkészített kalibrációs egyenesek segítségével állapítottuk meg. A fotométeres méréshez készített kalibrációs egyenest az 1. ábrán mutatjuk be.

A minták kétféle módszerrel mért szénhidráttartalmát az 1. táblázatban foglaltuk össze. (Az adatok öt párhuzamos vizsgálat átlageredményei.) A tejcsokoládében csak laktózt, a többi mintában csak fruktózt lehetett kimutatni.

Szénhidrátok kalibrációs egyenese fotométeres módszerrel

Minta megnevezése	Szénhidráttartalom (g-ban)	
	Fotométerrel	Denzitométerrel
Tejcsokoládé (osztrák gym.).....	2,0	2,0
Tejcsokoládé (NDK gym.)	2,0	2,0
Gyüm. töltésű nápolyi	25,0	26,0
Gyüm. töltésű nápolyi (NDK gym.)	27,0	26,5
Sárgabarack dzsem	5,0	4,0
Málna dzsem	4,0	4,0
Szamóca dzsem	3,2	3,5
Meggy dzsem	4,0	4,0
Őszibarack dzsem	5,0	4,5
Körte befőtt	1,0	1,0
Alma befőtt	2,5	2,0
Őszibarack befőtt	2,0	2,0

Össz-szénhidrát meghatározása

A minta előkészítése megegyezett az előbbiekkal, utána hidrolízist végeztünk az alábbiak szerint:

A zsírtalanított, homogénezett minta 2–5 g-ját 200 cm³-es Erlenmeyer-lombikba mértük. Hozzáadtunk 50 cm³ sósavat. Az edény szájába üvegtölcsért téve 3 órán át vízfürdőn tartottuk, közben többször összeráztuk. Lehűtést után néhány csepp fenoltaleint adtunk a reakcióelegyhez és 10%-os NaOH-ot adagoltunk az átcsapásig. Majd 2,5%-os sósavval visszasavanyítottuk, 10 cm³ bázisos ólomacetáttal összeráztuk, 10 perc múlva az ólomfölsőleget 15 cm³ telített Na₂SO₄-tal kicsaptuk, 200 cm³-re töltöttük, végül 30 perc múlva szűrtük. A hidrolizált oldatból 2 mikrolitert 1 cm³ alkohol-víz 1:1 elegyével 0,5 cm³ alfa-naftollal és 1 cm³ cc. kénsavval elegyítve azonnal fotometráltuk. A minták összes-szénhidrát tartalmát Bertrand-módszerrel is meghatároztuk. A két módszerrel mért szénhidráttartalmat (glükózban kifejezve) a 2. táblázatban közöljük. (Az adatok öt párhuzamos vizsgálat átlageredményei.)

Kísérleti eredmények értékelése

A spektrofotometriás és Bertrand-módszerrel nyert vizsgálati eredmények közötti összefüggés alakulását grafikusan ábrázoltuk (2. ábra). A vízszintes tengelyen a Bertrand-módszerrel, a függőleges tengelyen a fotométeres módszerrel kapott vizsgálati eredményeket ábrázoltuk. (Az összes szénhidráttartalmat 100 g vizsgálati anyagra vonatkoztattuk.) A pontok egy egyenes körül helyezkedtek el.

Az egyenes egyenlete: $y = 0,976 x - 0,390$

Annak eldöntésére, hogy a két vizsgálati eljárással kapott eredmények szignifikánsan különböznek-e egymástól, a „páros értékelési” vagy „differenciámódszert” alkalmaztuk. Az eredményeket a 3. táblázatban foglaltuk össze.

Mivel a t-próba alapján a számított érték kisebb, mint a táblázati t érték, a két módszer között szignifikáns különbség nincs. A fotométeres módszer a Bertrand-módszer helyett jól alkalmazható. Megállapítható volt továbbá, hogy a csomagoláson feltüntetett össz-szénhidrát értékek a valóságnak megfelelnek.

Diabetikus készítmények összes szénhidrát tartalma
(glükózból kifejezve)

Minta megnevezése	Mért össz-szénhidrát (g)		A csomagoláson feltüntetett össz-szénhidrát
	Bertrand módszerrel	Spektrofotométerrel	
Gyüm. töltésű nápolyi	80,0	81,0	81 g/135 g
Gyüm. töltésű nápolyi (NDK)	81,0	81,0	71 g/135 g
Párisi henger	7,5	7,1	8 g/250 g
Kókusz tekercs	5,0	5,5	5 g/150 g
Diós beigli	15,0	14,5	18 g/150 g
Keserű csokoládé	3,5	4,0	3,5 g/100 g
Tejcsokoládé (NDK)	4,3	4,0	4,5 g/25 g
Tejcsokoládé (osztrák)	5,4	5,0	5 g/100 g
Csoki marcipán	2,0	1,0	2 g/27 g
Florida szelet	2,4	2,5	2 g/35 g
Praliné szelet	2,5	3,0	3 g/50 g
Sárgabarack dzsem	11,0	10,0	11,6 g/25 g
Körte befőtt	3,5	3,2	3,4 g/100 g
Őszibarack befőtt	4,7	4,6	4,8 g/100 g
Vegyes befőtt	5,2	5,4	5,5 g/100 g

3. táblázat

Párosított eredmények összehasonlítása

$\bar{d}$	s	n	t szám	t tábl. 0,1 %
1,075	1,44	17	3,077	3,69

$\bar{d}$ = a különbségek átlaga
s = a különbségek szórása
n = az adatpárok száma

IRODALOM

- (1) *Stahl, E.*: Dünnschicht Chromatographie, Springer Verlag, Berlin – Heidelberg – New York, 1967.
- (2) *Bálint, M.* et al.: Biokémiai gyakorlatok. Budapest, 1971.
- (3) *Lindner K.*: (szerk.) Különleges élelmiszerkészítmények és élelmiszeranyagok vizsgáló módszerei, valamint azok elbírálása. Orvostovábbképző Intézet jegyzete, Budapest, 1964.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДА В ДИАБЕТИЧЕСКИХ ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ ТОНКОСЛОЙНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Л. Текеш и Й. Фаркас

Авторы тонкослойным хроматографическим и спектрофотометрическим методом исследовали содержание углевода в диабетических продуктах. Свободные углеводы хроматографировали на тонком слое силикагеля при помощи смеси ацетон-ледяная уксусная кислота – вода 90: 5 : 5, потом их количество определили двумя методами: денситометрически – непосредственно после проявления на тонком слое – и фотометрически – после снятия со слоя и альфа-нафтолом при помощи цветной реакции.

Содержание всего углевода после гидролиза образцов, измеряли фотометрически на 580 нм. Содержание углевода определяли и методом Бертранда. Установили, что продукты не содержали сахарозу, даже ни в следах, содержали только лактозу и фруктозу. На основании математическо-статистической оценки результатов установили, что фотометрический метод подходящий для определения углеводов и, что величины указанные на установках соответствуют данным исследования.

UNTERSUCHUNG DES KOHLENHYDRATGEHALTES IN DIABETISCHEN PRÄPARATEN MITTELS DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE – SPEKTROPHOTOMETRIE

L. Tekes und J. Farkas

Der Kohlenhydratgehalt von diabetischen Präparaten wurde mittels Dünnschichtchromatographie und Spektrophotometrie untersucht. Die freien Kohlenhydrate wurden auf einer Silikagel-Dünnschicht mittels eines 90:5:5 Gemisches von Aceton – Eisessig – Wasser chromatographiert, sodann ihre Menge mit zwei unterschiedlichen Methoden u. zw. durch Densimetrie – nach Entwicklung unmittelbar auf der Dünnschicht – und durch Photometrie – mittels einer Farbreaktion mit alpha-Naphthol nach Extraktion von der Schicht bestimmt. Der Gesamtgehalt an Kohlenhydraten wurde nach Hydrolyse der Muster photometrisch bei 580 nm gemessen. Der Kohlenhydratgehalt wurde auch mittels der Bertrand-Methode bestimmt.

Es wurde gefunden, dass die Produkte Saccharose oder Glykose sogar in Spuren nicht enthielten, es waren nur Lactose und Fructose vorhanden. Auf Grund der mathematisch-statistischen Auswertung der Ergebnisse ist es feststellbar, dass die photometrische Methode zur Bestimmung der Kohlenhydrate geeignet ist, und dass die auf der Verpackung der Produkte angegebenen Werte den Untersuchungswerten entsprechen.

INVESTIGATION OF THE CARBOHYDRATE CONTENT OF DIABETIC PREPARATIONS BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHIC SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

L. Tekes and J. Farkas

The carbohydrate content of diabetic preparations was investigated by thin layer chromatographic and spectrophotometric method. Free carbohydrates were chromatographed on a thin layer of silica gel with a 90:5:5 mixture of acetone – glacial acetic acid – water, and subsequently their amount was determined by two methods independent of each other: by densitometry directly on the thin layer, subsequent to development, and by photometry after elution from the layer on the basis of a colour reaction with alpha-naphthol. The total content of carbohydrates was measured after the hydrolysis of the samples at 580 nm by photometry. The carbohydrate content was determined also by the Bertrand method.

It was found that the preparations contained not even traces of sucrose or glucose whereas lactose and fructose were present in them. On the basis of the mathematical – statistical evaluation of the results the photometric method proved suitable for the determination of carbohydrates, and the contents indicated on the package of preparations were identical with the analytical data.