

# Eljárás vízben emulgeált, valamint zselatinos minéralstabil A-vitamin quantitativ kimutatására, egyéb vitaminokat és ásványi anyagokat tartalmazó koncentrátumokból

GÉCZY GYÖRGY

Phylaxia Állami Oltóanyagtermelő Intézet Kémiai Laboratóriuma, Budapest.

Érkezett: 1964. február. 17.

A rohamosan fejlődő technika következtében gyorsan korszerűsödő kisereléstechológia sokszor egy-egy analitikai eljárás mielőbbi revízióját esetleg teljes átdolgozását teszi szükségessé. Ez áll egyes zsirolódó vitaminok kimutatására is.

Az „Élelmiszervizsgálati Közlemények” egy régebbi számában megjelent dolgozatomban az A-vitaminnak különböző természetes (pl. máj) ill. mesterséges termékekből (pl. koncentrált poralakú, olajos, viaszos, vízdoldható készítmények stb.) való kimutatásával foglalkoztam (1). A dolgozat beadásától (1961. szept.) eltelt idő óta az Intézetünkben előállított vitamin-nyomelem tartalmú készítmények összetételében bizonyos változások történtek, amelyek az idézett dolgozatban közölt eljárás módosítását tették szükségessé. (Szervek, olajos, viaszos készítmények A-vitamin tartalmának vizsgálatára továbbra is érvényes a régebben közölt eljárás.)

Néhány évvel ezelőtt Intézetünknel egyrészt egész egyszerű vitaminkoncentrátumok kerültek csak forgalomba, másrészt az A-vitamin, cetáceumba beolvasztott formában került feldolgozásra. Ma viszont ezek a készítmények változatos összetételben egész sor vitamint, vitaminszerű anyagot, antibiotikumot, nyomelemet stb. tartalmaznak. (Tájékoztatásul l. 3. táblázat.) Az ezek közt levő színező és zavaró anyagok jelenléte az A-vitamin quantitativ kimutatását a régebben közölt módon lehetetlenné teszi. Tovább komplikálta a dolgot, hogy több mint egy év óta a polivitamin készítményeinkbe, az A-vitamin egy korszerűbb kiserelésben, minéralstabil zselatin védőréteggel ellátott finom szemcsék – ún. gyöngy granula – formájában kerül bekeverésre. Ez annyit jelent, hogy a mérés előtt a zselatin védőburkot még külön fel is kell tární. E kettős probléma megoldása bizony igen sok kísérletbe került, de végül is sikerrel járt.

A néhány cég által (Hoffmann la Roche, Philips – Duphar, Merck, Pfizer, A. E. C.) forgalomba hozott zselatinos védőréteggel kiserelt zsirolódó vitaminok feltárására több módszer ismeretes. Régebben az enzimatis (pankreas) módszert ajánlották. A legegyszerűbb a 70°-os vízzel való feltárás. Ez a módszer a tiszta A-vitamin készítmények esetén saját tapasztalataink szerint igen jól beválí, azonban amint a készítményt valamely vívőanyaggal keverjük, (pl. keményítő, tejpor stb.) a vizes feltárás után azt benzollal kirázva egy alig szétváló emulziót kapunk és így a további munka lehetetlenné válik. Vizsgálataink szerint a legalkalmasabb feltárási módszer – amely egyben elszappanosítással is kombinálva van – egy lúgos-alkoholos-Na<sub>2</sub>S-os feltárás (2).

Ezt a módszert a hollandiai Philips-Duphar cégnél volt alkalmam a gyakorlatban megnézni. Meg kell magyaráznom, mi az oka hogy idézett cikkemben (1) az elszappanosítás ellen törtem pálcát és jelenleg éppen ezt propagálom. Az akkori elszappanosítási laboratóriumi technika mellett a kapott eredmények valóban jóval alacsonyabbak voltak az effektív hatóértéknél. Adott zselatinos stabilizált hatóanyag kimutatása azonban minimálisan vizes feltárással és benzoos extrakcióval vihető csak végbe, ami gyakorlatilag az elszappanosítástól nincs messze. A módszer az eddig ismert elszappanosítási eljárások közt a leg-

Polivitamin koncentrátum típus	Term. szám	Talált	Deklarált
		A-vitamin mennyiség NE/g-ban	
I.	630904	840	750
II.	630826	905	800
III.	630805	1020	800
IV.	630823	980	800
V.	630823	1090	800
VI.	630823	344	330
VII.	630815	660	600
VIII.	630823	350	350
IX.	630823	384	400
X.	630823	1040	800

2. táblázat

Phylasol A + D <sub>2</sub> Term. szám	Talált	Deklarált
	A-vitamin NE/ml-ben	
630728	21 000	20 000
630723	22 000	20 000
630724	21 600	20 000
630727	23 100	20 000

3. táblázat

I. sz. Polivitamin koncentrátum összetétele kg-onként	
A-vitamin .....	750 000 NE
D <sub>3</sub> -vitamin .....	50 000 NE
E-vitamin .....	500 NE
K <sub>3</sub> -vitamin .....	100 mg
B <sub>1</sub> -vitamin .....	100 mg
B <sub>2</sub> -vitamin .....	200 mg
B <sub>12</sub> -vitamin .....	2,5 mg
Niácín .....	1 000 mg
Ca-dl-pantothenat .....	300 mg
Cholinchlorid .....	50 000 mg
dl-methionin .....	2 500 mg
Furazolidon .....	5 000 mg
Penicillin .....	2 500 mg
Etoxymethylquinolin .....	6 250 mg
Tejpor .....	500 g
Vivóanyag .....	ad 1 000 g

gyorsabb a legegyszerűbb és a legpontosabb, mivel a jól megválasztott lúg-alkohol-víz arány következtében a feltárás ill. elszappanosítás után egy nem habzó és benzolos vagy petroléteres kirázás után gyorsan elváló oldatot kapunk, mellyel igen kényelmesen lehet tovább dolgozni. Ez a kitűnő eljárás saját tapasztalataink szerint bizonyos módosításokra szorul. Ugyanis polivitamin készítményeink legnagyobb része a fenti feltárás után egész sötétbarna oldatot ad. A színező anyagok a benzolba is átmennek és még Brockman-féle alumínium-oxidon sem választatók le. A Mulder-féle eljárást úgy kellett átdolgozni, hogy még a feltárással elszappanosítás előtt, a színező anyagokat eltávolítsuk anélkül, hogy az A-vitamint kioldanánk vagy részben károsítsuk. Ez végső soron, a minták feltárás előtti forró kloroformos, majd hideg éteres extrakciójával

sikerült. A minták előkészítése során a szemes derítést el kell kerülnünk. Az előző cikkem megjelenése óta végzett nagyszámú kísérlet azt igazolta, hogy a derítés mindenképpen A-vitamin veszteséget okoz. De a tapasztalatok szerint erre nincs is szükség, miután az A-vitamin tartalmú extraktumok vagy teljesen szintelenek vagy csak oly gyengén sárgások, ami a mérést (ha a vakpróba a vizsgálandó oldat) nem zavarja. Módszerünket az Intézetünk által forgalomba hozott összes típusú vitamin koncentrátumon kipróbáltuk és az 1. táblázat adatai szerint az kiválóan megfelel a magunk elé tűzött célnak. Megjegyezni kívánom, hogy a táblázatban feltüntetett „Talált” és „Deklarált” értékek közötti különbség onnan adódik, hogy az import készítmények az esetek legnagyobb részében célszerűségi okokból a deklarálnál magasabb hatóértékűek.\*

E dolgozat keretein belül szeretnék még beszámolni azokról a vizsgálatokról, amelyeket az Intézetünk által múlt év januárjától „Phylasol A + D<sub>3</sub>” néven forgalomba hozott A- és D<sub>3</sub> vitamint tartalmazó vízdoldó vitamin készítményünkkel végeztünk. Az előbb idézett közleményemben (1) beszámoltam az import vízdoldó A + D<sub>3</sub>-vitamin készítmények vizsgálatáról is. Saját készítményünk esetén – mely a hatóanyagok mellett egyéb, a készítmény stabilitását biztosító anyagokat is tartalmaz – az ott közölt A-vitamin meghatározás jóval nehezebb körülmények közt vihető keresztül. Készítményünk ugyanis vákuumbepárláskor erősen habzik. A gyakorlati részben közölt módszerrel a 2. táblázat adatai szerint az általunk újabban kidolgozott kirázásos módszer gyorsasága mellett pontos és reprodukálható eredményekhez vezet. Ebben az esetben is a talált és deklarált értékek közti különbség onnan adódik, hogy az import olajos A-vitaminacetát hatóértéke a feltüntetettnél általában magasabb.

### Gyakorlati rész

#### 1. Zselatinos, minierálstabil készítmelésű A-vitamin kimutatása vitamin-nyomelem koncentrátumokból

Bemérünk 3×5 g mintát (300 – 800 NE/g A-vitamin tartalommal). Minden egyes mintát 50 – 100 ml kloroformmal 1/2 percig enyhén forralunk, lehűtve leszivatjuk és nutschon még 30 ml éterrel lemossuk. A maradékot becsiszolt Erlenmayer lombikba visszük és 25 ml friss 2n. alkoholos KOH-t, 2ml n. glicerines Na<sub>2</sub>S-ot, 1 ml 10%-os vizes ascorbinsav oldatot adva hozzá, vízfürdőn 1/2 órán át enyhén forraljuk, becsiszolt visszacepegő hűtővel. Lehűtés után leszűrjük, szűrőn 25 ml alkohollal lemossuk és az egyesített lúgos-alkoholos barnás szürlethez 100 ml (vizes) n. KOH-t adunk. Az egészet először 50 majd 20 ml benzollal erőteljesen kirázzuk. Az egyesített benzolos extraktumot 30 ml n. KOH-dal (vizes) mossuk, majd ezután vízzel többször kirázva, fenoftaleinra nézve semlegesre mossuk. A benzolt kevés vizmentes Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-on szárítva térfogatát lemérjük és a mérésnél ezzel az aliquot résszel számolunk. Amennyiben magas A-vitamin értékre számítunk vagy a benzolos extraktum kissé színezett, úgy a benzolnak csak egy kiemelt részét pároljuk be szárazra. A maradékot pontosan 10 ml kloroformban oldjuk. A mérést glicerin-1,2-diklórhidrinrel vagy egyéb ismert módon végezzük el.

\* A vizsgálatok a „gyöngygranulátum”-val készült termelvényekre vonatkoznak. Megjegyezni kívánjuk, hogy az egyéb pl. pelyhesítéssel készült preparátumok esetén ez a módszer nem mindig ad kielégítő eredményt. Ugyanis, ha a készítmény nincs 100%-osan zselatinnal fizikailag stabilizálva, akkor utóbbi esetben a kloroformos kezelés A-vitamint old ki.

## 2. A-vitamin kimutatása A- és D<sub>3</sub>-vitamint tartalmazó vízben emulgeált készítményekből

Pipettával pontosan  $3 \times 0,5$  ml mintát mérünk be. Egy-egy mintát 15 ml kloroformmal alaposan kirázunk. A rázóétölcsérbe vizm. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ot szórunk. A kitisztult kloroformot leengedve még kevés friss kloroformmal lemossuk a Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ot. Az egyesített kloroformos extraktumot N<sub>2</sub> áramban, vákuumban néhány ml-re bepároljuk, végül pontosan 10 ml-re hígítjuk CHCl<sub>3</sub>-mal. A mérést ebből a törzsoldatból az ismert módon végezzük el.

### I R O D A L O M

[1] Géczy Gy.: ÉVIKE 8, 49, 1962.

[2] Mulder, F. J., Philips—Duphar (Hollandia). Közlés alatt.

## МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭМУЛЬГИРОВАННОГО В ВОДЕ И ЖЕЛАТИНОВОГО МИНЕРАЛЬНОСТАБИЛЬНОГО ВИТАМИНА А В КОНЦЕНТРАТАХ С СОДЕРЖАНИЕМ ДРУГИХ ВИТАМИНОВ И МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ

Дь. Гецу

Автор разработал метод определения желатинового минеральностабильного витамина А в концентратах следов витамина и метод определения масляного витамина А в препарате эмульгированном в воде. Первый метод можно применить также для измерения стабильности и сохраняемости витаминных концентратов. Основой метода служит что прежде омыления отстраняются смешивающие красящие вещества горячей хлороформной, затем холодной эфирной экстракцией. После омыления действующее вещество экстрагируется бензолом или петрольным эфиром, затем витамин А измеряется глицерин — 1,2 дихлоридрином. Значение метода заключается в том, что до сих пор не имели такой метод в промышленности. Из данных таблицы видно, что метод дает точные и хорошо воспроизводимые результаты.

## VERFAHREN ZUM QUANTITATIVEM NACHWEIS VON IN WASSER EMULGIERTEM, SOWIE IN GELATINEHALTIGEN MINERALSTABILEN PRÄPARATEN ENTHALTENEN A-VITAMIN IN KONZENTRATEN NEBEN ANDEREN VITAMINEN UND MINERALSTOFFEN

Gy. Géczy

Es wurde ein Verfahren ausgearbeitet zur Bestimmung von in gelatinehaltigen, mineralstabilen Präparaten enthaltenen A-Vitamin in Konzentraten neben anderen Vitaminen und Spurelementen, bzw. in Wasser emulgierten Ölpräparaten. Die obenerwähnte Methode eignet sich auch zur Messung der Stabilität, bzw. Lagerungsfähigkeit von Vitaminkonzentraten. Das Wesentliche des Verfahrens besteht darin, dass man vor der Verseifung die störenden Farbstoffe mit heißem Chloroform und nachfolgend mit kaltem Äther extrahiert. Nach der Aufschliessung zieht man den Wirkstoff mittels Benzol oder Petroläther aus, schliesslich misst man den A-Vitamingehalt vermittels Glycerin-1,2 Dichlorhydrin. Die Bedeutung des Verfahrens wird dadurch erhöht, dass solch ein Verfahren in der Industrie bisher nicht zur Verfügung stand. Aus den Angaben der Tabelle ist ersichtlich, dass die Untersuchungsmethode genaue und gut reproduzierbare Werte liefert.

METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF VITAMIN A,  
IN AN AQUEOUS EMULSION AND IN MINERALOUSLY STABLE GELA-  
TINEOUS SUBSTANCE, IN CONCENTRATES CONTAINING OTHER  
VITAMINS AND MINERAL SUBSTANCES

*Gy. Géczy*

A method was evolved for the determination of gelatinous mineralously stable vitamin A in vitamin-containing trace element concentrates and, respectively, in aqueous emulsions of oily vitamin A preparations. The former process also lends itself at the same time to the measurement of the stability and storability, respectively, of vitamin concentrates. In essence, in this method the interfering coloured substances are removed, prior to the saponification process, by extraction with hot chloroform followed by extraction with cold ethereal benzene. On processing the active substance is extracted by benzene or petroleum ether, and then vitamin A is measured with glycerol-1,2-dichlorohydrine. The significance of the suggested process is appreciable because up to the present no method of this type was available in industrial plants. The data of the table show that the method yields exact and well reproducible results.

PROCÉDÉ POUR LE DECELEMENT QUANTITATIF DE LA VITAMINE A  
EN EMULSION AQUEUSE ET DE LA VITAMINE A MINEROSTABLE  
GELATINEUSE DANS DES CONCENTRATS RENFERMANT AUSSI  
D'AUTRES VITAMINES ET DES CORPS MINERAUX

*Gy. Géczy*

Nous avons élaboré un procédé pour le dosage de la vitamine A gelatineuse minerostable dans des concentrats de vitamines-oligoelements et respectivement, pour le dosage de la vitamine A huileuse, en emulsion aqueuse. Le premier procédé peut aussi servir pour mesurer la stabilité, c'est-à-dire la conservabilité des concentrats de vitamines. Il consiste essentiellement en cela, que l'on élimine, avant la solubilisation par saponification, les matières colorantes troublantes par extraction avec du chloroforme bouillant, puis avec de l'éther froid. Après la solubilisation l'on extrait la matière active avec du benzol ou avec de l'éther de pétrole, ensuite l'on dose la vitamine A avec de la glycerine - 1,2 dichlorohydrine. L'importance du procédé est relevée par le fait, que jusqu'ici nous ne possédions pas de tel procédé au niveau industriel. Les valeurs du tableau montrent que notre procédé donne des résultats précis et bien reproductibles.