ISSN 1010-0121

FJÖLRIT RALA nr. 125

Mælingar á vatnsleysanlegum vítamínum

Ólafur Reykdal

JÚNÍ 1987
RALA RANNSÓKNASTOFNUN LANDBÚNAÐARINS

Fjölrit RALA – RALA Report

125

Fæðudeild, 8. rit – Food and Nutrition Dept., No. 8

Mælingar á vatnsleysanlegum vítamínum

Ólafur Reykdal

Útgefandi:
Rannsóknastofnun landbúnaðarins

Umsjón:
Tryggvi Gunnarsson

EFNISYFIRLIT

ÁGRIP

Markmiðið með þessu verkefni er að bæta nokkuð úr skorti á upplýsingum um vatnsleysanleg vítamín í íslenskri fæðu. Sýnin voru valin þannig að upplýsingar fengjust um meðalsamsetningu mikilvægra fæðutegunda. Jafnframt var hugað að nokkrum fæðutegundum sem hafa skipt meira máli á liðnum öldum.

Tekin voru sýni af kjöti, innmat, áleggi, fiski, jurtaafurðum, drykkjum o.fl. Þíamín og ríbóflavín var mælt í öllum sýnum. Einnig voru gerðar mælingar á askorbinsýru þegar það átti við. Mælingar voru gerðar á orkuefnum og steinefnum þegar slíkar upplýsingar voru ekki fyrir hendi.

Glöggt kom í ljós að kjöt er góður þíamín- og ríbóflavíngjafi. Svínakjöt er þó sérstaklega auðugt af þíamíni og selkjöt er mjög auðugt af ríbóflavíni. Að þessu undanskildu inniheldur lambakjöt einna mest af báðum þessum vítamínum. Selkjöt virðist vera sérstaklega næringarríkt. Það inniheldur mikið af járni og ríbóflavíni, en auk þess er fitan í því mjög ómettuð. Næringargildi hvalkjöts er svipað og kjöts af landdýrum eins og nautgripum.

Sölin komu nokkuð á óvart. Þau eru auðug af þíamíni og ríbóflavíni. Auk þess innihalda þau mjög mikið af kalíum.

Vítamínmagn í brauðum mældist mjög misjafnt. Er það vegna þess að ýmist er notað vítamínbætt eða óvítamínbætt hveiti.

Í kjötiðnaði er skortur á viðmiðunarstöðlum. Í ljós kom að allt að tífaldur munur gat verið á þíamíni í rúllupylsu frá tveimur framleiðendum.

Notkun C vítamíns sem aukefnis í matvælaiðnaði hefur farið vaxandi, einkum í drykkjarvöruiðnaði. C vítamíni er oft bætt í drykki sem fyrir innihalda lítið eða ekkert af vítamínum. Þetta er síðan notað til að auglýsa vöruna sem vítamíngjafa. Í einu tilfelli mældist C vítamín í kjöthakki, en óleyfilegt er að bæta efninu í ferskt kjöt.

Samanburður var gerður á vítamíninnihaldi ýmissa drykkjarvara. Í ljós kom að hreinn appelsínusafi var besti þíamín- og C vítamíngjafinn. Ávaxtadrykkir (15% hreinn appelsínusafi, 85% vatn og sykur) reyndust lélegir B vítamíngjafar vegna þynningarinnar. Þeir innihéldu aftur á móti talsvert af viðbættu C vítamíni. Gosdrykkir og svaladrykkir innihéldu sumir hverjir C vítamín, en engin önnur vítamín.

Fram hefur komið hvað vítamínin dreifast misjafnt á fæðutegundirnar. Þetta sýnir því í hnotskurn hve fjölbreytt fæðuval er mikilvægt.

Úttekt var gerð á aðferðum til að mæla vatnsleysanleg vítamín. Vökvaskiljun (HPLC) var prófuð fyrir mörg þessara vítamína. Í ljós kom að þessi tækni hentaði sérstaklega vel til mælinga á ríbóflavíni og askorbinsýru.

Í fyrri hluta skýrslunnar er gerð grein fyrir almennum niðurstöðum efnagreininga. Í seinni hlutanum, sem er mun ítarlegri, er greint frá vinnunni við að undirbúa vítamínmælingarnar og aðferðafræðinni sem tengist þeim mælingum.

1. ALMENNAR NIÐURSTÖÐUR

1.1 INNGANGUR

Tilgangurinn með þessu verkefni var upphaflega sá að fá upplýsingar um sem flest vatnsleysanleg vítamín í nokkrum kjöttegundum. Þar sem reiknað var með að vítamínmælingum yrði hætt að loknu þessu verkefni, var það víkkað út og látið ná til fleiri fæðuflokka.

Ekki er um auðugan garð að gresja þegar leitað er að niðurstöðum fyrir B vítamín í íslensku kjöti. Þíamín var mælt í einu kjötsýni hjá Atvinnudeild Háskólans um 1940 (1). Sú niðurstaða er orðin úrelt vegna þess hve mælitækni hefur fleygt fram. Aðrar upplýsingar um kjöt lágu ekki fyrir þegar byrjað var á því verkefni sem hér er greint frá. B vítamín hafa hins vegar verið mæld í fiski, mjólkurafurðum og unnum kjötvörum hér á landi (2,3,4). Mun meiri upplýsingar liggja fyrir um C vítamín í íslenskum matvælum (5).

Magn næringarefna, eins og vítamína, getur verið talsvert breytilegt innan sömu fæðutegundar. Um tvær leiðir er að velja við sýnatöku: Annars vegar að gera mælingar á fjölmörgum sýnum og hins vegar að gera mælingar á fáeinum dæmigerðum sýnum. Seinni kosturinn var valinn til að hægt yrði að fá yfirlit yfir fleiri fæðutegundir.

B vítamínmælingar eru mjög dýrar vegna þess hve þær krefjast mikillar vinnu. Þá eru upplýsingar um efnasamsetningu íslenskrar fæðu enn svo takmarkaðar, að nauðsynlegt er að efnagreina sem flestar fæðutegundir. Því var einnig mælt eins mikið af orkuefnum og steinefnum og kostur var þegar þessar upplýsingar vantaði.

Sýnatakan fór fram í júlí til desember 1986. Mælingum var öllum lokið í janúar 1987.

Mjög var vandað til sýnatökunnar og voru fyrirmyndirnar sóttar til Finnlands. Sýni voru valin þannig að hægt yrði að fylla upp í sem flestar eyður í næringarefnatöflum. Hér kennir því ýmissa grasa (sýnafjöldi er innan sviga):Kjöt (12), innmatur (5), álegg (3), fiskur (3), jurtaafurðir (6), drykkir (16), feitmeti (8), annað (4).

Við sýnatökuna var það haft að leiðarljósi að sýnin endurspegluðu þá fæðu sem færi á borð neytenda. Því voru flest sýnin keypt í verslunum. Sýni af lambainnmat voru þó tekin fersk í sláturhúsum. Sláturfélag Suðurlands, Ísfugl og Hvalur h/f létu í té sýni. Gísli Víkingsson sá um sýnatöku á hvalkjöti í Hvalfirði. Anna Guðrún Þórhallsdóttir útvegaði sýni af selkjöti og Valgeir Þorvaldsson útvegaði sýni af bleikju. Öllum þessum aðilum er þökkuð aðstoðin.

Rannsóknastofnun landbúnaðarins stóð að mestu leyti straum af kostnaði við þetta verkefni.

Kristrún Hrólfsdóttir mældi kólesteról. Baldur Vigfús - son sá um steinefnamælingar og Þorsteinn Þorvarðarson mældi hvítu. Hluti af fitumælingunum var gerður hjá Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins. Margrét Viðar sá um ritvinnslu á handriti.

1.2 SÝNATAKA.

Við sýnatökuna var unnið út frá eftirfarandi atriðum:

1) Að niðurstöður yrðu áreiðanlegt mat á meðalsamsetningu fyrir þann stað og tíma sem sýnatakan náði til.

2) Að sýnatakan yrði miðuð við fæðuna eins og hún kemur á borð neytenda.

Við sýnatöku var farið eftir fyrirmyndum frá Finnlandi (6,7). Fyrir hverja fæðutegund voru útveguð nokkur sýni. Þeim var blandað saman þar til blandan varð einsleit. Þessi blanda var kölluð safnsýni. Mælingarnar voru eingöngu gerðar á þessu safnsýni. Sé þessi sýnataka rétt útfærð má líta á niðurstöður mælinganna sem áreiðanlegt mat á meðalsamsetningu. Sýnatökuaðferðin hefur aftur á móti þann ókost að upplýsingar um breytileika fást ekki. Oftast er meðalsamsetning fullnægjandi við mat á neyslu þar sem svæðamunur og árstíðamunur jafnast út. Í byrjun er mikilvægt að fá upplýsingar um meðalsamsetningu sem flestra fæðutegunda. Það gefur einnig færi á að þrengja viðfangsefnin síðar.

Safnsýni á að vera nógu stórt til að jafna út einstaklingabreytileika. Óvíst er hvort það jafnar út svæðamun og árstíðamun. Hér fylgja því alltaf með upplýsingar um tímasetningu sýnatöku og sýnatökustað.

Framkvæmdinni má lýsa nánar þannig:

1) Útvegun sýna. Miðað var við að taka 6 - 10 sýni fyrir hverja fæðutegund. Taka varð þó tillit til framboðs og urðu sýnin því færri í nokkrum tilfellum. Sýnatökustaðir voru verslanir á höfuðborgarsvæðinu nema annað sé tekið fram. Vara með sömu dagsetningu var aðeins tekin einu sinni þegar um stimplaða vöru var að ræða.

2) Jöfnun sýna. Flest sýnin voru jöfnuð í 10 l Hobart farsvél þar til þau urðu einsleit. Þetta á við um kjöt, innmat og fisk. Álegg og grænmeti var jafnað í Mulinette kvörn. Drykkjum var blandað með því að hella þeim milli íláta. Feitmeti var blandað með hrærslu eða eftir bræðslu.

Einsleitt sýni var sett í tvær dósir fyrir hverja mæliaðferð. Byrjað var á vatnsmælingu og mælingu á askorbinsýru sama dag og jafnað var. Dósir sem ætlaðar voru fyrir aðrar mælingar voru settar í frysti.

3) Skipulagning mælinga. Gert var ráð fyrir því að fyrir hverja mæliaðferð væru teknar tvær dósir fyrir hvert sýni og gerðar tvær mælingar á sýni úr hvorri. Þannig fengust fjórar mæliniðurstöður fyrir hvert sýni. Með þessu móti átti að fást aukið öryggi og upplýsingar um breytileika í mælingunni. Við steinefna- og fitumælingar varð þó að notast við tvær mæliniðurstöður fyrir hvert sýni. Í töflu 1 eru teknar saman upplýsingar um safnsýnin.

Tafla 1. Upplýsingar um sýnatöku og blöndun sýna.

Sýnanúmer	Sýni	Upplýsingar
1	Lambalæri	Lærin voru öll úr flokki DI. Þyngd þeirra var 2,0-3,1 kg (meðaltal 2,5 kg) Fimm læri voru fengin frá SS og önnur 5 frá kjötvinnslu SÍS. Fyrir blöndun var yfirborðsfitan hreinsuð frá eins rækilega og kostur var. Þessi fita reyndist vera á bilinu 9-19% (meðaltal 14%) Bein voru 20-25% (meðaltal 22%) af heildarþyngd.
2	Svínalærissneiðar	Tilviljun réð því hvar úr lærinu sýni var tekið. Yfirborðsfita, ásamt puru og beinum, var skorin burt áður en sýnum var blandað saman. Yfirborðsfitan var á bilinu 7-20% (meðaltal 14%).
3-4	Gúllas	Sýnunum var blandað saman án frekari undirbúnings.
5	Holdakjúklingur	Fjórir fuglar voru frá Ísfugli, en einn frá hverju af eftirtöldum búum: Móum, Ásmundarstöðum, Vatnsenda og Hænsnasláturhúsinu. Fuglarnir voru 1,0-1,2 kg (meðaltal 1,1 kg). Kjöti, húð og fitu var blandað saman. Hreinsað var af beinum í samræmi við venjulega nýtingu.
6	Kjúklingabitar	Hreinsað var af beinum eins og hægt var og nýtanlegum hlutum blandað saman.
7-8	Selkjöt	Kópar voru veiddir við Skáleyjar 15.-20.júní 1986. Aðeins var tekið sýni af lundum. Kóparnir voru flokkaðir eftir því hvort þeir voru blóðgaðir (skotnir) eða ekki (netaveiði). Spik sem fylgdi vöðvunum var tekið frá og aðeins kjötið var hakkað.
9-12	Hvalkjöt	Tekin var sneið úr ákveðnum vöðva í hverju dýri, annars vegar fyrir miðju baki (bakkjöt) og hins vegar kviðkjöt fyrir aftan miðju. Engin yfirborðsfita var látin fylgja kjötinu. Um var að ræða dæmigert kjöt fyrir innanlandsmarkað.

Tafla 1 frh.

Sýnanúmer	Sýni	Upplýsingar
13-17	Lambainnmatur	Ársgömul lifur var keypt í verslunum áður en sláturtíð hófst.Sýni af öðrum innmat voru tekin í fimm sláturhúsum: á Selfossi, Hvolsvelli, Sauðárkróki, Akureyri og Húsavík. Sýnatakan fór fram tvisvar á hverjum stað. Sýnin voru valin af handahófi. Lifrin var ekki snyrt fyrir hökkun. Hjörtun voru fituhreinsuð líkt og gert er fyrir matreiðslu.
18-20	Álegg	Hangiálegg var allt frá SS.Rúllupylsa nr. 19 var frá Markaðssölunni, en rúllupylsa nr.20 var frá Síld og fiski.
21	Vatnableikja	Bleikjan kom frá Höfðavatni í Skagafirði og var veidd í janúar. Bleikjan var fremur smá, en falleg. Fyrir hökkun var fiskurinn flakaður, snyrtur og roðflettur. Nýtingin er miðuð við slægðan fisk.
22	Rækja	Lausfryst rækja var keypt í verslunum.
23	Reykt síld	Um er að ræða síldarflök frá Íslenskum matvælum og Egils síld. Flökin voru roðflett.
24	Reyktur rauðmagi	Sýnin voru keypt í verslunum í Reykjavík. Afskurður er roð og bein.
25	Gulrófur	Ysta lagið var skorið burt með hníf.
26	Skarfakál	Allt sýnið var tekið í einum hólma við Hólmavík. Það var ekki skolað með vatni.
27	Aðalbláber	Þrjú sýni frá Strandasýslu.
28	Krækiber	Þrjú sýni frá Strandasýslu og tvö úr verslunum úr Reykjavík.
29	Fjallagrös	Sýnin möluð eins og þau komu fyrir.
30	Söl	Sýnin voru fyrst söxuð og síðan var þeim blandað saman. Hluti var saxaður fínna og notaður til þurrefnismælingar. Afgangurinn var frostþurrkaður og síðan malaður. Niðurstöður voru umreiknaðar og miðaðar við upprunalegt sýni.
31	Kleinur	Kleinurnar voru keyptar í 6 verslunum.Um framleiðendur var ekki vitað.

Tafla 1 frh.

Sýnanúmer	Sýni	Upplýsingar
32-37	Drykkir	Aflað var eins margra pakkninga með mismunandi dagstimpla og kostur var. Blandað var með því að hella milli íláta. Eitt kg af Topp appelsínudrykk var þynnt í 5 kg, en 1 kg af "soda stream" var þynnt í 8 kg.Appelsínu-límonaði var gosdrykkur frá Ölgerðinni Agli Skallagrímssyni.
38-39	Grautar	Sýni voru gerð einsleit í kvörn.
40-46	Feitmeti	Svínafitan var afskurður frá sýni nr. 2. Selspik féll til við undirbúning á sýnum nr. 7 og 8. Smjörsýnum var blandað með hræslu en tólg og hydrolfeiti með bræðslu.

1.3 MÆLIAÐFERÐIR

Hvíta.

Undirbúningur fyrir mælingu fór þannig fram: Sýnin voru vigtuð í pappamót og síðan soðin í brennisteinssýru við 420 gráður á Celsíus. Einnig var notað peroxíð og selenhvati.

Síðan var framkvæmd sjálfvirk títrun, en hún byggðist á aðferð Kjeldahls. Tækið sem notað var er frá Tecator: Kjeltec Auto 1030 Analyzer (8).

Hvítufaktorinn 6,25 var notaður fyrir öll sýni.

Fita.

Fita var mæld með eterútdrætti (Soxhlet aðferð). Hafa verður í huga að með þessu móti nást fosfólipíðarnir ekki. Fyrir silung var þó notuð aðferð kennd við Schmidt-Bondzynski-Ratzlaff (útdráttur eftir meltingu í sýru).

Aska og steinefni.

Aska var fundin eftir brennslu við 550 gráður á Celsíus yfir nótt. Askan var leyst upp í þynntri salt-péturssýru. Járn og zink var mælt í öskulausninni með atómgleypnimælingu. Kalk og magnium var mælt með atómgleypni-mælingu eftir að öskulausnin hafði verið þynnt með lanþaní-umklóríð lausn. Natríum og kalíum var mælt með ljóslogamælingu. Fosfór var mældur með litmælingu (vanadat-molybdat aðferð).

Vatn.

Um 6 g af kjöti var blandað saman við sand og þurrkað við 100-102 gráður á Celsíus yfir nótt.

Grænmeti var þurrkað við 70 gráður á Celsíus þar til fastri þyngd var náð. Drykkir voru gufaðir á vatnsbaði og síðan þurrkaðir við 70 gráður á Celsíus.

Vítamín.

Þíamín var mælt með Auto Analyzer samkvæmt aðferð Solimans (9). Mælingar á askorbinsýru (10) og flestar mælingar á ríbóflavíni (11,12) voru gerðar með vökvaskilju (HPLC). Aðferðunum er nánar lýst í seinni hluta skýrslunnar.

Kólesteról.

Hvarflausnir voru kayptar frá Boeringer-Mannheim (Kit nr. 139050). Aðferðalýsingu fyrir mjólkurfitu frá fyrirtækinu var fylgt.

Mælingin byggir á því að fitan er sápuð og ósápanlegt efni einangrað. Kólesteról er oxað með hvatanum kólesteról oxidasa. Búið er til litarefni og litmæling gerð við 405 nm.

Ekki reyndist unnt að nota þessa aðferð til mælinga á kólesteróli í smjörlíki. Aðferðin var ekki nógu sérhæfð og mældust því önnur steról með kólesterólinu.

Áreiðanleiki mæliaðferða.

Þegar gerðar voru fjórar mælingar á sýni var reiknaður breytileikastuðull sem (meðalfrávik/meðaltal) x 100. Út frá þessum stuðli má fá nokkurt mat á áreiðanleika mælinga. Breytileikastuðull var reiknaður fyrir vatn í 28 sýnum. Hann var að meðaltali 0,27% og lágu gildin á bilinu 0,02 - 0,85%. Fyrir hvítu var samsvarandi meðaltal 1,0% fyrir 24 sýni og gildin lágu á bilinu 0,0-2,5%

Gott samræmi var milli tveggja mælinga á sama sýni fyrir ösku og steinefni.

Viðmiðunarsýni voru notuð við hvítu- og steinefnamælingar.

Gerð verður grein fyrir vítamínmælingum í seinni hluta skýrslunnar.

1.4 NIÐURSTÖÐUR: SAFNSÝNI

Töflur 2 til 11 sýna niðurstöður mælinga. Niðurstöðurnar á að túlka sem meðalsamsetningu. Sýnin voru ekki matreidd á nokkurn hátt á Rannsóknastofnun landbúnaðarins. Því var allt kjöt efnagreint hrátt.

Efnasamsetningin getur verið breytileg eftir árstíðum. Því er tímasetning sýnatökunnar alltaf sýnd í töflunum. Einnig er sýnt magn sýnanna til hægðarauka.

Afskurður var alltaf vigtaður og er hann gefinn upp sem hundraðshluti. Þegar hvert stykki var athugað sérstaklega er gefið upp meðaltal og síðan lægsta og hæsta gildi í sviga. Athygli skal vakin á því að ekki er hægt að bera saman nýtingu milli einstakra kjöttegunda vegna þess að sýnin eru ólík. Afskurðurinn er alltaf miðaður við fæðuna eins og neytandinn myndi kaupa hana.

Niðurstöður fyrir næringarefni eru gefnar upp fyrir fæðu án beina og annars afskurðar. Niðurstöðurnar eru byggðar á meðaltölum tveggja til fjögurra mælinga á sama sýni. Fyrir hvítu, vatn og vítamín er um að ræða meðaltal fjögurra mælinga á hverju sýni. Fyrir ösku, steinefni og fitu er um að ræða meðaltal tveggja mælinga.

Kjöt og innmatur.

Í töflunum hér á eftir eru sýni nr. 1 - 12 kjöt og innmatur er nr. 13 - 17.

Hafa ber í huga að lamba- og svínakjöt er fituhreinsað. Nauta-, folalda-, sel- og hvalkjöt er allt vöðvar án yfirborðsfitu. Holdakjúklingar eru hins vegar ekki fituhreinsaðir.

Í fituhreinsuðum lambalærum reyndist vera um 6% fita. Fituhreinsunin var mjög rækileg svo neðar verður ekki komist nema með því að fjarlægja fitu milli vöðva innan í lærinu. Í reynd ætti fituhreinsun í kjötvinnslum að leiða til þess að fita í lambalærum yrði á bilinu 6 - 15%. Samkvæmt töflunum er fita í öðru kjöti án yfirborðsfitu 1 - 5%. Holdakjúklingar innihalda 12% fitu þegar húð með fitu er nýtt.

Magn orkuefna, ösku og vatns í sel- og hvalkjöti er ekki áberandi frábrugðið því sem mælist í kjöti af landdýrum. Reyndar mælist magurt kjöt af sandreyðum hvíturíkast af þeim sýnum sem efnagreind voru.

Kjúklingabitar innihalda um 12% fitu eða svipað og holdakjúklingar. Bitarnir eru steiktir í feiti og má búast við því að venjulegir kjúklingabitar innihaldi 2 - 6% fitu fyrir steikingu. Saltinnihald í bitunum verður samkvæmt natríumákvörðun 1,4%.

Innmaturinn er ámóta góður hvítugjafi og kjötið sjálft. Þrátt fyrir það að búið sé að fituhreinsa lambahjörtun með venjulegum hætti mælist í þeim 5% fita.

Vítamínmælingarnar leiða í ljós nokkra sérlega góða þíamín- og ríbóflavíngjafa. Svínakjöt inniheldur meira þíamín en annað kjöt. Sömuleiðis inniheldur selkjöt mun meira ríbóflavín en annað kjöt. Lambalifur og lambanýru innihalda mjög mikið af ríbóflavíni. Lambahjörtu innihalda meira af bæði þíamíni og ríbóflavíni en lambakjötið.

Niðurstöður fyrir vítamín eru í líkingu við það sem erlendar heimildir gefa upp. Ríbóflavín hefur þó mælst lægra í grænlenskum sel (13). Hafa ber í huga að selkjötið er einn ákveðinn vöðvi og ekki er hægt að útiloka það að munur milli vöðva sé talsverður.

Athyglisvert er að bera saman steinefnainnihald í kjöti af lömbum, svínum, nautgripum, folöldum, kjúklingum, selum og hvölum. Í grófum dráttum er magn þeirra steinefna, sem efnagreind voru, svipað.

Þó er að finna þrjár mikilvægar undantekningar:

1. Járn er í sérstaklega miklu magni í selkjöti. Aðeins í blóðmör hefur mælst meira járn. Svína- og kjúklingakjöt er lakari járngjafi en aðrar kjöttegundir. Því dekkra sem kjötið er, því betri járngjafi er það.

2. Hvalkjöt og kjúklingakjöt er heldur lakari zinkgjafi en aðrar kjöttegundir.

3. Selkjöt inniheldur meira natríum en aðrar kjöttegundir.

Tvöfalt meira járn er í lambahjörtum en lambalærum. Á móti kemur að zinkið í hjörtunum er lægra. Að öðru leyti er magn steinefnanna svipað.

Næringargildi. Í töflunum má glöggt sjá að kjöt er góð uppspretta fyrir eftirtalin næringarefni: Hvítu, þíamín, ríbóflavín, járn og zink. Selkjöt er sérlega næringarríkt, einkum er það framúrskarandi járn- og ríbóflavíngjafi. Hvalkjöt hefur svipað næringargildi og kjöt af sauðfé og nautgripum, en fitan hefur aðra samsetningu.

Álegg.

Í töflu 6 eru sýndar niðustöður efnagreininga á hangiáleggi og rúllupylsu. Þegar borið er saman við rannsókn frá 1983 (4), virðist hangiáleggið nú vera fituminna. Rúllupylsan er frá tveimur framleiðendum sem ekki voru með í rannsókninni 1983. Í báðum tilfellum var varan seld undir sama heiti: rúllupylsa. Samt eru þetta vörur með ólíka samsetningu og úr mismunandi hráefnum. Rúllupylsa nr. 19 frá Markaðssölunni inniheldur 32% fitu og aðeins 0,05 mg þíamín/100g enda er eitt aðalhráefnið fita, en verið er að koma út umframmagni af fitu. Rúllupylsa frá Ali inniheldur 22% fitu og 0,41 mg af þíamíni/100g. Til þess að fá svo hátt þíamínhlutfall þarf að nota talsvert magn af svínakjöti.

Þíamín og ríbóflavín í hangiáleggi er því sem næst jafnmikið og í fersku lambakjöti. Rýrnun við vinnsluna virðist því vera óveruleg.

Fiskur og rækja.

Tafla 7 sýnir niðurstöður.
Sýni af vatnableikju inniheldur jafnmikla hvítu og fituhreinsað lambalæri, en bleikjan inniheldur minni fitu. Heldur minna járn og zink er í bleikjunni en lambakjötinu.

Reyktur rauðmagi er bæði mjög feitur og saltur. Vatnsinnihaldið er orðið aðeins um 41%, en í ferskum rauðmaga gæti það verið um 75% (14). Fitan er 35% og samkvæmt natríummælingu er saltinnihald 8,3%. Minna þessar tölur helst á spægipylsu. Í reyktri síld er saltinnihaldið 5,5%.

Magn þíamíns og ríbóflavíns er mjög mismikið í sýnunum. Í bleikju og reyktum rauðmaga er talsvert af þíamíni. Í reyktri síld mældist aftur á móti ekkert þíamín og lítið í rækju. Þekkt er að í fiski getur verið mikið af hvatanum þíamínasa, en hann brýtur niður þíamínið. Líklega er þetta skýringin á þesssum lágu gildum. Þessar niðurstöður eru í samræmi við gildi frá Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins (2).

Ýmsir jurtahlutar.

Sýni nr. 25 - 30 eru nokkrar ólíkar afurðir úr jurtaríkinu: Rófur, skarfakál, ber, fjallagrös og söl.

Rófur, skarfakál og ber innihalda fremur lítið af B vítamínum og steinefnum. Skarfakál gefur þó talsvert af natríum, en e.t.v. hefði mátt losna við það að einhverju leyti með skolun.

Svo virðist sem fjallagrös geti helst haft þýðingu sem kalkgjafi. Sölin komu aftur á móti á óvart sem ágætur vítamín- og steinefnagjafi. Þau innihalda meira að segja talsvert af C vítamíni. Það er með ólíkindum hve kalíuminnihald þeirra er mikið.

Í skarfakáli mældist askorbínsýra um 29 mg/100g. Sýnið þurfti að geyma í frysti í fjóra mánuði áður en hægt var að mæla askorbínsýruna. Því er líklegt að hluti af askorbínsýrunni hafi breyst í dehydroaskorbínsýru. Eldri mælingar frá Júlíusi Sigurjónssyni (5) og fæðudeild Rannsóknastofnunar landbúnaðarins benda til að askorbínsýra í fersku skarfakáli sé á bilinu 120 - 140 mg/100g.

Mögulegt er að hvíta í fjallagrösum og sölum sé ofmetin, þar eð um ýmis köfnunarefnissambönd gæti verið að ræða.

Drykkir.

Sýni nr. 32 - 37 mynda eins konar röð af vörum, sem draga nafn af appelsínum. Röðin byrjar á hreinum appelsínusafa með sömu samsetningu og er að finna í appelsínum en endar í appelsíni sem er gjörsamlega laust við öll bætiefni. Enginn þessara drykkja er góð uppspretta fyrir steinefni. Það eru því vítamínin sem skipta máli. Í ávaxtadrykkina (nr.33 og 34) er notað um 15% af ávaxtasafa og síðan vatn, sykur eða sætuefni og C vítamín. Það verður því aðeins 15% af næringarefnum (öðrum en C vítamíni) í þessum drykkjum miðað við hreina ávaxtasafa. Ávaxtadrykkjunum má því ekki rugla saman við hreina ávaxtasafa. Þótt einu vítamíni sé bætt í ávaxtadrykkina eru þeir lélegir vítamíngjafar borið saman við hreinu safana.

Hreinn ávaxtasafi getur talist mjög góður þíamíngjafi (inniheldur tvöfalt meira en mjólk). Ávaxtadrykkir, sem eru framleiddir úr 15% appelsínusafa, innihalda því einnig svolítið þíamín.

C vítamíni er bætt í tvo af svaladrykkjunum nr.35 - 37. Að öðru leyti gefa þeir engin bætiefni.

Grautar.

Ávaxtagrautarnir nr. 38 - 39 innihalda lítið sem ekkert af þíamíni og ríbóflavíni. Líklegt er að þessi efni eyðist við vinnsluna. Grautarnir innihalda nokkuð af C vítamíni.

Tafla 2. Kjöt : Efnainnihald í 100g af nýtanlegum hluta og sýnataka.

		1 Lambalæri Fitu-hreinsað	2 Svínalæri-sneiðar Fitu-hreinsað	3 Nauta-gúllas	4 Folalda-gúllas
Afskurður	%	36 (34-39)	24 (15-37)	0	0
Hvíta	g	20,2	22,7	23,2	22,8
Fita	g	5,5	4,6	2,1	4,4
Aska	g	1,1	1,1	1,0	1,1
Vatn	g	73,8	73,6	74,5	72,3
Þíamín	mg	0,18	0,95	0,15	0,17
Ríbóflavín	mg	0,31	0,22	0,24	0,29
Fosfór	mg	210	210	200	210
Magnesíum	mg	27	28	20	25
Natríum	mg	78	86	60	60
Kalíum	mg	350	370	370	360
Járn	mg	2,2	1,1	2,3	2,6
Zink	mg	3,3	2,6	3,9	2,5
Magn safnsýnis	kg	25,3	4,0	3,0	3,0
Fjöldi sýna		10	7	6	6
Tímasetning		nóv	okt	okt	okt

Tafla 3. Kjöt : Efnainnihald í 100g af nýtanlegum hluta og sýnataka.

		5 Holdakjúklingar	6 Kjúklingabitar	7 Selkjöt, lundir. Ekki blóðgað	8 Selkjöt, lundir. Blóðgað
Afskurður	%	51(43-57)	28	0	0
Hvíta	g	19,4	25,2	23,0	23,8
Fita	g	11,9	12,1	2,7	2,4
Kolvetni	g		5,6		
Aska	g	0,9	2,3	1,2	1,2
Vatn	g	69,2	54,8	73,8	73,4
Þíamín	mg	0,10	0,11	0,17	0,22
Ríbóflavín	mg	0,16	0,21	0,80	0,96
Fosfór	mg	180	200	200	225
Magnesíum	mg	20	25	33	27
Natríum	mg	80	570	240	125
Kalíum	mg	260	310	260	310
Járn	mg	1,1		11,4	12,7
Zink	mg	1,1		2,4	2,6
Magn safnsýnis	kg	8,7	3,9	1,1	0,7
Fjöldi sýna		8	4	21	11
Tímasetning		júlí-sept	nóv	júní	júní

Tafla 4. Hvalkjöt : Efnainnihald í 100g af nýtanlegum hluta og sýnataka.

		9 Sandreyður, bakkjöt	10 Sandreyður, kviðkjöt	11 Langreyður, bakkjöt	12 Langreiður, kviðkjöt
Afskurður	%	0	0	0	0
Hvíta	g	24,6	24,6	22,5	22,4
Fita	g	1,5	1,0	4,6	2,5
Aska	g	1,0		1,0	
Vatn	g	74,4	74,6	73,1	75,1
Þíamín	mg	0,09	0,10	0,10	0,10
Ríbóflavín	mg	0,20	0,18	0,24	0,24
Fosfór	mg	200		190	
Magnesíum	mg	33		32	
Natríum	mg	92		93	
Kalíum	mg	320		320	
Járn	mg	3,6		3,8	
Zink	mg	1,2		1,5	
Magn safnsýnis	kg	8,2	7,1	6,5	4,8
Fjöldi sýna		12	12	7	6
Tímasetning		ágúst	ágúst	sept	sept

Tafla 5. Lambainnmatur : Efnainnihald í 100g af nýtanlegum hluta og sýnataka.

	13 Lifur	14 Lifur ársgömul	15 Hjörtu	16 Nýru	17 Blóð
Afskurður %	0	0	26	2	0
Hvíta g	22,2	21,7	17,7	15,7	19,0
Fita g			4,9	4,0	
Aska g			1,1	1,2	
Vatn g	70,1	70,5	78,0	79,2	81,2
Þíamín mg	0,44	0,38	0,70	0,52	0
Ríbóflavín "	4,26	4,06	0,89	2,14	Snefill
Fosfór mg			220		
Magnium mg			21		
Natrium mg			95		
Kalíum mg			280		
Járn mg			4,3		
Zink mg			1,8		
Magn safnsýnis	8,1	4,1	5,9	5,5	8,4
Fjöldi sýna	10	6	10	10	10
Fjöldi stykkja	19	10	40	128	
Tímasetning	sept-okt	ágúst	sept-okt	sept-okt	sept-okt

Tafla 6. Álegg : Efnainnihald í 100g og sýnataka.

		18 Hangiálegg	19 Rúllupylsa	20 Svínarúllu-pylsa
Afskurður	%	0	0	0
Hvíta	g	22,7	15,0	14,2
Fita	g	11,9	32,1	22,0
Aska	g	4,6	3,1	4,1
Vatn	g	61,6	48,0	57,8
Þíamín	mg	0,13	0,05	0,41
Ríbóflavín	mg	0,29	0,12	0,16
Magn safnsýnis	kg	1,6	0,8	0,5
Fjöldi sýna		8	10	6
Tímasetning		júlí-okt.	ágúst-okt.	ágúst-okt.

Tafla 7. Fiskur og rækja : Efnainnihald í 100g og sýnataka.

		21 Vatna- bleikja	22 Rækja	23 Reykt síld	24 Reyktur rauðmagi
Afskurður	%	36	0	11	41
Hvíta	g	20,5	18.0	20,1	17,7
Fita	g	2,7		13,0	34,5
Aska	g	1,2		6,5	9,4
Vatn	g	76,6	79,8	60,5	40,5
Þíamín	mg	0,16	o,o5	0	o,11
Ríbóflavín	mg	0,09	0,02	0,29	0,20
Fosfór	mg	260		240	140
Magnesíum	mg	30		31	10
Natríum	mg	80		2200	3300
Kalíum	mg	370		370	240
Járn	mg	0,75			
Zink	mg	0,67			
Magn safnsýnis	kg	3,1	2,9	2,0	3,0
Fjöldi sýna		2	6	6	4
Fjöldi stykkja		14			
Tímasetning		feb	ágúst	júní-okt	okt

Tafla 8. Ýmsir jurtahlutar : Efnainnihald í 100g og sýnataka.

		25 Gulrófur	26 Skarfakál blöð	27 Aðalbláber	28 Krækiber
Afskurður	%	12	0	0	0
Hvíta	g	1,3	2,2	1,0	0,6
Aska	g	0,5	2,0	0,24	0,16
Vatn	g	89,2	87,0	84,3	87,3
Þíamín	mg	0,06	0,08	0,05	0,03
Róbóflavín	mg	0,05	0,16	snefill	snefill
Askorbinsýra	mg	38,9	28,9	4,8	10,7
Kalk	mg	24	51	20	11
Fosfór	mg	36	44	26	11
Magnesíum	mg	13	42	11	6
Natríum	mg		470		29
Kalíum	mg	190	260		
Magn safnsýnis	kg	5,8	1,5	1,4	5,5
Fjöldi sýna		4	1	3	5
Fjöldi stykkja		10			
Tímasetning		des	ágúst	ágúst	ágúst

Tafla 9. Fjallagrös, söl og kleinur : Efnainnihald í 100g og sýnataka.

		29 Fjallagrös	30 Söl	31 Kleinur
Afskurður	%	0	0	0
Hvíta	g	2,2	14,0	14,1
Fita	g			21,4
Kolvetni	g			44,4
Aska	g	2,0	10,5	1,9
Vatn	g	10,2	19,2	18,2
Þíamín	mg	0	0,22	0,10
Ríbóflavín	mg	0	0,58	0
Askorbinsýra	mg		30	
Kalk	mg	390	240	42
Fosfór	mg	30	250	330
Magnium	mg	40	120	25
Natríum	mg	50	770	480
Kalíum	mg	170	3400	150
Magn safnsýnis	kg	0,2	0,4	2,2
Fjöldi sýna		4	4	6
Tímasetning		sept-okt	sept okt	nóv

Tafla 10. Drykkir : Efnainnihald í 100g og sýnataka.

		32 Hreinn appelsínu-safi	33 Svali appelsínu-drykkur	34 Svali appelsínu-drykkur Sykur-skertur	35 Appelsínu-límonaði
Hvíta	g	0,74	0,09	0,13	0
Aska	g	0,43	0,13	0,06	snefill
Vatn	g	88,1	88,1	97,3	88,5
Þíamín	mg	0,10	0,015	0,013	0
Ríbóflavín	mg	0,02	snefill	snefill	0
Askorbinsýra	mg	39,6	31,3	32,1	9,3
Kalk	mg	12	5	5	5
Fosfór	mg	18	snefill	snefill	snefill
Magnium	mg	11	2	2	snefill
Natríum	mg	12	7	8	8
Kalíum	mg	190		20	4
Magn safnsýnis	kg	0,8	1,0	0,8	0,8
Fjöldi sýna		3	4	3	3
Tímasetning		des	des	des	des

Tafla 11. Drykkir og grautar : Efnainnihald í 100g og sýnataka.

		36 Topp appelsínu-drykkur. Blandaður	37 Soda stream appelsín. Blandað	38 Aprikósu-grautur	39 Aprikósu-grautur. Sykur-skertur
Hvíta	g	0	0	0,4	0,5
Aska	g	0,1	0,02	0,4	0,5
Vatn	g	99,4	91,1	74,1	85,7
Þíamín	mg	0	0	0	0
Ríbóflavín	mg	0	0	Snefill	Snefill
Askorbinsýra	mg	18,6	0	5,7	13,0
Kalk	mg	4	0,05	14	21
Fosfór	mg	0	Snefill	8	50
Magníum	mg	1	Snefill	11	7
Natríum	mg	3	0,08	30	29
Kalíum	mg	8	Snefill	160	210
Magn safnsýnis	kg	2,0	2,0	1,0	1,0
Fjöldi sýna		2	2	2	2
Tímasetning		des	des	des	des

1.5 NIÐURSTÖÐUR: VÍTAMÍN Í ÖÐRUM SÝNUM

Hér er ekki um að ræða safnsýni, heldur er hvert sýni yfirleytt ein pökkunareining.

Tafla 12 sýnir magn askorbinsýru í nokkrum fæðutegundum. Hér er það aðeins nautahakkið sem vekur athygli, en í því ætti ekkert að mælast. Algjörlega er óleyfilegt að bæta C vítamíni í kjöt til að það sýnist ferskara.

Tafla 12. Askorbinsýra í nokkrum fæðutegundum.

Sýni	Askorbinsýra mg/100g
Hvítkál	33,1
Gulrófur	27,8
Hreinn appelsínusafi, Trópí 13.des.	43,7
Hreinn appelsínusafi, Trópí	45,0
Hreinn sveskjusafi, Trópí 10.nóv.	35,7
Mysa 1.jan.	0
Ungkálfalifur	25,4
Nautahakk, Hagkaup 9.des.	23,4 (1)

(1) Búast má við að hér sé um ísóaskorbinsýru að ræða, en vítamínvirkni hennar er aðeins um 5% af virkni askorbínsýru.

Brauð.

Aðeins voru gerðar mælingar á brauðum úr hvítu hveiti (formbrauð). Niðurstöðurnar sýna að í einu tilfelli af 5 hefur verið bakað úr vítamínbættu hveiti. Munurinn á þíamíni getur verið þrefaldur en tvöfaldur fyrir ríbóflavín. Því er ekki auðvelt að átta sig á vítamíninnihaldi brauða. Í tveimur tilfellum var um næringarefnamerkingar að ræða og stóðust þær í grófum dráttum fyrir ríbóflavín og þíamín.

Tafla 13. Þíamín og ríbóflavín í brauðum úr hvítu hveiti. Hliðstæðar vörumerkingar eru innan sviga.

Brauð keypt í febrúar	Þíamín mg/100g	Ríbóflavín mg/100g
Formbrauð (Grensásbakarí)	0,33	0,17
Formbrauð (Myllan)	0,12 (0,08)	0,07 (0,07)
Formbrauð (Sveinn bakari)	0,11	0,07
Fínt samlokubrauð (Samsalan)	0,13 (0,09)	0,07 (0,13)
Ómerkt brauð úr hvítu hveiti	0,16	0.08

Drykkjarvörur.

Töflur 14 og 15 sýna niðurstöður vítamínmælinga fyrir nokkrar mjólkurafurðir. Töflur 16 og 17 eiga svo að auðvelda samanburð á drykkjarvörunum (mjólk, ávaxtasafar, gosdrykkir o.fl.).

Mælingar sýna að ríbóflavín er heldur meira í undanrennu og léttmjólk en í nýmjólkinni sjálfri. Mysan inniheldur aftur á móti heldur minna af bíamíni, ríbóflavíni og askorbinsýru en nýmjólkin.

Tafla 14. Þíamín í nokkrum mjólkurafurðum.

Sýni		Þíamín, mg/100g
Léttmjólk	11.feb.	0,042
Mysuþykkni	21.jan.	0,045
	22.jan.	0,056
Mysusíuvökvi	21.jan.	0.029
	22.jan.	0,032

Tafla 15. Ríbóflavín í nokkrum mjólkurafurðum.

Sýni		Ríbóflavín, mg/100g
Nýmjólk	7.jan.	0,171
	13.jan.	0,173
Léttmjólk	11.feb.	0,189
Undanrenna	14.jan.	0,180
Mysa	1.jan.	0,117
	23.jan.	0,114
	3.feb.	0,119
	25.mars	0,105
Mysuþykkni	21.jan.	0,189
	22.jan.	0,194
Mysusíuvökvi	21.jan.	0,119
	22.jan.	0,137

Fróðlegt er að athuga hversu stór hluti af ráðlögðum dagskammti af vítamínunum er í ákveðnu magni af drykkjunum. Í töflu 17 er miðað við 250g af drykk og þarfir barna 7 - 10 ára. Í ljós kemur að hreinn appelsínusafi er besti þíamíngjafinn. Ein lítil ferna gefur um 20% af ráðlögðum dagskammti. Undanrenna, léttmjólk og nýmjólk gefa um það bil helming á við safann. Mysa og svali gefa lítið og aðrir drykkir ekkert.

Aðeins mjólkurafurðirnar skipta máli sem ríbóflavíngjafar. Undanrennan er auðugust af ríbóflavíni. Um 30% af dagsþörf fást úr einu glasi af undanrennu.

Appelsínusafinn er mjög góður C vítamíngjafi. Sömu sögu er að segja um þá drykki sem eru C vítamínbættir.

Tafla 16. Þíamín, ríbóflavín og askorbinsýra í nokkrum drykkjarvörum.

Sýni	Þíamín mg/100g	Ríbóflavín mg/100g	Askorbinsýra mg/100g
Appelsínu límonaði (Egils)	0	0	9,3
Topp appelsínudrykkur (Sól) (1)	0	0	18,6
Soda stream appelsín (Sól) (1)	0	0	0
Svali appelsínudrykkur	0,015	0,003	31
Hreinn appelsínusafi (Sól)	0,10	0,02	40
Mysa	0,02	0,11	0
Nýmjólk	0,046	0,16	0,69
Léttmjólk	0,046	0,16	0,69
Undanrenna	0,047	0,17	0,64

(1) Tilbúið til drykkjar.

Tafla 17. Hundraðshluti af ráðlögðum dagskammti í 250g af drykk. Miðað er við börn 7 - 10 ára. (1)

Sýni	% af ráðlögðum dagskammti í 250g		
	Þíamín	Ríbóflavín	C vítamín
Appelsínu límonaði (Egils)	0	0	52
Topp appelsínu-drykkur (Sól) (2)	0	0	103
Soda Stream appelsín (Sól) (2)	0	0	0
Svali, appelsínu-drykkur (Sól)	3	0,5	172
Hreinn appelsínu-safi (Sól)	21	4	222
Mysa	4	20	0
Nýmjólk	10	29	4
Léttmjólk	10	29	4
Undanrenna	10	30	4

(1) Fyrir þennan hóp eru ráðlagðir dagskammtar eftirfarandi: Þíamín= 1,2 mg Ríbóflavín= 1,4 mg C vítamín= 45 mg(15).
(2) Tilbúið til drykkjar.

1.6 NIÐURSTÖÐUR: KÓLESTERÓL

Tafla 18 sýnir niðurstöður kólesterólmælinga. Kólesteról í lambamör, tólg, svínafitu og selspiki reyndist vera mjög svipað eða um 70 mg/100g. Smjör inniheldur um þrefalt meira kólesteról.

Í þorskalýsi mældist 492 mg/100g og í steikingarfeiti, sem unnin er úr loðnulýsi, enn meira eða 655 mg/100g.

Tafla 18. Feitmeti. Kólesteról í 100g og sýnataka.

	Kólesteról mg	Magn safn-sýnis kg	Fjöldi sýna	Tímabil
40. Lambamör	66	0,9	3	sept-okt
41. Tólg	66	1,5	4	ágúst-nóv
42. Svínafita	65	0,5	7	okt
43. Smjör	236	1,5	6	sept-okt
44. Selspik	78	0,9	24	júní
45. Þorskalýsi	492	0,7	3	okt
46. Hydrol djúp-steikingarfeiti	655	1,5	3	sept-okt

2. VÍTAMÍNMÆLINGAR : AÐFERÐAFRÆÐI

2.1 TILEFNI

Þessum seinni hluta skýrslunnar er ætlað að fjalla um aðferðafræði við vítamínmælingar.

Með þessari athugun á vatnsleysanlegum vítamínum var leitast við að mæla sem flest vítamín, en einnig að athuga grundvöll þeirra mæliaðferða sem ekki var hægt að taka í notkun.

Tvær ástæður liggja að baki þessari vinnu.

1) Neyslukönnun Manneldisráðs frá 1979-80 sýnir að of lítið sé af sumum vatnsleysanlegum vítamínum í fæði Íslendinga (16). Þetta gildir einkum um fólasín, B6 vítamín og þíamín. Ýmsar erlendar kannanir hafa gefið svipaða niðurstöðu fyrir B6 vítamín (17,18). Athuganir hafa verið gerðar á vítamínhag Íslendinga með því að mæla magn vítamína í blóðsýnum (67,68). Þessar athuganir benda til þess að um skort á B6 vítamíni og ríbóflavíni geti verið að ræða. Í könnun Manneldisráðs þurfti að miklu leyti að nota erlend gögn fyrir vatnsleysanleg vítamín. Því er mikilvægt að fá íslenskar mæliniðurstöður. Sumir hafa talið að þörf fyrir B6 vítamín sé ofmetin (17), en um það er ekki fjallað hér.

2) Stærsta eyðan í íslenskum næringarefnatöflum er vegna skorts á gögnum fyrir vatnsleysanleg vítamín. Ljóst er að ekki verður hægt að mæla nema sum vatnsleysanleg vítamín hérlendis á næstu árum og þarf þá að vera hægt að meta hvort erlend töflugildi séu nothæf við okkar aðstæður.

2.2 VÍTAMÍNMÆLINGAR

Mikil þróun á sér nú stað í vítamínmælingum. Fyrir flest vítamín er hægt að velja úr fjölmörgum aðferðum. Erfitt getur verið að velja aðferð, en valið er mjög háð tækjabúnaði.

Mælingar á vítamínum eru fyrir margra hluta sakir erfiðar. Oft eru vítamínin óstöðug svo hætt er við tapi meðan á mælingu stendur. Vítamín eru flest flókin efni og geta verið til í fleiri en einni mynd. Í fæðu er magn þeirra oft mjög lítið, e.t.v. aðeins fáein µg í 100g innan um mikinn fjölda ólíkra efna. Einangrun vítamínanna verður því oft mikilvægasti þátturinn. Algeng sýni eins og blóð og þvag eru til muna einfaldari en venjuleg fæða.

Ekki er völ á jafngóðum mæliaðferðum fyrir öll vítamín. Þannig er ekki völ á neinum góðum aðferðum til að mæla bíótín. Aftur á móti hafa vítamínin þíamín og ríbóflavín verið mæld árum saman með fullnægjandi aðferðum. Tafla 19 sýnir nánar hversu langt þróun mæliaðferða er komin fyrir hin ýmsu vítamín.

Tafla 19. Mat á gæðum mæliaðferða fyrir vatnsleysanleg vítamín (19).

Fullnægjandi	Takmörkuð	Ófullnægjandi
Þíamín	B6 vítamín	Bíótín
Ríbóflavín	Fólasín	Kólín
Níasín	Pantoþensýra	
C vítamín	B12 vítamín	

Margvísleg mælitækni hefur verið notuð til vítamínmælinga. Af þeim helstu má nefna:

- -Líffræðilegar aðferðir.
- -Vítamínákvarðanir með örverum (microbiological assays).
- -Hefðbundnar efnafræðilegar aðferðir byggðar á flúrljósmælingu eða ljósmælingu.
- -Lagskiljun (thin layer chromatography).
- -Gasskiljun.
- -Vökvaskiljun (high pressure liquid chromatography, HPLC)

Þíamín og C vítamín hafa mest verið mæld með hefðbundnum efnafræðilegum aðferðum. Ákvarðanir með örverum hafa mikið verið notaðar fyrir önnur vatnsleysanleg vítamín.

Aukin þörf fyrir vítamínmælingar leiddi til þess að þróunin tók tvö stökk fram á við. Hið fyrra var þegar menn fóru að gera hefðbundnar efnafræðilegar aðaferðir að hluta sjálfvirkar. Á seinustu árum hafa svo verið þróaðar ýmsar aðferðir fyrir vökvaskilju.

Síðustu 10 árin hafa vítamínmælingar með vökvaskilju tekið miklum framförum. Nú er svo komið að vökvaskilja er mikið notuð til mælinga á sumum vítamínum. Framanaf var athyglinni mest beint að fituleysanlegum vítamínum. Síðan kom röðin að vatnsleysanlegum vítamínum. Byrjað var á vítamínbættum matvælum, en á seinustu árum hefur áhersla verið lögð á það að mæla upprunalegt magn vítamínanna.

Fljótlega varð ljóst að á RALA yrði heppilegast að takmarka prófanir á nýjum aðferðum annað hvort við ákvörðun með örverum eða vökvaskiljun. Hér á eftir verður aðeins fjallað um þessa tvo valkosti.

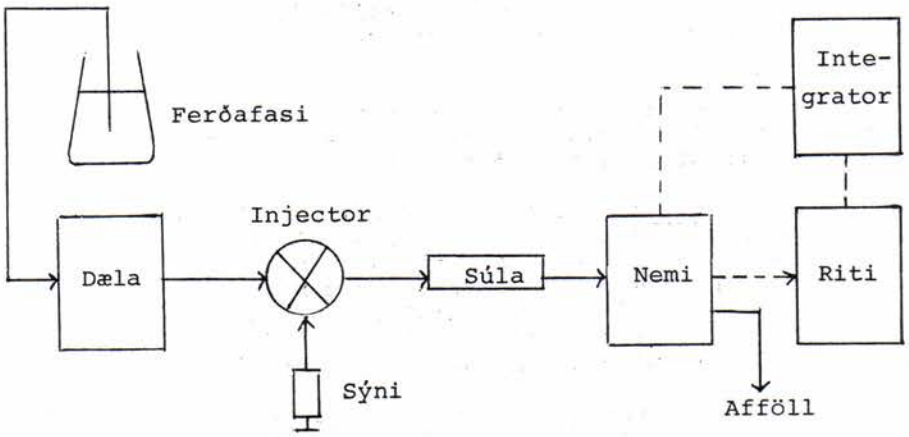
Vítamínákvarðanir með örverum.

Þótt þessar ákvarðanir séu sérstaklega næmar hafa þær ýmsa galla. Þar sem mælingin byggir á næringarþörfum ákveðinna örvera fyrir tiltekið vítamín, eru niðurstöðurnar mjög háðar þeim örverustofni sem unnið er með. Það er því ljóst að ákvarðanir með örverum henta ekki nema samfellt sé unnið að vítamínmælingum. Ákvarðanir með örverum eru tímafrekar og geta ekki talist áreiðanlegar. Niðurstöður geta verið breytilegar frá degi til dags og ósamræmi milli aðila, sem gera mælingarnar, er þekkt (20). Svörun getur verið mismunandi gagnvart mismunandi myndum sama vítamíns. Loks er mögulegt að ýmis efni úr fæðu hafi áhrif á vöxt örveranna (21).

Vökvaskiljun.

Með vökvaskiljun (high pressure liquid chromatography) er hægt að skilja að mjög lík efni á súlu og mæla þau síðan með nokkrum ólíkum mælitækjum. Mynd 1 sýnir hvernig vökvaskilja er byggð upp. Sérstök háþrýstidæla dælir ferðafasanum gegnum súlu. Á súlunni er því talsverður þrýstingur og auðveldar það aðskilnað. Frá súlunni fer ferðafasinn gegnum mælitæki.

Mynd 1. Flæðirit fyrir vökvaskilju.



Aðskilnaður og mæling fer fram við stofuhita og er það heppilegt fyrir vítamín sem mörg hver eru óstöðug. Síður er þörf á því að búa til afleiður þegar vökvagreiningu er beitt. Þannig er oft hægt að komast hjá því að nota hættuleg efni. Mælingar með vökvaskilju eru yfirleitt nákvæmar. Breytileikastuðull (coefficient of variation) getur verið um 1% eða jafnvel lægri.

Aðskilnaðurinn á súlunni veldur því að vökvaskiljun getur verið mjög sérhæfð. Völ er á ólíkum súluefnum fyrir vökvaskiljun og auðvelt er að breyta samsetningu ferðafasans.

Við vítamínmælingar er langoftast notuð svokölluð öfugfasaskiljun (reversed phase bonded-phase chromatography). Súluefnið er þá mettaðar kolefniskeðjur sem hafa verið tengdar á kísilagnir. Skiljunin byggist á samspili kolefniskeðjanna og efna úr sýninu. Ferðafasinn er oftast blanda af vatni og metanóli. Böfferar eru mikið notaðir og fást þá oft skarpari toppar. Einnig eru notaðir aðrir lífrænir leysar en metanól. Með því að breyta samsetningu ferðafasans er hægt að hafa mikil áhrif á aðskilnað efna. Öfugfasa skiljun er því notuð þegar mæla þarf talsvert skautuð og lítið skautuð efni.

Þegar aðskilja þarf jónir með öfugfasa súlu er hægt að grípa til þess sem er kallað jón-par skiljun (ion par chromatography). Bætt er í ferðafasann jónuðu efni sem getur bundist súluefninu. Jónir úr sýninu bindast þessu efni og mynda jón-par. Á þessu byggist aðskilnaðurinn, en mekanisminn er mun flóknari. Jón-par skiljun er mikið notuð fyrir vítamín.

Góðar niðurstöður fást því aðeins að undirbúningur sýna sé fullnægjandi. Einkum getur þessi undirbúningur verið erfiður ef vítamínið sem á að mæla er til í mörgum myndum.

Notkun á forsúlum (sep pak cartridges) hefur færst í vöxt við undirbúning á sýnum. Forsúla inniheldur súluefni í plasthólk sem hægt er að festa á sprautu. Þessar súlur er hægt að nota til að hreinsa sýnisupplausn og einnig til að auka styrk þess efnis sem á að mæla. Hægt er að binda efnið sem á að mæla í súlunni. Síðan er það losað með öðrum leysi. Einnig má halda eftir í súlunni efni sem veldur truflun.

Þótt aðskilnaður á súlunni taki oft aðeins nokkrar mínútur, getur vökvaskiljun á mörgum sýnum orðið tímafrek. Vökvaskiljun gerir miklar kröfur um það að leysar og öll efni séu sérstaklega hrein. Óhreinindi mega alls ekki safnast fyrir í súlunni. Það er því ekki sjálfgefið að taka eigi vökvaskiljun fram yfir hefðbundnar aðferðir.

2.3 TÆKJABÚNAÐUR OG EFNI

Við val á mæliaðferðum þurfti að taka mikið tillit til þess tækjabúnaðar sem var fyrir hendi. Hér verður gerð grein fyrir þessum tækjabúnaði. Aðallega er um að ræða vökvaskilju (high pressure liquid chromatograph) ásamt mælitækjum frá Waters og AutoAnalyzer frá Technicon.

Vökvaskilja.

Í samstæðunni eru eftirtaldar einingar til skiljunar og mælinga:

1) Tvær háþrýstidælur (gerð 6000A og M45) til að dæla ferðafasa.

2) "Solvent programmer", gerð 660, til að stjórna afköstum dælanna.

3) Skammtari til að sprauta í sýni (syringe loading sample injector), gerð 7125 frá Rheodyne. Skammtarinn gefur fast rúmmál (20 µl) þegar hann er yfirfylltur. Með skammtaranum fylgir 250 µl sprauta frá Scientific Glass Engineering.

4) Z modul (radial compression separation system). Með þessu tæki er súlunni haldið undir þrýstingi.

5) Súlur. Notaðar eru sérstakar súlur fyrir Z modul. Þær eru aðeins 10 sm á lengd og gerðar til að standast ytri þrýsting. Um þrjár gerðir af súlum frá Waters er að ræða:

a) µBondapak C-18, kornastærð 10 µm.
b) µBondapak C-8, kornastærð 10 µm.
c) NOVA-pak C-18, kornastærð 5 µm.

I öllum tilfellum eru kolefniskeðjur tengdar við yfirborð kísilnetju. NOVA súlan er þróaðri útgáfa af Bondapak.

6) Litrófsmælir (absorbance detector). Gerð 440. Tækið er fyrir fasta bylgjulengd. Hægt er að nota það við eftirtaldar bylgjulengdir: 254, 280, 313 og 436 nm.

7) Flúrljósmælir (fluorescence detector). Gerð 420. Tækinu fylgja síur fyrir örvun við 340 nm og mælingu við 425 nm.

8) Riti með reikniverki (Waters data modul M730)

Allur búnaðurinn er framleiddur af Waters ef undan er skilinn sýnaskammtarinn.

Auto Analyzer.

Til ráðstöfunar var AutoAnalyzer II samstæða frá Technicon með sjálfvirkum flúrljósmæli (fluoronephelometer), litrófsmæli og rita. Blöndunareiningar voru til fyrir þíamín og ríbóflavín.

Búnaður til undirbúnings á sýnum.

1) Búnaður til að sía ferðafasa fyrir vökvaskiljun. Glervara nr. 85124 og GVWP himnur frá Millipore. Hristibað (ultrasonic bath) var einnig notað til að fjarlægja loft úr ferðafasa.

2) Forsúlur (sep pak frá Waters). Forsúlur innihalda súluefni í litlum plasthólk sem hægt er að festa á sprautu. Þessar súlur geta hentað til að losna við truflandi efni.

3) Búnaður til að sía sýnaupplausnir fyrir vökvaskiljun. Um er ræða himnu í plaströri sem hægt er að festa á sprautu (Millix HV filter units, Millipore).

Efni.

1) Lífrænir leysar fyrir vökvaskiljun voru HPLC hæfir (HPLC grade) og voru frá Rathburn.

2) Allt vatn var tvíeimað.

3) Vítamínstaðlar voru keyptir frá Sigma og Merck.

4) Hvatar. Mylase 100 nr. 19299 frá US Biochemical Corporation og papaín frá Merck.

2.4 FRAMKVÆMD

Ákveðið var að takmarka prófanir á nýjum mæliaðferðum við vökvaskiljun. Eftirfarandi atriði réðu úrslitum:

1) Með vökvaskiljun er oft hægt að mæla efni beint og komast hjá því að búa til afleiður og beita hitun. Þetta býður upp á meiri áreiðanleika og nákvæmni.

2) Mögulegt er að skilja að mjög lík efni með mismunandi virkni.

Þegar viðfangsefnið hafði verið afmarkað við vökvaskiljun voru framkvæmdar tölvuleitir. Leitað var að mæliaðferðum fyrir þíamín, ríbóflavín, níasín, C vítamín, fólasín og B6 vítamín. Í ljós kom að birtur hefur verið mikill fjöldi greina um þessi efni. Í sumum tilfelum eru aðferðirnar lítið frábrugðnar.

Mest þörf var talin fyrir mælingar á fólasíni og B6 vítamíni. Eins og fram kemur í töflu 19, vantar nokkuð upp á að fullnægjandi mæliaðferðir séu til fyrir þessi efni. Því var lögð áhersla á að mæla þau vítamín sem hægt var að fá traustar niðurstöður fyrir. Jafnframt var aflað upplýsinga um mælingar á fólasíni og B6 vítamíni.

Við val á aðferðum þurfti að taka mið af þeim búnaði sem var til staðar. Síðan þurfti yfirleitt að útfæra aðferðirnar lítillega til að þær hæfðu búnaðinum.

Aðferðaprófanir.

Leitast var við að prófa aðferðirnar sem voru valdar samkvæmt eftirfarandi áætlun:

1) Mæling prófuð með stöðlum.
2) Mæling prófuð með sýnum.
3) Heimtur athugaðar.
4) Sömu sýni einnig mæld með annarri aðferð.

Eftir þrep 1) og 2) gat komið í ljós að aðferðin væri ófullnægjandi og voru þá aðrar aðferðir athugaðar. Ef truflandi efni mælast með vítamíninu getur það leitt til verulegs ofmats. Þetta var prófað í þrepi 2) með því að auka hraða pappírsins. Ef um tvö efni er að ræða má búast við því að öxl komi fram á toppinum. Einnig var staðli bætt í sýnislausn og athugað hvar aukningin kæmi fram. Þessar tvær prófanir þarf að gera fyrir allar tegundir sýna.

Heimtur voru athugaðar með því að láta staðal og sýni með viðbættum staðli fara gegnum sömu vinnslu og sýnin. Borið var saman við ómeðhöndlaðan staðal. Eðlilegt er að gera þær kröfur að heimtur séu yfir 90%. Mikilvægt er að athuga heimturnar því talsverð hætta er á vanmati vegna niðurbrots á vítamínum. Þá er mikilvægt að geta borið saman aðferðir en sá möguleiki var ekki alltaf fyrir hendi.

Mælingar.

Einn af kostum vökvaskilju er sá að hægt er að aðskilja og mæla fleiri en eitt vítamín í sömu keyrslu. Algengt er að vökvaskilja sé notuð til að mæla nokkur vítamín saman í vítamíntöflum.

Byrjað var á því að prófa vökvaskiljun á 2-3 vítamínum samtímis. Þegar komið var að fæðu gaf það ekki góða raun. Vökvaskiljun fyrir vítamíntöflur er því ekki hægt að nota fyrir fæðu. Skýringarnar eru þessar: Styrkur vítamína í matvælum er yfirleytt margfalt lægri en í vítamíntöflum. Auk þess eru í fæðunni fjölmörg önnur efni sem geta valdið erfiðleikum. Því varð ljóst að fást yrði við hvert vítamín fyrir sig. Frá því er greint hér á eftir.

2.5 RÍBÓFLAVÍN

Eiginleikar.

Í fæðu finnst ríbóflavín aðallega sem ríbóflavín 5' fosfat og flavín adenín dínúkleótíð. Hvort tveggja er bundið hvítu (22). Í mjólk er þó aðallega að finna óbundið ríbóflavín (19).

Ríbóflavín er óstöðugt í basískri lausn, en stöðugt í súrri lausn. Það er viðkvæmt fyrir ljósi.

Ríbóflavín gefur mjög sterka flúrljómun á nokkuð víðu bylgjulengdarsviði. Hægt er að mynda lumichrom úr ríbóflavíni í súrri lausn og fæst þá enn sterkari flúrljómun. Ríbóflavínlausnir hafa grængulan lit. Ríbóflavín sýnir mesta gleypni við um 270 nm og 450 nm.

Mæliaðferðir.

Flestar efnafræðilegar aðferðir byggja á flúrljómun ríbóflavíns. Þessr aðferðir eru mjög næmar og henta fyrir margar fæðutegundir. Undirbúningur sýna er oft erfiðasta þrautin. Undirbúningurinn er nokkuð mismunandi eftir aðferðum og sýnum. Oftast er um að ræða bæði sýruhydrolysu til að rjúfa tengi við hvítu og meðhöndlun með hvata til að losna við fosfathópa. Önnur efni en ríbóflavín geta gefið flúrljómun. Yfirleitt er reynt að losna sem mest við þessi truflandi efni með permanganat oxun áður en mæling er gerð. Samt verður alltaf að mæla blankgildi. Í "Methods of Vitamin Assay" er að finna lýsingu á hefðbundinni aðferð (19). Þessi aðferð hefur verið útfærð fyrir Technicon AutoAnalyzer og er þá mælingin orðin að hluta sjálfvirk (23).

Einnig er hægt að mæla ríbóflavín með ljósmælingu við 450 eða 270 nm. Styrkur ríbóflavíns þarf þá að vera nokkuð hár. Auk þess má búast við fleiri truflandi efnum en í flúrljósmælingu.

Vökvaskiljun.

Ríbóflavín er það vatnsleysanlega vítamín sem best hentar til mælinga með vökvaskilju. Þar kemur til bæði flúrljómun og gleypni á útfjólublá sviði. Einnig er ríbóflavín í talsverðu magni í fæðu af vítamíni að vera. Mikilvægt er að geta skilið ríbóflavín frá truflandi efnum í vökvaskiljunni. Með því móti má losna við permanganat oxunina, en hún gæti komið niður á ríbóflavíninu. Blankmælingin verður einnig óþörf.

Nokkur fjöldi greina hefur birst um vökvaskiljun á ríbóflavíni. Aðferðirnar eru mismunandi. I sumum tilfellum er þíamín einnig mælt. Mjög gott samræmi fæst milli vökvaskiljunar og viðurkenndra aðferða (18). Mælt hefur verið með vökvaskiljun vegna þess hve mælingarnar eru nákvæmar og geta sparað vinnu (24). Einnig eru heimtur á ríbóflavíni betri en þegar hefðbundnum aðferðum er beitt (24).

Flestar aðferðir nýta flúrljómun ríbóflavíns (12, 25, 26, 27, 28, 29). Örvun er gerð við 360-450 nm og mæling við 455-530 nm. Nokkrar aðferðir byggja á gleypnimælingu til að mæla ríbóflavín (11,30). Styrkur ríbóflavíns þarf þá að vera allhár eins og í mjólk og vítamínbættri fæðu.

Fyrir mælingu þarf ríbóflavín að vera óbundið og eru fyrstu skrefin í undirbúningi sýna því yfirleitt hin sömu og í hefðbundnum aðferðum. Stundum eru forsúlur (Sep pak) notaðar til að fá hreinni síuvökva til mælingar. I aðferð Ashoor fyrir mjólkuvörur (11) er sýruhydrólysu og hvatameðferð sleppt. Samt sem áður fæst ágætt samræmi milli aðferðarinnar og hefðbundinna aðferða fyrir mjólkurvörur. Þessi aðferð hefur einnig verið notuð til þess að mæla niðurbrotsefni ríbóflavíns í mjólk (31). Einn höfundur hefur komist að því að hvatameðferð skipti máli þegar ríbóflavín er mælt í mjólk (26). Það átti sérstaklega við um móðurmjólk.

Við skiljun er heppilegast að nota öfugfasa C-18 súlur (24,25,28,11,30). Ýmsar útgáfur af ferðafasa hafa verið notaðar. Jón-par skiljun er notuð af sumum höfundum (12,29), en hún getur haft þau áhrif að hliðra truflandi efnum frá ríbóflavíntoppnum (29).

Aðferð Ashoors.

Aðferð Ashoors (11) var fyrst prófuð og var ætlunin að nota hana fyrir mysu og mjólk.

Framkvæmdinni er lýst í aðalatriðum í töflu 21. Ekki þurfti að gera verulegar breytingar á aðferðinni. Mæling var þó gerð við 280 nm í stað 270 nm. Mikilvægt var að ríbóflavín leystist fullkomlega upp þegar stofnstaðall var útbúinn.

Hrært var yfir nótt og síðan notað vatnsbað (70 °C) þar til lausnin varð tær. Forsúlurnar var hægt að nota fimm sinnum án þess að það kæmi niður á heimtum. Þess var gætt að skola forsúlurnar með metanóli og vatni milli sýna. Nauðsynlegt er að prófa öðru hverju með staðli hvort heimtur af forsúlunni séu í lagi.

Árangur. Mælingar á hreinum mjólkurvörum gengu í alla staði mjög vel. Aftur á móti reyndist aðferðin ónothæf fyrir vörur með ávöxtum (eplajógi, ávaxtadrykkir) vegna fjölda efna sem trufluðu.

Aðferðin var prófuð með ýmsum hætti. Heimtur ríbóflavíns reyndust vera góðar og breytileikastuðlar voru lágir. Rástími ríbóflavíns var stöðugur. Aðferðin var enn frekar sannreynd með samanburðarmælingum. Tafla 20 sýnir samanburð við flúrljósmælingu fyrir Technicon AutoAnalyzer (23). Niðurstöðurnar geta talist mjög góðar og í samræmi við grein Ashoors (11). Þar sem hægt er að komast af án hydrolysu, verður að telja að ríbóflavín sé óbundið í kúamjólk.

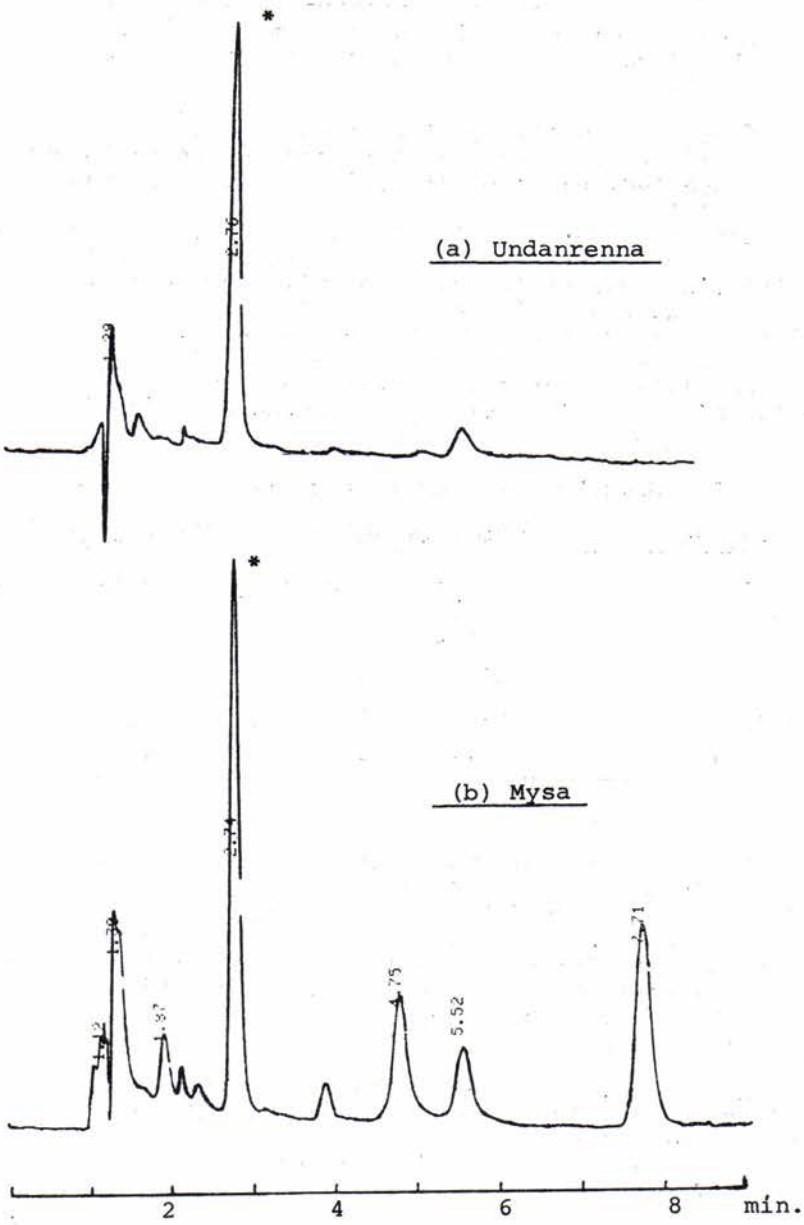
Tafla 20. Samanburður á mæliaðferðum.

Mjólkurafurð	Vökvaskiljun (11)	AutoAnalyzer (23)
Nýmjólk	0.171 mg/100 ml	0.184 mg/100 ml
Mysa	0.165 "	0.154 "
Mysa	0.094 "	0.094 "
Mysa	0.031 "	0.032 "
Mysa	0.114 "	0.131 "
Mysusíuvökvi	0.115 "	0.103 "
Meðaltal	0.115 "	0.116 "

Mysa vakti sérstaka athygli vegna þess að á eftir ríbóflavíntoppnum komu fram fjórir vel aðgreindir toppar. Í undanrennu og nýmjólk vottaði aðeins fyrir einum þessara toppa. Topparnir fjórir koma fram í skyri, jógúrt og mysusíuvökva, en hlutföllin milli einstakra toppa eru mismunandi. Ekki reyndist unnt að finna hvaða efni hér eru á ferðinni. Hægt var að útiloka algengustu vítamín (þíamín, B6 vítamín og níasín).

Ályktanir. Af framansögðu má telja víst að fengist hafi áreiðanlegar niðurstöður fyrir hreinar mjólkurafurðir. Aðferð Ashoors er til muna fljótlegri og einfaldari en flúrljósmæling með AutoAnalyzer. Breytileikastuðlar sem fást með báðum þessum aðferðum eru svipaðir.

Mynd 2. Mælingar á ríbóflavíni. Aðferð Ashoors (11). Sjá einnig töflu 21.



Ríbóflavíntoppur er auðkenndur með stjörnu

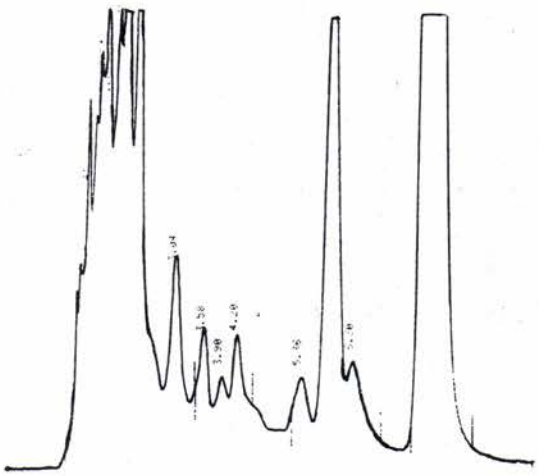
Tafla 21. Mælingar á ríbóflavíni í mjólkurvörum. Aðferð Ashoors (11) útfærð á RALA.

Aðferð:	Mjólk er sett beint á forsúlu (Sep pak). Ríbóflavín er losað af súlunni og lausnin er þá tilbúin fyrir vökvaskiljuna. Eftir aðskilnað á súlu er mæling gerð við 280 nm.
Sýni:	Aðferðin reyndist henta til mælinga á mysu, undanrennu og nýmjólk.
Undirbúningur sýna:	Osta og þykkar afurðir þarf að jafna í kvörn ásamt asetat böffer. Fljótandi mjólkurafurðir er hægt að nota beint. Forsúla (Sep pak C-18) er fest á sprautu. Forsúlan er virkjuð með því að dæla í gegn metanóli og vatni. Sýni (5-20 ml) er pípetterað í sprautuna. Sýninu er dælt í gegn og súlan síðan skoluð með vatni. Ríbóflavín er losað af súlunni með blöndu af metanóli og 0.02M asetat böffer (1:1). Þessi lausn er notuð til mælingar.
Skiljun :	Vökvaskiljun (HPLC).
Súla :	Nova-pak C-18, öfug fasa.
Ferðafasi :	Vatn-metanol-ediksýra (65:35:0,1).
Flæði :	1 ml/mín.
Þrýstingur:	1000 psi.
Rástími :	2,7 - 2,8 mín.
Mæling	
Nemi	:UV, 280 nm.
Mögnun	:0.02 aufs.
Staðlar	:Ytri staðlar: 1,2 og 3 µg/ml. Svörun línuleg a.m.k. að 3 µg/ml.
Útreikningar:	Hæð toppa var mæld.
Prófanir á aðferð:	
Heimtur :	Heimtur á viðbættu ríbóflavíni í mjólk reyndust 102%. Heimtur staðals af forsúlu reyndust 100-106%.
Breytileiki:	Eitt sýni af mjólk var undirbúið og mælt fjórfalt sama daginn. Breytileikastuðull (CV) reyndist 1,6% Sama síuvökvanum var sprautað inn fimm sinnum og dreift á keyrslutíma eins dags. Breytileikastuðull varð 1,2%.

Ríbóflavín mælt við 436 nm.

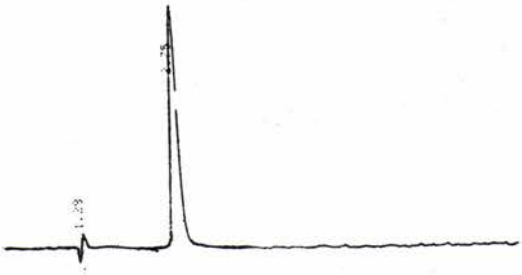
Athugað var hvort hægt væri að mæla ríbóflavín í ávaxtadrykkjum með aðferð Ashoors (11) ef skipt væri um bylgjulengd.

Mynd 3. Aðferð Ashoors beitt við 436 nm og 280 nm (11).



(a) Svali, 280 nm

(b) Svali, 436 nm, sama næmni og í (a)



(c) Ríbóflavínstaðall, 436 nm.

Mælingar voru gerðar við 436 nm. Með þessu móti var hægt að losna við fjölmarga toppa sem ollu truflunum. Næmnin var hins vegar ekki nógu mikil fyrir ávaxtadrykki og kjöt. Þetta lá beint við að leysa með flúrljósmælingu.

Aðferð Wimalasiris og Wills.

Ætlunin var að nota flúrljósmæla við vökvaskiljunina til að mæla ríbóflavín í kjöti og fleiri afurðum. Fyrst var prófuð aðferð Hvass (25) en hún reyndist ófullnægjandi. Þá var prófuð aðferð sem Wimalasiri og Wills höfðu gert grein fyrir (12) og reyndist hún mjög vel.

Framkvæmd. Hægt var að undirbúa sýni með sama hætti og áður hefur verið gert á RALA fyrir mælingar á þíamíni og ríbóflavíni með AutoAnalyzer (3). Framkvæmdin er ekki frábrugðin lýsingu Wimalasiris og Wills í grundvallaratriðum.

Af kjöti voru vigtuð 3-4 g í glerkrukkur. Af öðrum sýnum var tekið heldur meira eða minna, allt eftir áætluðu magni vítamínanna. Útbúið var viðmiðunarsýni með því að mala allbran og blanda rækilega. Viðmiðunarsýnið var svo tekið með í hverri keyrslu. Bætt var í krukkurnar 40 ml af 0,1N HCl, hrist var þar til kjötið leystist sundur og síðan var þrýstisoðið í 30 mínútur. Sýrustig var stillt á 4,0 - 4,5 með 2N NaOAc. Bætt var í hvataupplausn (mylasi 100 og papaín í vatni). Sýrustig var loks stillt á pH 3,5. Lausnin var flutt í 100 ml mæliflösku. Fyllt var að merki með vatni. Lausnin var síuð gegnum glertrefjasíupappír og loks gegnum 0,45 µm síu. Forsúla var ekki notuð.

Aðferð Wimalasiris og Wills var þróuð fyrir bæði ríbóflavín og þíamín og þurfti þá að nota tvo flúrljósnema. Á RALA var aðferðin aðeins notuð fyrir ríbóflavín.

Árangur. Aðferðin reyndist í alla staði vel fyrir kjötmeti, mjólk og brauð. Ekki var þörf á hreinsun með forsúlu. Aðferðin var hins vegar ekki fullnægjandi fyrir nokkra drykki og ávexti (appelsínusafa, appelsín, ber). Hreinsun á forsúlu dugði heldur ekki til. Því var gripið til þess ráðs að mæla ríbóflavín í þessum sýnum með flúrljósmælingu í AutoAnalyzer (23).

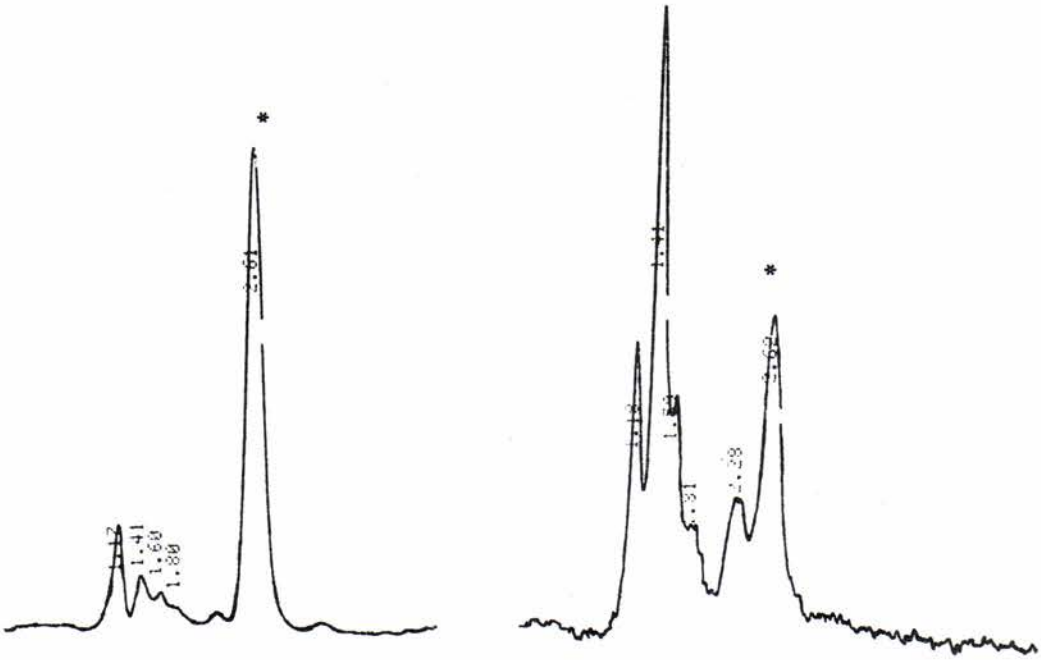
Aðferð Wimalasiris og Wills hefur verið borin saman við viðurkennda AOAC aðferð (24). Samræmi reyndist mjög gott. Samanburðurinn náði til sýna af kjöti, mjólk, korni og garðávöxtum. Á RALA voru gerðar samprófanir fyrir kjöt. Til samanburðar var notuð flúrljósmæling með AutoAnalyzer en hún er nú viðurkennd AOAC aðferð (23). Árangurinn er sýndur í töflu 22 og getur hann talist fullnægjandi.

Tafla 22. Samanburður á mæliaðferðum.

Sýni	Vökvaskiljun (12)	AutoAnalyzer (23)
Hvalkjöt	0.19 mg/100g	0.20 mg/100g
Nautakjöt	0.24 "	0.26 "
Folaldakjöt	0.29 "	0.32 "
Hangikjöt	0.29 "	0.33 "
Rúllupylsa	0.16 "	0.17 "
Lifur	4.40 "	4.75 "
Nýru	2.14 "	2.51 "
Hjörtu	0.89 "	1.05 "
Meðaltal	1.08 "	1.20 "

Niðurstöður fengnar með vökvaskiljun eru allar heldur lægri. Líklegt er að skiljunin leiði til nákvæmari mæliniðurstaðna þar sem truflandi efni mælast ekki með ríbóflavíni. Breytileikastuðlar á bilinu 2-4% benda til að niðurstöðurnar séu áreiðanlegar. Á bak við þessa stuðla eru fjórar mæliniðurstöður sem dreifast á tvo keyrsludaga. Breytileikastuðlar í flúrljósmælingu með AutoAnalyzer reyndust vera svipaðir. Vökvaskiljunin þarf því ekki að gefa áreiðanlegri niðurstöður en gamla mæliaðferðin. Fyrir mælingu með AutoAnalyzer þarf að búa til fjölmargar lausnir. Vökvaskiljunin hefur því vinnusparnað í för með sér, auk þess sem nákvæmari mæliniðurstöður fást.

Mynd 4. Mælingar á ríbóflavíni. Aðferð Wimalasiris og Wills (12). Sjá einnig töflu 23.



(a) Selkjöt (b) Silungur

Ríbóflavíntoppur er auðkenndur með stjörnu.

Tafla 23. Mælingar á ríbóflavíni með flúrljósmælingu. Aðferð Wimalasiris og Wills (12) útfærð á RALA.

Aðferð:	Vökvaskiljun (HPLC): jón-par skiljun og flúrljósmæling. Mikil vinna var við undirbúning sýna : hydrolysa, meðhöndlun með hvötum og síun.
Sýni	Aðferðin reyndist henta til mælinga á ríbóflavíni í kjöti, innmat, fiski, mjólkurvörum og brauðum.
Undirbúningur sýna:	Sýnin voru gufusoðin í súrri lausn. Sýrustig var stillt á pH 4,0-4,5 og hvötum bætt í. Eftir hydrolysu yfir nótt var pH stillt á 3,5. Þynnt var í 100 ml og síðan síað gegnum síupappír. Loks var síað gegnum 0.45 µm síu.
Skiljun :	Vökvaskiljun (HPLC), jón-par.
Súla :	µBondapak C-18, öfugfasa.
Ferðafasi :	Vatn-metanól (60:40) með 5mM hexan súlfónsýru.
Flæði :	1 ml/mín.
Þrýstingur:	500 psi.
Rástími :	2,6 mín.
Mæling :	
Nemi :	Flúrnemi, örvun 340 nm, mæling 425 nm.
Mögnun :	16,32,64 aufs.
Staðlar :	Ytri staðlar: 0.05, 0.10 og 0.20 µg/ml gefa línulega svörun.
Útreikningar:	Hæð toppa var mæld.
Prófanir á aðferð:	
Heimtur :	Ríbóflavíni var bætt í kjöt og reyndust heimtur þess 93% (88-97%). Heimtur staðla sem fengu sömu meðferð og sýni voru 98% (95-100%).
Breytileiki:	Fjórar mælingar voru gerðar á 6 sýnum. Breytileikastuðlar voru 2-4%, en í einu tilfelli 8%. Þegar sama síuvökva var sprautað inn 5 sinnum reyndust breytileikastuðlar 0,7 og 1,5%.

2.6 ÞÍAMÍN

Eiginleikar.

Í fæðu er þíamín ýmist frítt eða bundið öðrum efnum. Í seinna tilvikinu má nefna hvítukomplexa og ein-, tví- eða þrífosfatestera. Áður en þíamín er mælt með efnafræðilegum aðferðum þarf að losa það úr þessum samböndum.

Þíamín er söðugt í súrri lausn en óstöðugt við pH7 og í basískri lausn. Því er nauðsynlegt að nota súra lausn við undirbúning sýna.

Þíamín gefur ekki flúrljómun og er að því leyti ólíkt ríbóflavíni. Þíamín gleypir ljós á útfjólublá sviði.

Í sumum fiskum og plöntum er hvatinn þíamínasi (19), en hann eyðir þíamíni. Súlfít stuðlar einnig að eyðingu þíamíns.

Mæliaðferðir.

Margar aðferðir hafa verið notaðar gegnum tíðina til að mæla þíamín. Efnafræðilegar aðferðir skipta nú langmestu máli (19). Þeim má skipta í tvennt: Hefðbundnar aðferðir og aðferðir sem hafa verið þróaðar fyrir AutoAnalyzer. Nær allar þessar aðferðir eru byggðar á flúrljósmælingu þíókróms. Þíókróm fæst með því að oxa þíamín með kalíum hexasyanóferati. Þíókróm gefur sterka flúrljómun við pH yfir 8. Stöðugleiki þíókrómsins er nógu mikill við þetta sýrustig. Þessi aðferð gerir miklar kröfur til hreinsunar á sýnum. Mælingar á þíókrómi eru áreiðanlegar og henta fyrir ýmis matvæli. Helst hafa verið vandamál við að fá nógu góða hvata til að meðhöndla sýni (19).

Mæling á þíamíni á útfjólublá sviði (um 230 nm) er vart möguleg nema þíamín sé í umtalsverðu magni. Þessi möguleiki er því ekki notaður fyrir fæðu nema í undantekningartilfellum (vítamínbætt fæða).

Á síðustu árum hefur þíamín verið mælt með vökvaskilju. Í flestum tilfellum er leitast við að mæla bæði þíamín og ríbóflavín. Tekist hefur að mæla bæði þíamín og ríbóflavín í vítaminbættu korni með gleypnimælingu við 254 nm (31). Þessi aðferð er ekki nógu næm til að mæla þíamín í kjöti og fleiri fæðutegundum (25,27). Lausnin er því þíókróm aðferðin útfærð fyrir vökvaskilju (24,25,27,29). Hér koma til sögunnar ýmis vandamál ef mæla á bæði þíamín og ríbóflavín í sömu keyrslunni. Þíókróm þarf að mæla í basískri lausn en þá er ríbóflavín óstöðugt. Ekki er hægt að nota sömu bylgjulengdir fyrir bæði þessi efni. Vandamálið hefur verið leyst með því að nota tvo flúrljósnema (12). Aðrir mæla annað efnið í einu. Oxun á þíamíni fer fram ýmist í vökvaskiljunni eða fyrir innsprautun. Enn er verið að þróa aðferðir til að mæla þíamín með vökvaskilju, en talið er víst að þessi tækni verði mikilvæg í sambandi við þíamínmælingar í framtíðinni. Eftir athugun á þessum aðferðum varð niðurstaðan sú að hagkvæmast yrði að mæla ríbóflavín með vökvaskiljunni en halda áfram að mæla þíamín með AutoAnalyzer.

Þíamínmæling með AutoAnalyzer hefur reynst mjög vel. Þar er oxun á þíamíni framkvæmd með sjálfvirkum hætti. Ef vökvaskiljan hefði verið tekin upp, hefði þurft að oxa þíamínið í tilraunaglösum. Það hefði dregið úr áreiðanleika mælingarinnar. Auk þess draga basískar lausnir úr endingu á súlum í vökvaskiljum.

Þíamínmæling með aðferð Solimans.

Byggt er á aðferð Solimans (9) og hefur aðferðin áður verið notuð á RALA (3). Helstu atriðum er lýst í töflu 24.

Tafla 24. Mælingar á þíamíni með flúrljósmælingu. Aðferð Solimans (9) útfærð á RALA.

Aðferð:	Sjálfvirk blöndun hvarflausna og flúrljósmæling í AutoAnalyzer. Sýni voru undirbúin með sýruhydrolysu, hvatameðferð og síun.
Sýni :	Sjá töflu 23.
Undirbúningur sýna :	Sjá töflu 23.
Oxun þíamíns :	Þíamín er oxað í þíókróm með kalíumhexasýanóferrat lausn í efnagreiningartækinu. Þessi blöndun er sjálfvirk.
Mæling :	Fyrir mælingu er þíókróm dregið yfir í ísóbútanól/metanól með sjálfvirkum hætti í efnagreiningartækinu. Blankur er mældur fyrir öll sýni. Bensensúlfónylklóríð er þá notað til að hindra myndun þíókróms.
Nemi :	Flúrljósmælir. Örvun við 365 nm og mæling við 440 nm.
Staðlar:	Innri staðlar.
Prófanir á aðferð :	
Heimtur :	Heimtur úr kjöti reyndust 99-108% Heimtur á stöðlum,sem fengu sömu meðferð og sýni,reyndust 95-97%. Mælingar voru gerðar á hreinu þíamín pyrofosfati.
Virkni hvata :	Eftir hvatameðferð mældist 95% af því þíamíni sem við var búist. Án hvatameðferðar var ekkert mælanlegt.
Breytileiki:	Fjórar mælingar voru gerðar á 8 sýnum. Breytileikastuðlar (CV) voru á bilinu 1-13%, meðaltalið var 6%.

2.7 C VÍTAMÍN

Eiginleikar.

Askorbinsýra oxast mjög auðveldlega í dehydroaskorbinsýru. Þegar súrefni er til staðar stuðlar hátt sýrustig, kopar- eða járnjónir og hækkað hitastig mjög að hraðari myndun dehydroaskorbinsýru. Í sumum fæðutegundum er askorbinsýru oxidasi, en hann stuðlar einnig að myndun dehydroaskorbinsýru. Dehydroaskorbinsýra getur myndað díketógulonsýru. Hin síðarnefnda hefur enga vítamínvirkni í líkamanum. Dehydroaskorbinsýra er talin hafa um 80-100% af virkni askorbinsýru (19,33,34)..

L-askorbinsýra er hið virka form. D-askorbinsýra (ísóaskorbinsýra, erythorbic sýra) er notuð sem þráavarnarefni í matvæli, en vítamínvirkni hennar er aðeins um 5% af vítamínvirkni L-askorbinsýru (18). Ef notaðar eru mæliaðferðirsem ekki gera greinarmun á þessum stereóísómerum fæst í vissum tilfellum verulegt ofmat á C vítamínvirkni.

Mæliaðferðir.

Fjölmargar aðferðir hafa verið notaðar til að mæla askorbinsýru. Engin ein aðferð hefur reynst fullnægjandi fyrir allar fæðutegundir. Truflun frá öðrum efnum hefur valdið mestum vandkvæðum (35). Því hefur stöðugt verið unnið við að endurbæta mæliaðferðir.

Af þeim aðferðum sem mest hafa verið notaðar má nefna:

1) Títrun með 2,6-díklórfenolindófenóli. Aðferðin byggist á því að mæla afoxandi eiginleika askorbinsýrunnar. Aðferðin er viðurkennd af AOAC (23).

2) Litrófsmæling eftir afleiðumyndun. Askorbinsýra er oxuð í dehydroaskorbinsýru, sem síðan er látin hvarfast við dínitrofenyl hydrazín. Ósasonið sem myndast er mælt með litrófsmælingu.

3) Flúrljósmæling eftir afleiðumyndun. Með því að oxa askorbinsýru í dehydroaskorbinsýru og hvarfa hana síðan við σ-fenylendíamín, fæst flúrljómandi quinoxalínsamband. Mælingin byggir svo á flúrljósmælingu (23). Þessi aðferð hefur verið útfærð fyrir Technicon AutoAnalyzer (23).

Títrun með díklórfenólindófenóli hefur vissar takmarkanir. Aðferðina skortir sérhæfni, litarefnið er óstöðugt og ýmis efni geta truflað. Flúrljósmæling eftir notkun á fenylendíamíni er sérhæfðari og hægt er að nota aðferðina fyrir fleiri tegundir sýna (36).

Vökvaskiljun.

Fjölmargar aðferðir hafa verið þróaðar síðustu 6 árin til að mæla C vítamín með vökvaskilju. Aðferðirnar eru margbreytilegar. Í sumum tilfellum er aðeins verið að mæla askorbinsýru. Í öðrum tilfellum er dehydroaskorbinsýra mæld ásamt askorbinsýru. Í nokkrum tilfellum tekst að aðgreina ísóaskorbinsýru og askorbinsýru.

Í flestum greinum komast höfundar að þeirri niðurstöðu að mæling á C vítamíni með vökvaskilju hafi ýmsa kosti fram yfir aðrar aðferðir. Yfirleitt eru mælingar á askorbinsýru með vökvaskilju taldar áreiðanlegar, nákvæmar, fljótlegar og mjög sérhæfðar. Mælingar með vökvaskilju hafa reynst nákvæmari en hefðbundnar aðferðir fyrir sýni með ýmsum náttúrulegum litarefnum (37).

Heimtur eru yfirleytt góðar og næmnin fullnægjandi. Á þessum forsendum hafa menn treyst sér til að mæla með notkun vökvaskilju til C vítamínmælinga (38). HPLC mælingar hafa yfirleitt verið bornar saman við viðurkenndar hefðbundnar aðferðir með góðum árangri. Það sem einkum mælir á móti því að taka upp mælingar með vökvaskilju er að enn hafa þær ekki verið viðurkenndar sem opinberar aðferðir. Þá hafa fáar samprófanir verið gerðar milli rannsóknastofa. Samt sem áður er nú þegar mikið farið að nota vökvaskilju við mælingar á askorbinsýru (39).

Undirbúningur sýna er með líkum hætti og fyrir eldri aðferðir. Þó bætist það við að sía verður sýnið gegnum mjög fíngerðar himnur. Alltaf er notuð sýra þar sem askorbinsýran er mun stöðugri við lágt pH. Algengast er að notuð sé metafosfórsýra. Hún fellir út hvítu og gerir askorbinsýru oxidasa óvirkan. Oft er EDTA notað til að binda málmjónir.

Ýmist er notast við UV nema eða nema til að mæla flúrljómun. Hægt er að mæla askorbinsýruna beint við 245-265 nm. Þessi möguleiki er notaður í flestum aðferðunum sem voru athugaðar. Mæling á dehydroaskorbinsýru er mun erfiðari. Hún sýnir mjög litla gleypni, sem er í hámarki við 210 nm. Tekist hefur að mæla dehydroaskorbinsýru við þessa bylgjulengd (40,41). Þessi lausn er þó ekki góð þar sem næmni aðferðarinnar er lítil og miklar kröfur eru gerðar til leysanna. Hægt er að nota hefðbundnar aðferðir til að breyta dehydroaskorbinsýru í flúrljómandi samband. Algengast er að notað sé fenylendíamín (33,42). Þá er hægt að oxa askorbinsýruna í byrjun í dehydroaskorbinsýru og mæla heildar C vítamínvirkni (33,42). Einnig er hægt að vera með tvo nema og mæla askorbinsýruna með gleypnimælingu og dehydroaskorbinsýru með mælingu á flúrljómun (43,44). Loks er hægt að losna við það að mæla dehydroaskorbinsýru með því að afoxa hana í askorbinsýru með D,L-homocysteini. Nægir því að mæla askorbinsýruna (45,46).

Sumum höfundum hefur tekist að aðgreina L-askorbinsýru og D-askorbinsýru (10,33). Þetta getur verið kostur þegar um vítamínbætt matvæli er að ræða. Vökvaskiljunin hefur þessa aðgreiningu fram yfir hefðbundnar aðferðir eins og títrun.

Við vökvaskiljun á C vítamíni eru mest notaðar tvær aðferðir til að fá fram aðskilnað (40,45):

1) C-18 öfugfasa súla ásamt ýmsum jón-par efnum í ferðafasa.

2) -NH2 normal fasa súla og "bonded-phase chromatography".

Langflestar aðferðirnar byggja á jón-par aðskilnaði.

Aðferð frá Levnedsmiddelstyrelsen.

Eftir að fjöldi aðferða hafði verið athugaður var valin aðferð frá Levnedsmiddelstyrelsen í Danmörku (10). Það val tók mið af tiltækum tækjabúnaði og einnig eftirtöldum atriðum:

1) Aðferðin hentar fyrir ólíkar fæðutegundir.

2) Aðferðin hefur verið borin saman við aðrar mæliaðferðir og var árangurinn jákvæður.

3) Möguleg á að vera að mæla bæði askorbinsýru og ísóaskorbinsýru.

Helsti galli aðferðarinnar er sá að dehydroaskorbinsýra er ekki mæld. Ætlunin var að styðjast einnig við aðra aðferð og afoxa dehydroaskorbinsýru í askorbinsýru með homocysteini (45).

Framkvæmd. Aðferðinni er lýst í töflu 26. Aðferðalýsingu (10) var fylgt að öðru leyti en því að EDTA var ekki notað í útdráttarlausn þar sem það var ekki fáanlegt nógu hreint.

Árangur. Aðferðin hentaði vel fyrir flest sýni sem voru mæld. Þó var ekki hægt að mæla askorbinsýru í Sunnan 10 ávaxtasafa vegna efna sem truflúðu. Kerfið þurfti 30-60 mín. til að ná jafnvægi. Rástími var áfram svolítið breytilegur. Flatarmál toppanna var samt sem áður stöðugt.

Þessi aðferð var borin saman við títrun með díklórfenólindofenoli (23). Tafla 25 sýnir niðurstöðurnar. Aðferðunum ber nokkuð vel saman og er það í samræmi við upplýsingar um HPLC aðferðina (10).

Tafla 25. Samanburður á mæliaðferðum.

Fæðutegund	HLPC	Títrun
Appelsínusafi	43,7 mg/100g	42,4 mg/100g
Mysudrykkur 1	27,9 "	26,6 "
Mysudrykkur 2	21,8 "	18,6 "
Gulrófur	38,9 "	39,7 "
Meðaltal	33,1 "	31,8 "

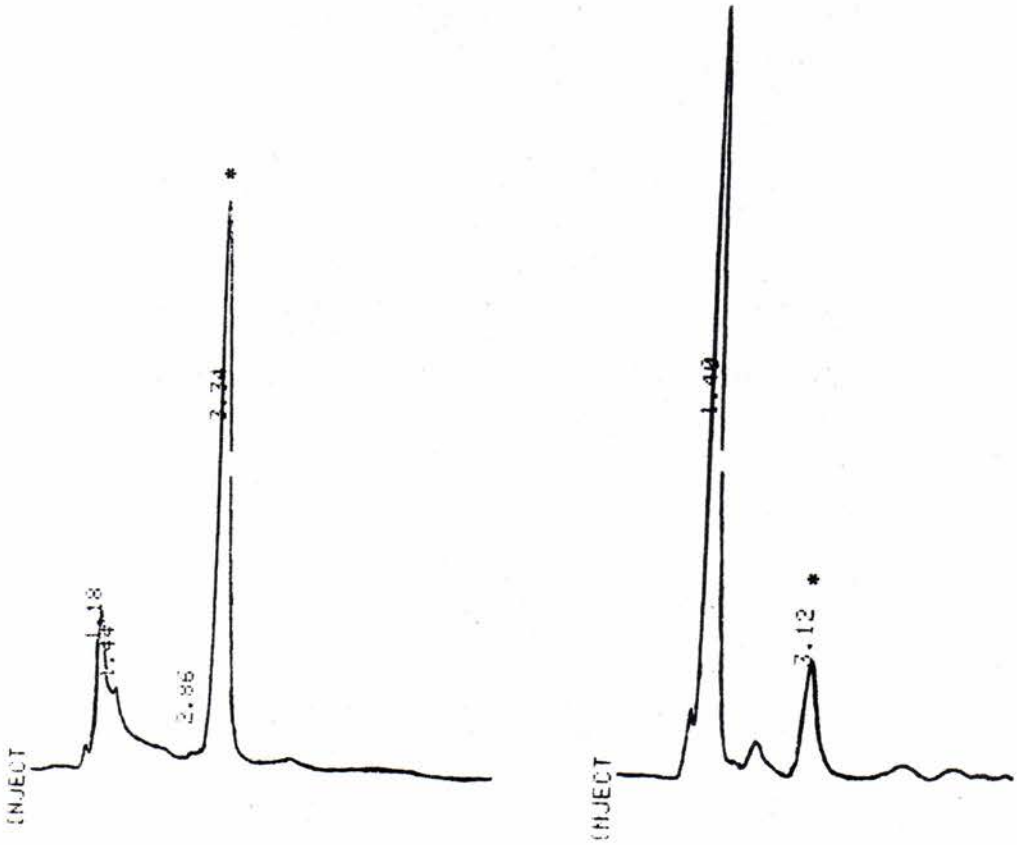
Ekki tókst að mæla dehydroaskorbinsýru. Reynt var að afoxa dehydroaskorbinsýru í askorbinsýru með D,L-homocysteini. Heimtur reyndust ekki fullnægjandi. Þetta var prófað á askorbinsýrustaðli sem hafði tekist að oxa í dehydroaskorbinsýru.

Ekki var greint á milli D-askorbinsýru og L-askorbinsýru.

Ályktanir. Aðferðin er fullnægjandi nema þegar einnig þarf að mæla dehydroaskorbinsýru. Aðferðin hefur talsverða kosti fram yfir títrun með díklórfenólindofenóli. Með vökvaskilju var hægt að mæla lausnir sem ekki var hægt að títra (t.d. sveskjusafa). Einnig eru niðurstöður vökvaskiljunar minna breytilegar en niðurstöður fengnar með títrun. Í töflu 26 kemur fram að breytileikastuðull fyrir vökvaskiljun á appelsínusafa var 1,4%. Sambærilegur stuðull fyrir títrun var 3,3%.

Vænlegast virðist vera að mæla heildar C vítamínvirkni með flúrljósmælingu. Nú hefur komið fram aðferð sem byggir á askorbinsýru oxidasa og σ-fenylendíamíni (33).

Mynd 5. Mælingar á askorbinsýru. Aðferð frá Levnedsmiddelstyrelsen (10). Sjá einnig töflu 26.



(a) Sveskjusafi

(b) Aðalbláber

Askorbinsýrutoppur er auðkenndur með stjörnu.

Tafla 26. Mælingar á askorbinsýru. Aðferð frá Levnedsmiddelstyrelsen (10) eins og hún var útfærð á RALA.

Aðferð :	Útdráttur er framkvæmdur með metafosfórsýrulausn. Síðan er notuð jón-par skiljun. (HPLC). Mæling er gerð við 254 nm.
Sýni :	Aðferðin reyndist henta til mælinga á ávaxtasafa, mysudrykkjum, rófum, káli, berjum og lifur.
Undirbúningur sýna :	Föst sýni voru jöfnuð í kvörn með 6% fosfórsýrulausn. Vökvar voru þynntir hæfilega með fosfórsýrulausninni. Loks var síað gegnum síupappír og síðan gegnum 0,45 µm síu. Þessi undirbúningur var alltaf framkvæmdur sama dag og mæling var gerð.
Skiljun :	Vökvaskiljun (HPLC), jón-par.
Súla :	µBondapak C-18, öfug fasa (reversed phase).
Ferðafasi :	0,04M asetat böffer með tetrahexylammonium brómíði (2,2g/l).
Flæði :	1 ml/mín.
Þrýstingur:	220-250 psi.
Rástími :	Askorbinsýra 2,7-3,2 mín.
Mæling :	
Nemi :	UV 254 nm.
Mögnun :	0.200, 0.500 aufs.
Staðlar :	Ytri staðlar, 20, 40, 50, 100 µg/ml. Svörun var línuleg að 100 µg/ml.
Útreikningar:	Flatarmál undir toppum var fundið með "Data modul" þegar aðskilnaður toppa var góður. Annars var hæð toppa mæld.
Prófanir á aðferð :	
Breytileiki :	Eitt sýni af appelsínusafa var undirbúið og mælt fimm-falt sama daginn. Breytileikastuðull (CV) varð 1,4%.
Samanburður :	Þessari aðferð og títrun með díklórindófenóli ber vel saman.

2.8 NÍASÍN

Eiginleikar.

Níasín er hér notað yfir bæði nikótínsýru og nikótínamíð. Bæði þessi efni eru jafnvirk sem vítamín. Níasín getur verið bundið öðrum efnasamböndum. Níasín er að finna í nokkru magni í flestum fæðutegundum. Mest er þó í kjöti og innmat. Í líkamanum myndast nokkuð af níasíni úr amínósýrunni tryptófani.

Níasín er eitt af stöðugustu vatnsleysanlegu vítamínunum. Ljós, sýrustig og hitun hafa lítil áhrif á stöðugleika vítamínsins. Níasín er ekki heldur viðkvæmt fyrir oxun.

Bæði nikótínsýra og nikótínamíð hafa gleypnihámark við 261 nm. Gleypnin er nokkuð háð sýrustigi.

Mæliaðferðir.

Á seinustu árum hafa tvær leiðir verið mest farnar til að mæla níasín. Önnur byggir á ákvörðun með örverum en hin á svokölluðu Koning efnahvarfi. Í síðara tilfellinu er nikótínsýra hvörfuð við syanógen brómíð og myndast þá blár komplex sem er mældur með litmælingu. Hefðbundna aðferðin hefur verið þróuð fyrir AutoAnalyzer og er þá mælingin orðin að hluta sjálfvirk.

Mælingar sem byggja á Koning efnahvarfinu hafa ýmsa annmarka. Nota þarf hættuleg hvarfefni, mælingarnar eru tímafrekar og stundum er næmnin ekki nógu mikil. Truflun frá öðrum efnum getur verið vandamál (19). Þessar ástæður leiddu til þess að athyglin beindist að vökvaskiljun og hefur talsverður árangur náðst á því sviði.

Vökvaskiljun.

Við vökvaskiljun er gleypni vítamínsins mæld við 250-260 nm (47,48,49,50,). Í flestum tilfellum er notaður jón-par aðskilnaður. Þíamín og ríbóflavín eru stundum mæld auk níasíns.

Undirbúningur sýna er með ýmsum hætti. Ef mæla þarf bæði nikótínsýru og nikótínamíð eru vítamínin dregin út með vatni. Venjulega er notuð súr eða basísk hydrolysa og aðeins nikótínsýran mæld.

Vökvaskiljunin hefur verið talin hafa kosti fram yfir eldri aðferðir (51).

Mæling prófuð.

Vökvagreining samkvæmt aðferð Skurray (47) var prófuð. Góður aðskilnaður fékkst og svörun staðla var eðlileg. Aðferðin reyndist hins vegar ekki nógu næm fyrir mörg sýni eins og mysu. Fyrir kjötsýni greindist toppur með svipaðan rástíma og nikótínsýra, en við nánari athugun reyndist ekki vera um níasín að ræða.

2.9 B6 VÍTAMÍN

Eiginleikar.

B6 vítamín er að finna í öllum fæðutegundum bæði úr jurta- og dýraríkinu. Óbundið B6 vítamín er til í sex myndum: Pyridoxíni (PN), pyridoxali (PL), pyridoxamíni (PM) og fosfötum fyrrnefndra mynda. Að auki geta þessi efni bundist öðrum efnum. Af framansögðu er ljóst að útdráttur þessara efna fyrir mælingu getur verið vandasamur. Ganga þarf úr skugga um að allar myndir vítamínsins náist. Meðan undirbúningur stendur yfir getur vítamínið breyst úr einni mynd í aðra og misjöfn eyðing getur orðið eftir því um hvaða mynd er að ræða (18). Eftir súra hydrolysu er aðeins hægt að mæla PN, PL og PM. Þessar þrjár myndir hafa sömu vítamínvirkni í líkamanum.

Útfjólublátt ljós stuðlar að eyðingu B6 vítamíns. Vítamínið er stöðugt í súrri lausn, en sumar myndir þess eru óstöðugar í basískri lausn.

Allar myndir B6 vítamíns geta gefið flúrljómun ef þær verða fyrir örvun við ákveðna bylgjulengd. Örvunin þarf að vera á nokkuð þröngu sviði. Hámarksárangur fæst við 290-300 nm. Flúrljómunin er þó mjög veik borið saman við flúrljómun ríbóflavíns.

Mæliaðferðir.

B6 vítamín hefur mest verið ákvarðað með örverum. Efnafræðilegar aðferðir hafa ekki verið fullnægjandi fyrir fæðu (19). Það er fyrst nú með tilkomu vökvaskiljunar að hillir undir það að B6 vítamín verði mælt í fæðu með efnafræðilegum aðferðum. Með vökvaskiljun er hægt að aðgreina og mæla allar sex myndir B6 vítamíns. Þessi mæling er hins vegar tæknilega mjög flókin. Hinar ýmsu myndir B6 víamíns hafa mismunandi eiginleika þegar flúrljómun er annars vegar. Viðbúið er að fjölmörg efni geti truflað.

Enn þarf að þróa aðferðir til vökvaskiljunar á B6 vítamíni frekar. Aðferðir við útdrátt þarf að rannsaka betur (18). Þá skortir samprófanir á mæliaðferðum. Samanburður á vökvaskiljun og ákvörðun með örverum sýnir þó í flestum tilfellum ágætt samræmi (18). Því er búist við því að vökvaskiljun muni á næstu árum auka mjög þekkingu manna á B6 vítamíni í fæðu.

Í flestum aðferðum, sem voru athugaðar, er B6 vítamín mælt beint með flúrljósmælingu (52,53,54). Stundum eru búnar til afleiður sem gefa sterkari flúrljómun (55).

Mæling prófuð.

Reynt var að mæla B6 vítamín með flúrljómun í vökvagreini. Mælitækið var ekki nógu næmt með þeim fílterum sem voru til umráða (örvun 340 nm og mæling 425 nm). Frekari prófanir voru því ekki gerðar.

2.10 FÓLASÍN

Eiginleikar.

Fólasín er notað sem samheiti fyrir fjölmörg efni sem eru skyld fólínsýru að byggingu. Þessi efni hafa svipaða vítamínvirkni. Fólínsýra inniheldur þrenns konar hópa: pteridín, p-amínóbensósýru og glútamínsýru. Þegar tekið er tillit til mögulegra tengihópa, geta fólasínsamböndin fræðilega séð orðið 140 (56). Í fæðu eru fjölmörg efni af þessu tagi, og hafa nú verið einangruð yfir 30 efni. Það er því strax orðið ljóst að ekki er einfalt mál að mæla fólasín.

Fólasín er viðkvæmt fyrir hitun, sýrum og ljósi. Það oxast auðveldlega. Sumar efnabreytingar hafa áhrif á vítamínvirkni fólasíns. Erfitt er að draga fólasín úr fæðu, en nauðsynlegt er að nota basíska lausn eða böffer með pH7.

Aðeins sum samböndin gefa flúrljómun. Gleypni á útfjólublátt sviði er hins vegar yfirleitt til staðar.

Mæliaðferðir.

Þau gögn sem til eru um fólasín í matvælum eru flest fengin með örverumælingum. Magn fólasíns í matvælum er það lítið að hefðbundnar efnafræðilegar aðferðir hafa ekki dugað. Vökvaskiljun hefur svo komið til sögunnar á seinustu árum.

Fólasínákvarðanir með örverum eru mjög næmar en krefjast mikillar vinnu og eru viðkvæmar fyrir truflunum (57). Ýmsar örverur hafa verið notaðar við mælingarnar. Hinar ýmsu örverur gefa mismunandi svörun gagnvart hinum ýmsu myndum fólasíns. Hægt er að nota Lactobacillus casei til að mæla frítt fólasín. Þá eru notaðir hvatar til að losa um aðrar myndir fólasíns.

Örverumælingar á fólasíni eru taldar erfiðar og breytileiki í niðurstöðum getur verið umtalsverður frá degi til dags (20,58). Samprófanir milli stofnana sýna oft ósamræmi (58,59). Því hefur komið til þess að menn hafa þurft að endurskoða gildi fyrir fólasín í næringarefnatöflum.

Birtar hafa verið greinar um aðgreiningu og mælingu með vökvaskilju á nokkrum helstu myndum fólasíns (57,60,61). Enn er við erfiðleika að etja vegna ósamræmis þegar borið er saman við aðrar aðferðir. Vökvaskiljunin hefur þann kost fram yfir ákvörðun með örverum að niðurstöður fást fyrir einstakar myndir vítamínsins. Sumir telja þó að vökvaskiljun geti ekki orðið ráðandi mæliaðferð fyrir fólasín á næstu árum (20).

Ályktun.

Ákvörðun á heildarmagni fólasíns er mjög erfið vegna þess hve margar útgáfur geta verið af efninu. Um fjölmargar ísómerur getur verið að ræða, oxunarstig geta verið mismunandi og ólíkir tengihópar koma til greina. Viðfangsefnið er of flókið til að vökvskiljun verði beitt nema á mjög skyld sýni í senn.

Mælingar á fólasíni voru ekki reyndar, þar eð engar líkur voru til þess að nothæfar niðurstöður fengjust á þeim tíma sem var til umráða.

2.11 ÖNNUR VÍTAMÍN

B12 vítamín, pantoþensýra og bíótín eru þau vítamín sem hvað erfiðast er að mæla í fæðu. Magn B12 vítamíns og bíótíns er mjög lítið í matvælum. B12 vítamín er þó ekki til staðar í jurtaafurðum. Í samræmi við þetta eru gögn um þessi vítamín oft af skornum skammti í næringarefnatöflum. Sérstaklega eru lítil gögn til um bíótín.

Pantoþensýru og bíótín er ekki hægt að mæla með ljósmælingu nema við mjög lága bylgjulengd. Ljósmæling á B12 vítamíni er einnig erfiðleikum bundin (62). Ákvarðanir með örverum hafa best dugað til að mæla þessi efni í fæðu. Útlit er fyrir að svo verði áfram. Vökvaskiljun hefur hins vegar dugað til að mæla vítamínin í vítamíntöflum.

2.12 NIÐURSTÖÐUR OG ÁLYKTANIR

Er munur á vítamínmagni í íslenskri fæðu og erlendri?

Aðeins sumar íslenskar mælniðurstöður er hægt að bera saman við erlend gildi. Niðurstöður fyrir þíamín og ríbóflavín í fimm kjöttegundum er hægt að bera saman við gildi í dönskum næringarefnatöflum (63). Samanburður leiðir í ljós að hvorki er marktækur munur fyrir þíamín né ríbóflavín. Samsvarandi samanburð er hægt að gera fyrir fjórar kjöttegundir út frá bresku næringarefnatöflunum (64). Sama niðurstaða fæst. Aftur á móti virðist vera meira af þessum vítamínum í íslenskum lambainnmat en breskum. Erfiðara er að átta sig á fiski og krabbadýrum. Ljóst er að í sumum tilfellum er talsverður munur.

Í þeim tilvikum þegar hægt er að bera niðurstöður C vítamínmælinga saman við töflugildi, fæst tiltölulega gott samræmi.

Sum vatnsleysanleg vítamín hafa aldrei verið mæld í íslenskri fæðu. Í þeim tilfellum er erfitt um vik þegar meta á hvort hægt sé að notast við erlendar niðurstöður. Þó geta erlendar rannsóknir gefið vissar vísbendingar þegar bornir eru saman ólíkir dýrastofnar og mismunandi landsvæði.

Í ljós hefur komið að B6 vítamín getur verið mjög breytilegt innan sömu fæðurtegundar (65). Tvöfaldur munur hefur fundist í magni B6 vítamíns milli svínaskrokka þegar sama stykkið er athugað (18). Einnig hafa mælingar sýnt að mjög er breytilegt hve mikið tapast að B6 vítamíni við matreiðslu (65).

Enn skortir upplýsingar um heildarmagn fólasíns í fæðu. Sömu sögu er að segja um tap á fólasíni við geymslu og matreiðslu (66). Að auki eru mælingarnar ýmsum annmörkum háðar og erlend töflugildi hafa þarfnast endurskoðunar.

Af framansögðu er ljóst að erlend töflugildi fyrir B6 vítamín og fólasín geta ekki orðið annað en gróf nálgun fyrir íslenska fæðu. Því verður erfitt að meta með neyslukönnunum hvort fólk fær nóg af þessum vítamínum.

Aðeins virðist hægt að álykta að magn vítamína í íslenskri fæðu sé í sumum tilfellum hið sama og í erlendri. Því meira sem innlend fæða er unnin, því erfiðara verður að taka beint upp erlend gildi fyrir vítamín. Virkni þíamínasa getur t.d. verið mismunandi eftir því hvernig vinnslunni er hagað.

Því verður ekki komist hjá því að gera vítamínmælingar á íslenskri fæðu ef áreiðanlegt mat á að fást á vítamíninnihaldi hennar. Sérstaklega þarf að mæla vítamín í sér íslenskum afurðum.

Aðferðafræðin.

Við næringarrannsóknir er þörf fyrir upplýsingar um magn vítamína í fjölmörgum fæðutegundum. Enn vantar mikið upp á það að hægt sé að fullnæja þessari þörf. Niðurstöður vantar fyrir margar fæðutegundir og oft vantar hentugar og viðurkenndar mæliaðferðir.

Vítamínin eru mörg hver flókin efni og mælingar á þeim geta verið erfiðar. Því er eðlilegt að niðurstöður fyrir vítamín í fæðu séu misjafnlega fullkomnar. Segja má að takmörkuð gögn séu fyrir hendi um pantóþensýru og bíótín í fæðu. Nokkru meira er vitað um B6 vítamín, fólasín og B12 vítamín. Mestar upplýsingar eru fyrir hendi um C vítamín, þíamín, ríbóflavín og níasín.

Vökvaskiljun á eftir að auka þekkingu manna á vítamíninnihaldi fæðu mjög mikið. Þessi mælitækni er enn svo ung að möguleikar hennar hafa ekki verið fullnýttir á þessu sviði. Vökvaskiljun hefur ýmsa kosti fram yfir aðrar mæliaðferðir. Hægt er að aðskilja mjög skyld efni og mæla þau án hitunar. Aðferðin getur verið mjög nákvæm.

Vökvaskiljun er enn að þróast. Það sem einkum mælir gegn því að taka upp vökvaskiljun er það að ákveðnar mæliaðferðir hafa enn ekki öðlast viðurkenningu.

Samt sem áður er nú orðið raunhæft að taka upp mælingar á ríbóflavíni, C vítamíni, þíamíni og níasíni með vökvaskilju. Samanburður við aðrar mæliaðferðir réttlætir notkun vökvaskilju í þessum tilfellum. B6 vítamín er nokkru erfiðara viðfangs en allt bendir til þess að vökvaskiljun verði fullnægjandi fyrir þetta vítamín. Ekki er sömu sögu að segja um fólasín. Vökvaskiljun verður ekki beitt nema að takmörkuðu leyti til að meta heildarmagn fólasíns. Vökvaskiljun á B12 vítamíni, pantoþensýru og bíótíni úr fæðu hefur lítið verið athuguð, en við ýmis vandamál er að etja.

Vökvaskiljun hentar sérlega vel til mælinga á ríbóflavíni. Skiljunin kemur í staðinn fyrir flókna efnafræðilega hreinsun og blankmælingu.

HEIMILDIR

1. Helgi Tómasson, 1943. Rannsóknir á B1-vítamínmagni nokkurra innlendra fæðutegunda, "mataræði og heilsufar á Íslandi". (Rannsóknir Manneldisráðs). Reykjavík.

2. Erla Salómónsdóttir og Svana Stefánsdóttir, 1976. B vítamín í fiski og fiskafurðum. Tæknitíðindi nr. 83.

3. Ólafur Reykdal, Garðar Sigurþórsson og Jón Óttar Ragnarsson, 1985. Rannsókn á íslenskri mjólk og mjólkurafurðum. Fjölrit RALA nr. 114.

4. Ólafur Reykdal, Guðjón Þorkelsson, Garðar Sigurþórsson, Ágúst Ó. Sigurðsson, Elín Hilmarsdóttir, Dóróthea Jóhannsdóttir og Jón Óttar Ragnarsson, 1984. Rannsókn á unnum kjötvörum. Fjölrit RALA nr. 106.

5. Júlíus Sigurjónsson, 1957. C vítamínrannsóknir. Fylgirit Árbókar Háskóla Íslands 1954-55.

6. Koivistoinen, P. og Varo, P.,1980. Mineral Element Composition of Finnish Foods. Acta Agriculturae Scandinavica, Suppl.22, 7-13.

7. Piironen, V., Syväoja, E., Varo, P, Salminen, K. og Koivistoinen, P., 1985. Tocopherols and tocotrienols in Finnish foods: Meat and meat products. J.Agric.Food Chem. 33,6 1215.

8. Anon. Tecator manual, Kjeltec Auto 1030 Analyzer.

9. Soliman, A.G.M., 1981. Comparison of manual and benzenesulfonyl chloride-semiautomated thiochrome methods for determination of thiamine in foods. J.Assoc.Off.Anal. Chem. 64,3,616-622.

10. Hansen, Aa.M., Sörensen, A. og Jensen, E., 1984. Bestemmelse af vandoplöselige vitaminer ved HPLC. Rapport A 83001, Levnedsmiddelstyrelsen, Danmark.

11. Ashoor, S.H., Knox, M.J., Olsen, J.R. og Deger, D.A., 1985. Improved liquid chromatograpic determination of riboflavin in milk and dairy products. J.Assoc.Off.Anal. Chem. 68,4,693.

12. Wimalasiri, P & Wills, R.B.H., 1985. Simultaneous analysis of thiamin and riboflavin in foods by high-performance liquid chromatography, J.Chomal. 318, 412-16.

13. Hjarde, W., Jonsen, B., Lieck, H., Porotnikoff, O & Uhl, E., 1952. Næringsværdien i nogle grönlandske levnedsmidler. Nordisk Medicin, 48:1231.

14. Júlíus Guðmundsson og Jónas Bjarnason, 1973. Efnagreiningar á hrognkelsum. Tæknitíðindi nr. 17.

15. Manneldisráð Íslands, 1986. Ráðlagðir dagskammtar (RDS) af ýmsum næringarefnum.

16. Jón Óttar Ragnarsson og Erla Stefánsdóttir, 1981. Neyslukönnun Manneldisráðs Íslands 1979-80, Höfuðborgarsvæðið. Fjölrit RALA nr. 74.

17. Jóhanna Haraldsdóttir, Lotte Holm, Jörgen Höjmark Jensen og Anders Möller, 1986. Danskernes Kostvaner. Levnedsmiddelstyrelsen, nr.136.

18. DeLeenheer, A.P., Lambert, W.E. & DeRuyter, M.G.M., 1985. Modern chromatographic analysis of the vitamins. Marcel Dekker.

19. Augustin, J., Klein, B.P. et.al., 1985. Methods of vitamin assay, 4. útg. John Wiley & Sons.

20. Haakan Johnsson, Statens livsmedelsverk, 1986. Persónulegar upplýsingar.

21. Gregory, J.F., 1983. Methods of vitamin assay for nutritional evaluation of food processing. Food technology. Janúar.

22. Macrae, R., 1982. HPLC in food analysis. Academic Press.

23. Anon, 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14.útg. Ritstj.: Horwitz, W. Útg. AOAC, Washington, D.C.

24. Wills, R.B.H., Wimalasiri, P. & Greenfield H., 1985. Comparative determination of thiamin and riboflavin in foods by high-performance liquid chromatography and fluorometric methods. J.Micronut.Anal. 1, 23-29.

25. Hvass, A., 1983. Determination of thiamin and riboflavin in meat products by high performance liquid chromatography. Danish Meat Products laboratory, nr. 248.

26. Johnsson, H. & Branzell, C., 1986. High performance liquid chromatographic determination of riboflavin in food -A comparison with microbiological method. Swedish National Food Administration.

27. Ang. C.Y.W. & Moseley, F.A., 1980. Determination of thiamin and riboflavin in meat and meat products by high-pressure liquid chromatography. J.Agric.Food Chem. 28, 3, 484.

28. Finglas, P.M. & Faulks, R.M., 1984. The HPLC analysis of thiamin and riboflavin in potatoes. Food Chemistry 15, 37-44.

29. Augustin, J., 1984. Simultaneous determination of thiamin and riboflavin in foods by liquid chromatography. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 67, 5, 1012.

30. Ashoor, S.H., Knox, M.J., Olsen, J.R. & Deger, D.A., 1985. Improved liquid chromatographic determination of riboflavin in milk and dairy products. J.Assoc.Off.Anal. Chem. 68, 4, 693.

31. Kamman, J.F., Labuza, T.P. & Warthesen, J.J., 1980. Thiamin and riboflavin analysis by high performance liquid chromatography. J.Fd.Sci. 45, 1497.

32. Toyosaki, T., Yamamoto, A. & Mineshita, T., 1986. Simultaneous analysis of riboflavin and its decomposition products in various milks. J.Micronutr.Anal. 2, 117-23.

33. Speek, A.J., Schrijver, J. & Scheurs, H.P, 1984. Fluorometric determination of total vitamin C and total isovitamin C in foodstuffs. J.Agric.Food.Chem. 32, 352-355.

34. Kealing, R.W. & Haddad, P.R., 1982. Simultanous determination af ascorbic acid and dehydroascorbic acid. J.Chromat. 245, 249-255.

35. King, R.D. (ritstj.), 1978. Developments in food analysis techniques - 1. Applied science publishers, London.

36. Pachla, L.A. & Reynolds, D.L., 1985. Review of ascorbic acid methodology. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 68, 1, 2-12.

37. Ashoor, S.H., Monte, W.C. & Welty, J., 1984. Liquid Chromatographic Determination of Ascorbic Acid in Foods. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 67, 1, 78-80.

38. Floridi, A., Fidanza, A.A., Bourgeois, C.F. & Wiggins, R.A., 1982. High performance liquid chromatographic determination of ascorbic acid. Internat.J.Vit.Nutr.Res. 52, 193-196.

39. Rizzolo, A., Forni, E. & Polesello, A., 1984. HPLC assay of ascorbic acid in fresh and processed fruit and vegetables. Food Chem. 14., 189-199.

40. Rose, R.C. & Nahrwold, D.L., 1981. Quantative analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by high performance liquid chromatography. Analytical Bio-Chemistry, 114, 140-145.

41. Finley, J.W. & Duang, E., 1981. Resolution of ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acids. J. Chromat. 207, 449.

42. Vanderslice, J.T. & Higgs, D.J., 1984. HPLC analysis with fluorometric detection of vitamin C in food samples. J.Chromat.Sci. 22, 485.

43. Kacem, B., Marshall, M.R. et.al., 1986. Simultaneous analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid. J.Agric.Food.Chem. 34, 271-274.

44. Kneifel, W. & Sommer, R., 1985. HPLC-Methode zur bestimmung von Vitamin C in Milch, Molke un Molkegetränken. Z.Lebensm.Unters Forsch, 181: 107-110.

45. Dennison, D.B., Brawley, T.G. & Hunter, G.L.K., 1981. Rapid high performance liquid chromatographic determination of ascorbic acid. J.Agric.Food.Chem. 29, 927-929.

46. Hughes, R.E., 1956. The use of homocysteine in the estimation of dehydroascorbid acid. Biochem.J. 64, 203.

47. Skurrey, G.R., 1981. A rapid method for selectively determining small amounts of niacin, riboflavin thiamine in foods. Food Chemistry, 7, 77-80.

48.Trugo, L.C., Macrae, R. & Trugo, N.M.F., 1985. Determination of nicotinic acid. J.Micronutr.anal. 1, 55-63.

49. Toma, R.B. & Tabekhia, M.M., 1979. High performance liquid chromatographic analysis of B-vitamins in rice. J.Fd.Sci. 44, 1, 263.

50. Tyler, T.A. & Shrago, R.R., 1980. Determination of niacin in Cereal samples by HPLC. J.Liq.Chromat. 3(2), 269-277.

51. Polesello, A. & Rizzolo, A., 1986. Application of HPLC to the determination of water soluble vitamins in foods (a review 1981-5). J.Micronutr.Anal. 2, 153-187.

52. Gregory, J.F., 1980. Comparison of high performance liquid chromatographic and Saccharomyces uvarum methods for the determination of vitamin B6 in fortified breakfast cereals. J.Agric.Food Chem. 28, 486-489.

53. Wehling, R.L. & Wetzel, D.L., 1984. Simultaneous determination of pyrioxine, riboflavin and thiamin. J.Agric.Food Chem. 32, 1326-31.

54. Vanderslice, J.T., Maire, C.E. & Yakuplovic, J.E., 1981. Vitamin B6 in ready to eat cereals. J.Fd.Sci. 46, 943.

55. Gregory, F.F. & Feldstein, D., 1985. Determination of vitamin B6 in foods and other biological materials by paired-ion high performance liquid chromatography. J.Agric.Food Chem. 33, 359-63.

56. Ahlmén, H., 1985. Analys av folsyra i livsmedel med RBA-teknik. Statens livsmedelsverk 1985:5.

57. Gregory, J.F., 1984. Determination of folacin in foods and other biological materials. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 67, 5, 1015.

58. Seifert, R.M., 1974. An approach to the chemical analysis of folic acid: J. Sci. Fd Agric 25, 1509-1515.

59. Wilson, D.S., Clifford, C.K. & Clifford, A.J., 1987. Microbiological assay for folic acid. J.Micronutr.Anal. 3, 55-67.

60. Schieffer, G.W. Wheeler, G.P. & Cimino, C.O., 1984. Determination of folic acid in commercial diets. J.Liq.Chromat. 7(13), 2659-69.

61. Day, B.P. & Gregory, J.F., 1981. Determination of folacin deriatives. J.Agric.Food. Chem. 29, 374-377.

62. Hudson, T.S., Subranamian, S & Allen, R.J., 1984. Determination of panthothenic acid, biotin and vitamin B12 in nutritional products. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 67, 5,994.

63. Möller, A. 1985. Levnedsmiddeltabeller, 2.útg. Dafolo forlag, Danmark.

64. Paul, A.A. og Southgate, D.A.T., 1978. McCance and Widdowson's The Composition of Foods, 4.útg. Her Majesty's Stationary Office, London.

65. Vanderstice, J.T., Brownlee, S.R. & Cortissoz, M.E., 1984. Liquid chromatographic determination of vitamin B6 in foods. J.Assoc.Off.Anal.Chem. 67, 55, 999.

66. Zeuthen, P, Cheffel, J.C. et.al. (ritstj.). Thermal processing and quality of foods. Elsevier Applied Science Publishers.

67. Elín Ólafsdóttir, 1983. Fáum við nóg af B- og C-vítamínum? Hjartavernd, 5-7.

68. Elín Ólafsdóttir, Bergþóra Jónsdóttir, Kristín Magnúsdóttir og Hörður Filippusson, 1983. Læknablaðið, 69, 56-59.