

# P-P FAKTOR A JEHO STANOVENIE V CEREÁLIÁCH A V SLOVENSKÝCH HUBÁCH

F. VALENTIN, P. HANULA

Výskumný ústav potravinárskeho priemyslu Bratislava

PRÍŠLO DO REDAKCIE 24. IV. 1952

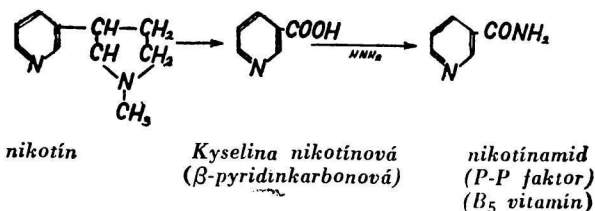
Je známe, že pelagra ako dôsledok avitaminózy môže sa liečiť špecifickým vitamínom — amidom kyseliny nikotínovej — zaradeným do komplexu vitamínov B ako B<sub>5</sub>.

Prvú zmienku o pelagré máme z r. 1575 od Taliana Frapolliho, ktorý spomínanú chorobu označuje pella rella. Je identická s chorobou, známou v benátskej republike pod menom alpský skorbut a v Astúrii mal de la rose. Prvé bližšie a presnejšie klinické štúdium pelagry urobili Gašpar Casal, d' Ovi edo (1730) atď. Názov pelagra pochádza od alpských sedliakov.

Kyselina nikotínová a jej amid sú slúčeniny už dlhší čas známe. Prvýkrát bola pripravená oxydáciou  $\beta$ -pikolínu r. 1879. Avšak fyziologický význam kyseliny nikotínovej a jej amidu zistil až r. 1937 Elvehem, ktorý ju aj prvýkrát izoloval z hovädzej pečene. Jej fyziologický účinok je podmienený  $\beta$ -polohou karboxylovej skupiny na pyridínovom jadre.

Kyselinu nikotínovú možno pripraviť napr. z nikotínu oxydáciou konc. HNO<sub>3</sub>. Získaný nitrát kyseliny nikotínovej sa prevedie na voľnú kyselinu nikotínovú zahrievaním a v konečnej fáze izolácia prebieha za použitia anhydridu kyseliny octovej (Pictet). Kyselinu nikotínovú dostaneme v podobe bieleho kryštalického prášku, ľahko rozpustného v horúcej vode a v horúcom alkohole, ťažko v éteri. Elektrolytická disociačná konštanta pri T = 20° C je  $1,4 \times 10^{-5}$ .

Z kyseliny nikotínovej cez metylester v metylalkoholickom roztoku za prívádzania amóniaku dostaneme amid kyseliny nikotínovej.



Podľa Devjatnina kyselinu nikotínovú možno pripraviť z  $\beta$ -pikolínu ultrafialovým žiarením. Za použitia nikotínu ako počiatocnej suroviny Devjatnin ho taktiež oxyduje konc. HNO<sub>3</sub>. Vzniknutý nitrát

## Rediguje redakčný kruh:

prof. Dr. Juraj Gašperík, prof. Dr. Pavel Nemes, Ing. Mikuláš Furdík, prof. Dr. Ing. Mikuláš Gregor, RNDr. Jiří Hostomský, Dr. Vojtech Kellö, Ing. C. Peter Lebovič, Ing. Darina Mikulášová, prof. Dr. Blahoslav Stehlík, Dr. Ing. Imrich Stein, MUDr. Viliam Thurzo, prof. Dr. Ing. Jozef Vašátko, Ing. Ján Zelinka, Ing. Miroslav Zikmund.

Hlavný redaktor: prof. Dr. Juraj Gašperík

Redakcia a administrácia: Bratislava, Klemensova 27.

## С о д е р ж а н и е

### Оригинальные труды:

И. Ежо, К. Бабор, Э. Вотички: Получение алкилированных или арилированных мочевины — — — — —	273
И. Ежо, К. Бабор, Ш. Бауер: Исследование фенилацетилкарбинола (II) —	277
М. Грегор, А. Келлер, И. Мадерич: Приспособление круговорота серы при производстве искусственного текстиля вискозным способом (I) —	281
Ф. Валентин, П. Ганула: П-П фактор и его определение в зерновых хлебах и словацких грибах — — — — —	291
Г. Рендко: Урощенный вид прибора Кучер — Стейдела — — — — —	299
Доклады:	
Э. Капишинский: Теория электрохимической коррозии — — — — —	303
А. Клейнцеллер: Биосинтез липоидов в микроорганизмах — — — — —	315
Л. Слама: Бумаги твердые в мокром состоянии — — — — —	325
К. Кюршнер: О количественном определении лугнина — — — — —	335
Новые книги и журналы — — — — —	345
Обзор советской науки — — — — —	346

## I N H A L T

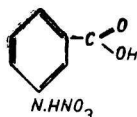
### ORIGINALARBEITEN:

I. Ježo, K. Babor, Z. Votický: Zubereitung von alkylierten oder arylierten Harnstoffen — — — — —	273
I. Ježo, K. Babor, Š. Bauer: Beitrag zum Studium von Phenylacetylcarbinol (II)	277
M. Gregor, A. Kellner, J. Maderič: Regelung des Schwefelumlaufes bei der Herstellung von Kunstseide nach dem Viskosenverfahren (I) — — —	281
F. Valentín, P. Hanula: Der P-P Faktor und seine Bestimmung in Zerealien und Pilzen slowakischer Provenienz — — — — —	291
G. Rendko: Eine vereinfachte Modifizierung des Kutscher-Stedel Apparates —	299

### REFERATE:

Z. Kapišinský: Theorie der elektrochemischen Korrosion — — — — —	303
A. Kleinzeller: Biosynthese von Lipoiden in Mikroorganismen — — — — —	315
L. Sláma: Nassfeste Papiere — — — — —	325
K. Kürschner: Über quantitative Ligninbestimmung — — — — —	335
NEUE BÜCHER UND ZEITSCHRIFTEN — — — — —	345
RUNDSCHAU ÜBER DIE SOWJETISCHE WISSENSCHAFT — — — — —	346

odparí do sucha a získaný produkt rozloží sódou za prítomnosti  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

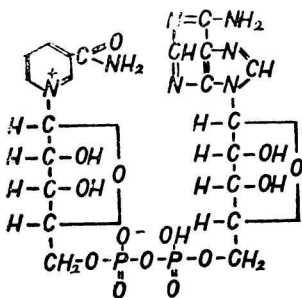


nitrát kyseliny nikotínovej

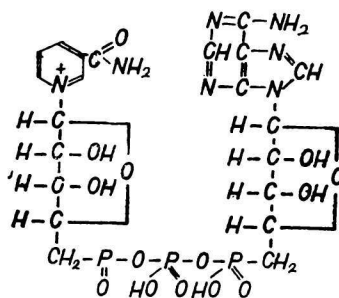
Vylúčenú kyselinu nikotínovú prekryštaluje zo studenej vody. Medziprodukt (nitrát) možno po prečistení taktiež použiť ako terapeutikum.

Pri priemyselnej výrobe kyseliny nikotínovej počiatočnou surovinou môže byť aj anabazín (*Anabasis aphylla* — druh *Chenopodiaceae*). Bo varníkovej sa pri zahrievaní smesi asparagínu s kyselinou glutamínovou podarilo vylúčiť priamo určitú látku, ktorú identifikovala ako nikotínamid.

V prírode je P-P faktor značne rozšírený, a to tak v ríši rastlinnej, ako aj v živočíšnej, zriedka však voľný. V organizmoch väčšinou figuruje vo forme enzýmov, viazaný na bielkoviny. Prítomnosť amidu kyseliny nikotínovej v rastlinných a zvieracích organizmoch zistili roku 1935 Warburg, Christian, Albers, Euler a Schlegel [5] ako jednu složku z komponentov, tvoriacich kodehydrázu I a II. Amid kyseliny nikotínovej je tu viazaný s adenínom, d-ribózou a  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Kodehydráza I. prípadne kozymáza obsahuje 2 molekuly  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , kozymáza II 3 molekuly  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .



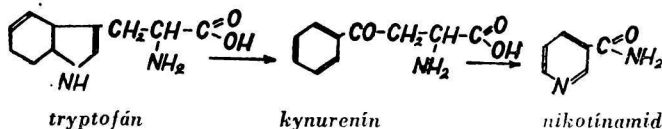
kodehydráza I.



kodehydráza II.  
(Warburgov žltý ferment)

V bunkách sa nikotínamid vyskytuje nielen ako komponenta kozymázy, ale aj vo voľnej forme.

O jeho vzniku v organizmoch dlho nebolo jednotného názoru. Dnes sa však pokladá za viac ako pravdepodobné, že vzniká z tryptofánu.



Fyziologický účinok kyseliny nikotínovej, ako sme už spomenuli, podmienený je  $\beta$ -polohou karboxylovej skupiny na pyridínovom jadre. Zaujímavé je, že typická pelagra nie je chorobou, zapríčinenou len nedostatkom kyseliny nikotínovej. Obvykle pri tejto avitaminóze chýbajú aj iné členy B-komplexu. Okrem terapie kyseliny nikotínovej je potrebná najmä prítomnosť aneurínu a laktoflavínu.

Podobne dobré výsledky dosiahli podávaním kyseliny nikotínovej ako preventívneho faktora a zákroku pri onemocneniach zapríčinených röntgenovými lúčami. Kyselina nikotínová môže byť účinná aj pri liečení hluchoty ôsmeho nervu (vysoké tóny) [9]. U psov je typickým príznakom nedostatku kyseliny nikotínovej černanie jazyka (black tongue). Pelagra zpočiatku nemá špecifické klinické symptómy. V pokročilejšom štádiu sa začínajú prejavovať typické kožné príznaky, najmä na miestach, vystavených slnečnému svetlu. Dochádza ku krčovým parésam nervového systému, prípadne k záchvatom, podobným epilepsii, k najrozličnejším halucináciám a takmer k strate vedomia.

Použitie 1000-násobného, normálne v potrave konzumovaného množstva kyseliny nikotínovej sa môže ešte považovať relatívne za netoxické. Väčšie dávky sú však už toxické. Napr. psi, ktorým sa priebehom 20 dní podávala denná dávka kyseliny nikotínovej v množstve 2 g, zahynuli.

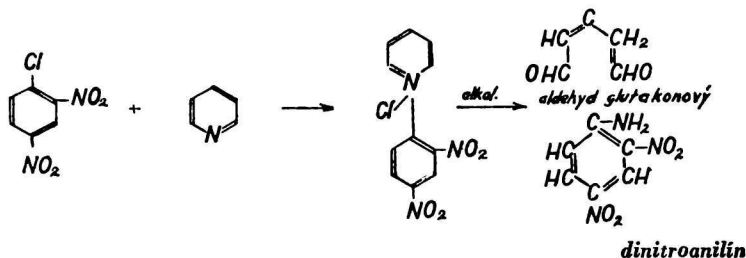
U človeka sa použitie väčších kvánt kyseliny nikotínovej per os prejavuje červenaním až hneďnutím pokožky, ďalej svrbením a zvýšeným pocitom lokálnej teploty kože. Amíd kyseliny nikotínovej nevyvoláva uvedené symptómy, a preto sa odporúča pre klinickú prax.

Minimálna denná dávka kyseliny nikotínovej je 50 mg, optimum 100 mg (Stepp K ü h n a u - S c h ö d e r) [7]. S konzervárenského stanoviska je zaiste vítaná jeho termostabilita či už oproti blanširovaniu, sterilizácii, zmrazovaniu atď., takže straty tohto dôležitého faktora technologickým spracovaním sú minimálne.

Na stanovenie nikotínamidu možno použiť jednak metódy chemické, jednak biologické. Chemické stanovenie spočíva na farebných reakciách pyridínového jadra, ktoré ako báza ľahko aduje alebo dinitrochlórbenzén alebo brómkyán.

a) Kondenzácia s 2,4-dinitrochlórbenzénom.

Metódu vynášiel von Gerichten [11], reakčný mechanizmus však vypracoval Zincke [12]. Podľa tejto metódy sa pyridínové ja-



dro pôsobením 2,4-dinitrochlórbenzenu otvára za vzniku aldehydu glutakónového, ktorý s prítomnými primárnymi alebo sekundárnymi amínmi dáva v alkalickom prostredí fialovočervené sfarbenie, vhodné pre kolorimetrické stanovenie.

Uvedenú reakciu aplikovali K a r r e r a K e l l e r [13] na stanovenie nikotínamidu. Okrem týchto aj V i l t e r, S p i e s a M a t t h e w s [14]. Naproti tomu H a r r i s a R a y m o n d [15] dávajú prednosť tejto reakcii len pri kvalitatívnom stanovení nikotínamidu, kým pri kvantitatívnom určení tohto dôležitého biochemického faktora používajú K ö n i g o v u reakciu.

### b) Kondenzácia s brómkyánom podľa Königa [16].

Metódu prvýkrát aplikovali K u l i k o w a K r e s t o w o s d i v i g e n s k a j a [17] pôvodne len na stanovenie pyridínu, neskôr S w a m i n a t h a n [18], S h a w a M a c D o n a l d [19], B a n d i e r a H a l d [20] pre nikotínamid.

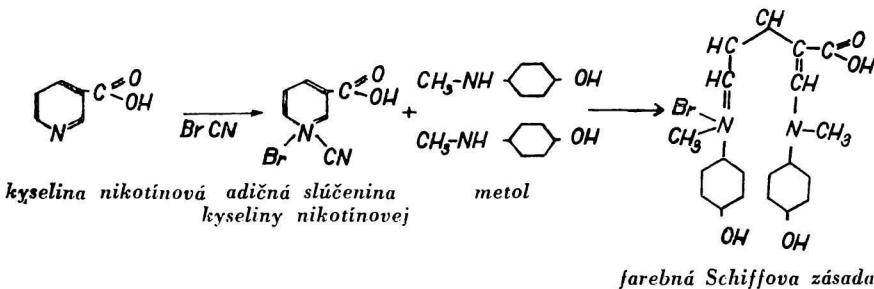
Za prítomnosti primárnych i sekundárnych aromatických amínov tieto adičné slúčeniny poskytujú aj sfarbenie (S c h i f f o v u zásadu), merateľné fotometricky.

Ako aromatické amíny možno použiť [7]:

1. p-aminoacetofenón (L. J. Harries a W. D. Raymond).
2.  $\beta$ -naftylamín (H. V. Euler, Fr. Schenck a B. Högberg).
3. N-metyl-p-aminofenol (Bandier).
4. p-metylaminofenol (Bandier).

Pri našich stanoveniach sme používali p-metylaminofenol (metol).

Reakčný mechanizmus je takýto:



Kyselinu nikotínovú sme stanovovali podľa B e n c z e h o metódy [4]:

Odvážené množstvo analyzovanej hmoty prevedieme na homogénnu masu, ktorú 1,5 hod. hydrolyzujeme na vodnom kúpeli 10%-nou  $H_2SO_4$ . Po dvojnásobnom opakovaní hydrolyzy roztok dekantujeme a spojené dekantované podiely doplníme na určitý objem. Podľa očakávaného množstva kyseliny nikotínovej vezmeme do ďalšej práce 50—100 ml. Po vysrážaní  $SO_4^{2-}$  s  $Ba(OH)_2$  a po vyčerení centrifugujeme a vo filtráte vysrážame bielkoviny zásaditým  $(CH_3COO)_2Pb$ . Ak je roztok ešte sfar-

bený, treba ho čeriť ďalej, prípadne odfarbiť 4%-ným  $\text{KMnO}_4$  a zriedeným  $\text{H}_2\text{O}_2$ .  $\text{KMnO}_4$  treba pridávať tak dlho, kým fialové sfarbenie ostáva aspoň 1 minútu. Odfarbovanie aktívnym uhlím (*Norrit*) nevyhovuje, pretože podľa nášho zistenia adsorbuje kyselinu nikotínovú a výsledky stanovenia nie sú presné. V prípade, že na odfarbenie použijeme aktívne uhlie, adsorbát z aktívneho uhlia možno eluovať len alkoholickou a nie vodnou  $\text{HCl}$ . Olovnaté ióny po srazení bielkovín odstraňujeme obvykle sirovodíkom.

Z takto získaného číreho a bezfarebného filtrátu pipetujeme na stanovenie 5—15 ml za pridania 5 ml  $\text{BrCN}$  (nasýtený vodný roztok  $\text{Br}$ , odfarbený 1%  $\text{KCN}$ ; tento roztok treba pre každé stanovenie pripraviť čerstvý). Smes sa nechá reagovať v termostate 1 hodinu pri teplote  $30^\circ \text{C}$ . Potom sa do roztoku pridá odvážené množstvo bieleho chemicky čistého metolu — ca 0,6 g (z predajného produktu treba čistý *p*-metylamínofenolsulfát pripraviť dvojnásobnou až trojnásobnou frakčnou kryštalizáciou) a doplní sa fosfátovým ustáleným roztokom podľa *Sørensen*a po značku. Trepaním sa metol ľahko prevedie do roztoku, pričom vzniknuté žlté až žltozelené zafarbenie (podľa množstva kyseliny nikotínovej), prípadne jeho intenzita sa fotometricky určí. Reakcia medzi metolom a adičnou slúčeninou kyseliny nikotínovej vyžaduje určitý čas (20 minút), ktorý treba dodržiavať pri každom stanovení.

Výpočet možno urobiť pomocou Lambert-Beerovho zákona. Pohodlnejšie je však vyhodnocovať pomocou kalibračnej krivky, získanej meraním chemicky čistej kyseliny nikotínovej uvedeným postupom.

V pripojenej tabuľke uvádzame výsledky rozborov, urobené v našom ústave, a to ako pri zelenine, tak aj pri výrobkoch mlynárskeho a mäsového priemyslu.

#### Zelenina

Surovina	Kyselina nikotínová v $\gamma/100 \text{ g}$
Zelená paprika	360—1350
Rajčiaková paprika	1080
Rajčiaky	945—1300
Rajčiakové suché jadrá	6370
Šalát	1460—1520
Biela kapusta	stopy—400
Tekvica	280—350

#### Mäsové výrobky

Surovina	Kyselina nikotínová v $\gamma/100 \text{ g}$
Pečienková pašéta	1700—3360
Pečienkový salám	3850
Slovenský salám	1660—1730
Salám bez označenia	1690—3380
Šunkový salám	3400—3740
Tlačienka	1954
Kabanos	3400—3870

### Mlynské výrobky

Druh suroviny	Kys. nikotínová v $\gamma/100$ g	Množ. popoľa v %
Pšeničné otruby	5440—5650	5,5—6,00
Krupica	2120	0,45
Zámel. Ogg.	2750	0,45
Najlepšia hladká Ohl. I.	3440	2,05
Pšeničná krmná	5400	3,9
Pšeničné otruby	5440—5650	5,5—6,00
Pšenica nad I. šrotom	4210—4800	
Pšeničné klíčky	4150	
Pšenica zo sila	4400	
Slovenská ryža	2710—3130 $\gamma/100$ g	
Odpad zo sušených húb	15750—16000 $\gamma/100$ g	

Analytické nálezy v mlynských výrobkoch, uvedené v tabuľke, nám dávajú podnet k predpokladu, že so stúpajúcim množstvom popoľa cereálie budú obsahovať priamoúmerne väčšie množstvo nikotínamidu. Táto okolnosť bude predmetom ďalších našich štúdií.

Ako ďalšie zaujímavé konštatovanie uvádzame, že sušené huby obsahujú prekvapujúco vysoké množstvo P-P faktora, čo zaiste súvisí s ich zvláštnym, chlorofyl postrádajúcim metabolizmom, prípadne charakterizuje ich saprofytickú látkovú výmenu.

### S ú h r n

1. Sústavné určovanie nikotínamidu sme robili podľa *B e n c z e h o* metódy, ktorú bolo treba modifikovať v tom smysle, že pracovný postup vyžaduje i odstraňovanie olovnatého iónu sirovodíkom z číreho filtrátu po vysrážaní bielkovín octanom olovnatým, pretože tento reaguje s fosfátovým regulátorom.

2. Pri systematickom stanovovaní nikotínamidu v cereáliách slovenského potravinárskeho priemyslu sme konštatovali, že existuje určitá závislosť medzi obsahom P-P faktora a popolom analyzovaných múk v tom smysle, že množstvo nikotínamidu je priamo úmerné množstvu popoľa v týchto produktoch.

3. Ďalej sme zistili, že obsah nikotínamidu v sušených hubách *Boletus edulis* a *Boletus reticulatus* slovenského pôvodu je neobvykle vysoký, a to 16000  $\gamma/100$  g.

П-П фактор и его определение в зерновых хлебах  
и словацких грибах

Ф. Валентян, П. Ганула

Исследовательский институт пищевой промышленности в Bratislave

### В ы в о д ы

1. Мы систематически определяли никотинамид по методу Д-ра Бенце, который надо было модифицировать, потому что работа требует тоже устранения.

иона  $Pb^{++}$  сероводородом из чистого фильтрата после осаждения белков уксуснокислым свинцом, так как последний реагирует с фосфатным буферным раствором.

2. При систематическом определении никотина в зерновых хлебах словацкой пищевой промышленности мы установили, что имеется определенная зависимость между содержанием П-П фактора и золой анализированной муки именно в том, что количество никотинамида пропорционально количеству золы в этих продуктах.

3. Мы определили, что содержание никотинамида в сушеных грибах *Boletus edulis* и *Boletus reticulatus* словацкого происхождения необыкновенно высоко, именно  $1600\gamma/100$  г

Получено в редакции 24-го апреля 1952 г.

## DER P-P FAKTOR UND SEINE BESTIMMUNG IN ZEREALIEN UND PILZEN SLOWAKISCHER PROVENIENZ

F. VALENTIN, P. HANULA

*Forschungsinstitut der Lebensmittelindustrie in Bratislava*

### Zusammenfassung

1. Die systematische Bestimmung von Nikotinamid wurde nach der Benzene-Methode durchgeführt, welche derart modifiziert werden musste, dass auch das Bleiion mittels Schwefelwasserstoff aus dem klaren Filtrat nach Ausfällung der Proteine durch Bleiazetat entfernt wird, da es mit dem Phosphatregulator reagiert.

2. Bei planmässiger Bestimmung von Nikotinamid in Zerealien der slowakischen Lebensmittelindustrie wurde konstatiert, dass ein bestimmtes Verhältnis zwischen P-P Faktorgehalt und der Asche der analysierten Mehle in dem Sinne besteht, dass die Menge von Nikotinamid direkt proportional der Aschenmenge in diesen Produkten ist.

3. Weiter wurde gefunden, dass der Gehalt an Nikotinamid in getrockneten Pilzen *Boletus edulis* und *Boletus reticulatus* slowakischer Provenienz ungewöhnlich hoch und zwar  $16000 \gamma/100$  g ist.

*In die Redaktion eingelangt den 24. IV. 1952*

### LITERATURA

1. Devjatnin V. A., *Vitaminy*, Moskva 1948, 227.
2. Kretovič V. L., *Problema piščevoj polnocnosti chleba*, Moskva-Leningrad 1948.
3. Beillstein, *Handbuch der organischen Chemie*, Band XXIII, 1942.
4. *Zeitschrift für Vitamin-Hormon und Fermentforschung* 3 (1949/50).
5. *Verhandlungen d. Schweizerischen Mikrobiolog. Ges.* (3 jahresversammlung in Zürich, 1944).
6. Lunde G., *Vitamine in frischen und konservierten Nahrungsmitteln*, Berlin 1940. 112-113.
7. Droese W., Bramsel H., *Vitamintabellen*, Heft 8 (Beihefte zur Zeitschrift „Die Ernährung“), Leipzig 1943, 21-23.
8. Justin-Besancon-Lwoff, *Vitamine antipellagreuse et avitaminose nicotinique*, Paris 1942.
9. Rosenberg H. R., *Chemistry and Physiology of the Vitamines*, New-York 1945.
10. *Annales de la nutrition et de l'alimentation*, Volume VI, No 2, Paris 1952. 185-188.



11. Von Gerichten, Ber. 32, 2571 (1899).
12. Zincke Th., Lieb. Ann. 1904, 361.
13. Karrer P., Keller H., Helv. Chim. Acta 21, 463, 1170 (1938).
14. Vilter S. P., Spies T., Matthews A., J. Am. Chem. Soc. 60, 731 (1938).
15. Harris L., Raymond W., Chem. Ind. 58, 652 (1939).
16. König W., J. Prakt. Chem. 69, 105, 70, 10 (1904).
17. Kulikow-Krestowosdivigenskaja T. N., Anal. Chem. 79, 452 (1930).
18. Swaminathan M., Nature 141, 830 (1938).
19. Shaw G. E., MacDonald C. A., Quart. J. Pharm. 11, 380 (1948).
20. Bandier E., Hald J., Biochem. J. 33, 264 (1939).