

28. F. DI STEFANO e D. RENZI. — **Sul riconoscimento della riboflavina nelle paste alimentari artificialmente colorate.**

Riassunto. — Viene proposto un procedimento semplice per ricercare la riboflavina nelle paste alimentari colorate artificialmente nel caso che l'analisi, eseguita con il metodo di NEBBIA dopo molto tempo dalla loro fabbricazione, abbia dato esito dubbio o addirittura negativo.

Esso consiste essenzialmente nell'estrarre a freddo la riboflavina con acqua distillata, nell'esporre il liquido di estrazione all'azione di radiazioni ultraviolette che facilitano in breve tempo la scissione della riboflavina in lumicromo e nel riconoscimento di quest'ultimo alla luce di Wood che dà una caratteristica fluorescenza azzurra.

Dalla identificazione del lumicromo se ne desume che la pasta in esame è stata colorata artificialmente con riboflavina.

Résumé. — On propose un procédé simple pour rechercher la présence de la riboflavine dans les pâtes alimentaires colorées artificiellement dans les cas où l'analyse, exécutée suivant la méthode de Nebbia longtemps après leur fabrication, ait donné un résultat douteux ou même nettement négatif.

Le procédé en question consiste essentiellement dans l'extraction à froid de la riboflavine avec de l'eau distillée, l'exposition du liquide d'extraction à l'action de rayons ultra-violet qui facilite dans un temps bref la scission de la riboflavine en lumichrome, et l'identification de celui-ci à la lumière de Wood qui produit une caractéristique fluorescence bleue.

De l'identification du lumichrome on déduit que les pâtes examinées avaient été colorées artificiellement avec de la riboflavine.

Summary. A simple process is proposed for the detection of riboflavine in alimentary pastes coloured artificially in the case that the analysis carried out by Nebbia's method a long time after their manufacture has given a doubtful or quite a negative result.

This process includes essentially the operations of extracting under cold conditions riboflavine with distilled water, subjecting the extraction liquid to ultraviolet radiations which in a short time facilitate the splitting of riboflavine into lumichrome, and recognizing the latter in the light of Wood, which produces a characteristic blue fluorescence.

From the identification of lumichrome the conclusion is drawn that the paste examined has been coloured artificially with riboflavine.

Zusammenfassung. — Vorgeschlagen wird ein einfaches Verfahren zur Feststellung des Vorhandenseins von Riboflavin in künstlich gefärbten Teigwaren im Falle, dass die nach dem Verfahren von Nebbia lange Zeit nach der Herstellung der Teigwaren durchgeführte Analyse eine zweifelhaftes oder sogar ein negatives Ergebnis hat.

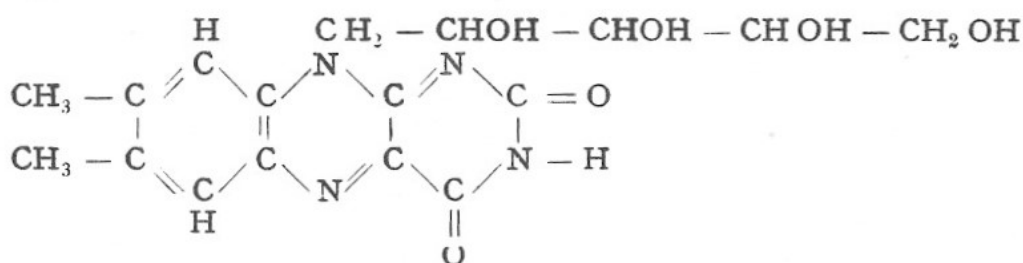
Im Wesentlichen besteht das neue Verfahren in der Kaltextraktion des Riboflavin mit destilliertem Wasser, Aussetzung der Extraktions-flüssigkeit der Einwirkung ultravioletter Strahlen, die innerhalb kurzer Zeit die Spaltung des Riboflavin in Lumichrom und Erkennung desselben im Wood-Licht, das eine charakteristische blaue Fluoreszenz ergibt, erleichtern.

Aus der Identifizierung des Lumichrom wird abgeleitet, dass die zu prüfenden Teigwaren mit Riboflavin künstlich gefärbt wurden.

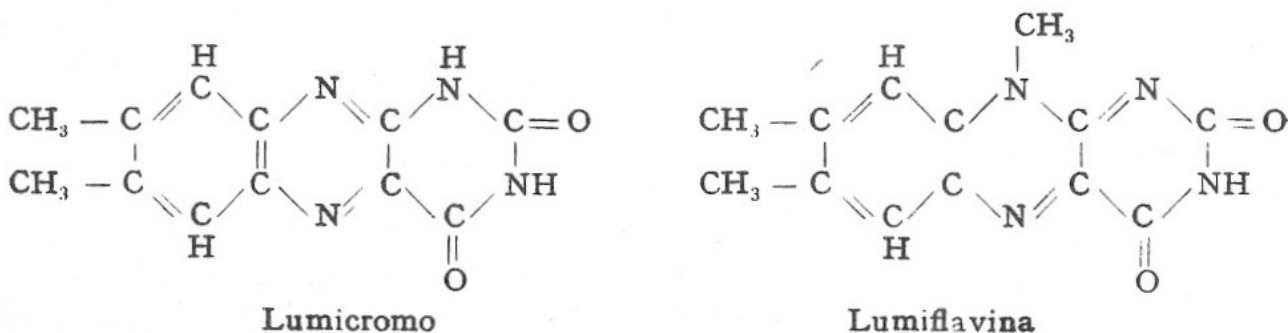
Il riconoscimento della riboflavina (Vitamina B₂) aggiunta alle paste alimentari allo scopo di colorarle artificialmente, viene normalmente fatto applicando il metodo di G. NEBBIA ⁽¹⁾ che è abbastanza semplice e corrisponde bene allo scopo. Il procedimento è il seguente: g 5 di pasta macinata si addizionano con cm³ 15 di acqua e si pongono a b. m. bollente per 15 minuti entro un tubo da centrifuga. Si centrifuga ad almeno 4.000 giri al minuto e si decanta la parte soprastante. Tale estratto si addiziona con una goccia di fenoltaleina e si neutralizza aggiungendo NaOH 0,1 N goccia a goccia.

Se la pasta esaminata è stata colorata con riboflavina la soluzione incolore esaminata alla luce di Wood mostra una caratteristica fluorescenza giallo-verde dovuta al colorante. Senonchè abbiamo potuto osservare che nel caso di paste alimentari analizzate dopo lungo tempo dalla loro fabbricazione, non si riscontra più la caratteristica fluorescenza giallo-verde alla luce di Wood ma bensì si osserva una colorazione debolmente gialla tendente al grigio che, confrontata con quella di una soluzione di riboflavina al 0,01‰, è differentissima, oppure si osserva una fluorescenza tendente all'azzurro o addirittura azzurra. Cosicchè l'analista, in queste condizioni, o si troverà perplesso a dare il giudizio o addirittura lo darà negativo nei riguardi della riboflavina. Ciò si può avverare sia nelle analisi di revisione che vengono generalmente fatte a molta distanza di tempo come pure in perizie giudiziarie o di altra natura ordinate dopo molto tempo dalla fabbricazione della pasta in esame. Ciò è dovuto

al fatto, noto in letteratura ⁽²⁾, che la riboflavina che ha la seguente formula di struttura:



per azione della luce si scinde, secondo le condizioni della irradiazione, perdendo in tutto o in parte la catena carboidrata trasformandosi in lumicromo o in lumiflavina le cui formule di struttura sono le seguenti ⁽³⁾:



Infine è noto in letteratura ⁽⁴⁾ che una irradiazione di soluzioni acide o neutre, meglio acide, di riboflavina dà luogo alla produzione di lumicromo che è caratterizzato da una fluorescenza azzurra. Sicchè se la ricerca della riboflavina nelle paste alimentari, dopo lungo tempo dalla loro fabbricazione, non è positiva con il metodo di NEBBIA, è necessario fare la ricerca del lumicromo, nel modo che qui appresso indicheremo. Se tale ricerca risulta positiva si può senz'altro affermare che la pasta in esame è stata colorata artificialmente con riboflavina. Questo è il punto fondamentale del nostro lavoro.

Per meglio avvalorare quanto sopra detto, abbiamo confezionato dei campioni di pasta con sfarinati di grano tenero e di grano duro, ed a ciascun campione è stato aggiunto mg 10 di riboflavina per ogni chilogrammo di sfarinato. Essi sono stati posti alcuni in barattoli di vetro a tappo smerigliato ed altri sono stati avvolti in carta azzurra e tutti lasciati all'influenza della luce del laboratorio.

Trascorso un mese dalla preparazione della pasta, i campioni sono stati analizzati applicando il metodo di NEBBIA che ha dato, in tutti i campioni, risultati positivi per la riboflavina; abbiamo ripetuto la ricerca del colorante dopo trascorsi due mesi, poi dopo tre mesi fino ad osservare, trascorsi più di sei mesi, che la identificazione della riboflavina era dubbia o addirittura negativa in quanto non si osservava più alla luce di Wood la netta e caratteristica fluorescenza giallo-verde, ma bensì si è osservata,

come abbiamo accennato in precedenza, una colorazione debolmente gialla tendente al grigio, oppure una fluorescenza tendente all'azzurro o addirittura azzurra man mano che aumentava il tempo dell'influenza della luce diffusa.

Per meglio mettere in evidenza il lumicromo, abbiamo sottoposto le soluzioni acquose di estrazione della pasta, all'azione di radiazioni ultraviolette che facilitano, in breve tempo, la scissione della riboflavina, adoperando una lampada germicida a vapori di mercurio a bassa temperatura da 15 Watt tipo tubolare (Westinghouse). L'acquisto di detta lampada è alla portata di qualsiasi Laboratorio per il suo costo modicissimo.

Descriviamo il procedimento da noi proposto per la identificazione del lumicromo e quindi della riboflavina, da eseguirsi solamente nel caso che la ricerca della riboflavina fatta dopo molto tempo dalla fabbricazione della pasta con il metodo di NEBBIA, abbia dato risultato incerto o addirittura negativo:

Due porzioni di g 5 del campione di pasta in esame, macinati granularmente, vengono posti in tubi di centrifuga con cm^3 10 di acqua distillata e centrifugati a freddo per 10 minuti alla velocità di 4000 giri al minuto. Si decantano i due liquidi limpidi, si riuniscono e la soluzione ottenuta si versa in una capsula di porcellana a fondo concavo, del diametro di cm^3 3 circa, sino a riempimento di essa e la soluzione si sottopone alla irradiazione di raggi ultravioletti usando la lampada battericida, sopra menzionata, per la durata di 45 minuti. Nel caso di eccessiva evaporazione del liquido lo si riporta al livello precedente con acqua distillata. Indi la capsula contenente il liquido acido si sottopone alla luce di Wood in ambiente oscuro e all'incirca dopo 6 minuti si può nettamente osservare la caratteristica fluorescenza azzurra del lumicromo.

Per rendere acido il liquido di estrazione, condizione migliore per la scissione della riboflavina in lumicromo, abbiamo potuto constatare che è sufficiente l'acidità contenuta nella pasta.

In definitiva la presenza del lumicromo nel liquido di estrazione serve chiaramente a dimostrare che la pasta in esame è stata, a suo tempo, colorata artificialmente con riboflavina.

Roma - Istituto Superiore di Sanità — Laboratorio di chimica.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) NEBBIA G. - Boll. Lab. Chim. Prov., 4, 11, 1951.
- (²) BARGELLINI G. - Lezioni di Chimica Organica, Editrice Stadium, Roma.
- (³) ASS. Vitamin Chemists, Methods of Vitamin Assay, Interscience Publishers, Inc. New York, 1947.
- (⁴) The Merch Index - Sixth Edition, 1001, 1952.