

Derivačno-spektrofotometrické stanovenie kyseliny sorbovej v niektorých potravinárskych výrobkoch

MILAN SUHAJ—ELENA BUBELÍNIOVÁ

Súhrn. Uvádza sa jednoduchá a rýchla metóda derivačno-spektrofotometrického stanovenia aditívnej konzervačnej látky v niektorých potravinárskych výrobkoch. Kyselina sorbová bola stanovená 2. deriváciou UV spektra pri λ_{\max} 258 nm vo vzorkách nealkoholických nápojov, nálevov, džemu a sirupov. Metóda sa dá porovnať so separačnými metódami, kapilárnou izotachoforézou a destilačnou metódou. Medza dôkazu pre referenčný roztok kyseliny sorbovej je $0,25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, medza stanoviteľnosti v nápoji Olympus (pomarančový nápoj) sa zistila pri $5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Metódu možno hodnotiť ako rýchlu metódu vhodnú na stanovenie kyseliny sorbovej najmä v nápojoch.

Kyselina sorbová (2,4-*trans,trans*-hexadiénová) sa pre svoje antimikrobiálne účinky, najmä proti plesniam a kvasinkám, a pre svoj prírodný charakter v širokej miere využíva ako konzervačná aditívna látka. Jej prekursorom je kyselina parasorbová, ktorá sa vyskytuje najmä v jarabinách a v sladinovom extrakte, kde sa varom rozkladá na kyselinu sorbovú. Jej sodné a draselné soli sú proti samej kyseline dobre rozpustné a pridávajú sa najmä do sirupov, nealkoholických nápojov, džúsov, niektorých vín, nálevov a syrov. V koncentrácii 0,1—0,2 % sa používa na ochranu rôznych druhov baleného chleba v rôznych krajinách. Antimikrobiálne je efektívna v kyslejšom prostredí, pričom je účinnejšia jej nedisociovaná forma, pretože ľahšie preniká do bunky cez bunečnú stenu, kde blokuje rôzne enzymatické procesy. Jej hodnota pK_a je 4,76 a disociačná konštanta $1,73 \cdot 10^{-5}$. Človek ju metabolizuje tak ako iné masné kyseliny [1, 6].

Z opísaných metód stanovenia kyseliny sorbovej našla väčšie uplatnenie fotometrická metóda založená na izolácii kyseliny destiláciou vodnou parou a nasledujúcej oxidácii na malóndialdehyd a jeho stanovenie po reakcii s kyselinou tiobarbiturovou za vzniku červeného sfarbenia [2, 3]. Vzhľadom na nenasý-

Ing. Milan Suhaj, PhMr. Elena Bubelíniová, Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

tený charakter sa na jej stanovenie využívajú aj bromometrické metódy, pričom sa využíva adícia brómu na nenasýtené väzby kyseliny sorbovej a jodometrické stanovenie nespotrebovaného bromičnanu [3]. Na stanovenie kyseliny sorbovej sa využívajú aj chromatografické metódy, najmä plynová chromatografia, ktorou sa prípadné interferujúce látky oddelia [3]. Priame spektrofotometrické metódy v ultrafialovej časti spektra nenašli v potravinárskej analýze väčšie uplatnenie pre rušivé vplyvy iných zložiek potravín [2].

V predloženom príspevku uvádzame výsledky stanovenia kyseliny sorbovej v niektorých potravinárskych výrobkoch aplikáciou metódy derivačnej spektrofotometrie, ktorou sa pomerne účinne rieši uvedený problém rušivého pôsobenia pri stanovení v UV oblasti spektra.

Princíp metódy

Diferenciáciou absorpcie podľa vlnovej dĺžky $dA/d\lambda$ sa dosiahne derivácia absorpčného spektra, ktorá vedie k plnšiemu analytickému využitiu proti priamej spektrofotometrickej metóde. V derivovaných spektrách sú zvýraznené a lepšie rozlíšené spektrálne pásy jednotlivých zložiek a súčasne účinne eliminované pozadie i negatívny vplyv rozptylu a zákalu vo vzorkách. Týmto sa vytvárajú predpoklady pre identifikáciu a kvantitatívne stanovenie niektorých zložiek potravín, najmä takých zlúčenín, ktoré majú v spektre vzorky izolovaný absorpčný pás.

Materiál a metódy

Kyselinu sorbovú sme stanovovali vo vzorkách nealkoholických nápojov Top-topic, Perla (pomarančová a citrónová, Slovlik Trenčín, závod Malacky, ON 56 7889), Dia sirup (citrónový, malinový, Stredoslov. konz. a liehovary, n. p., závod Lipt. Mikuláš, ON 56 8420), kečup (Slovlik, Trenčín, ON 56 9339), uhorkový nálev (Stredoslov. konz. a liehovary, n. p., Lipt. Mikuláš, ON 56 9211) z bratislavskej obchodnej siete.

Vzorky nápojov sme pred meraním riedili 50-krát, sirupov 200-krát tak, aby priamo merateľná koncentrácia kyseliny sorbovej vo vzorkách v kyvete s hrúbkou 1 cm nepresiahla $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Podmienky merania absorpčných spektier a ich 2. derivácií na prístroji Specord M 40 (Carl Zeiss, Jena, NDR) pomocou programovej kazety Data Handling I boli takéto:

rozsah vlnových dĺžok	200—300 nm
spektrálna šírka štrbiny	0 cm ⁻¹
integračný čas	2 s
zosilnenie	1
rýchlosť zápisu	2 mm . s ⁻¹
Zero-Adj	0
Exp Y	2
Exp X	1

Namerané absorpčné spektrá sme znázornili a derivovali do 2. stupňa po odčítaní spektra slepého stanovenia. Derivované spektrá sme násobili faktorom 80, pretože získaný signál derivovaného spektra bol veľmi slabý. Hodnoty 2. derivácií referenčného roztoku kyseliny sorbovej sme odčítali pri λ_{\max} 259 nm. Analytickú čiaru kyseliny sorbovej pre koncentračný rozsah 0—10 mg.l⁻¹ určuje lineárna regresia. Jej matematické vyjadrenie bolo

$$y = 8,0507x - 0,0342 \quad [\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}],$$

pričom y je koncentrácia kyseliny sorbovej a x absolútna hodnota 2. derivácie pri λ_{\max} násobená faktorom 80. Pre uvedenú závislosť sa zistil veľmi úzky lineárny vzťah, $r_{xy} = 0,999$.

Získané výsledky stanovenia kyseliny sorbovej metódou derivačnej spektrofotometrie sme porovnali s izotachoforetickou metódou stanovenia pri podmienkach: izotachoforetický analyzátor ZKI 001 (výrobca ÚRVJT, Spišská Nová Ves), vodiaci elektrolyt 1.10⁻² mol.l⁻¹ HCl, 18,3 mol.l⁻¹ kyselina 6-aminokaprónová + 0,1 % MHEC, zakončujúci elektrolyt 1.10⁻² mol.l⁻¹ kyselina kaprónová + HIS, hnací prúd v predseparačnej kapiláre 250 µA, hnací prúd v analytickej kapiláre 50 µA. Vzorky nápojov a sirupov pri tejto metóde stanovenia sme riedili v pomere 1 : 10 až 1 : 50..

Kyselinu sorbovú sme stanovili aj podľa oficiálnej metódy pre cudzorodé látky v potravinách [3]. Kyselina sorbová sa zo vzoriek oddestilovala vodnou parou, zoxidovala dichrómom draselným na dialdehyd kyseliny malónovej, ktorý sa nechal zreagovať s kyselinou tiobarbiturovou za vzniku červeného komplexu. Tento sa meral spektrofotometricky pri 532 nm na uvedenom spektrofotometri pri spektrálnej šírke štrbiny 0 cm⁻¹, integračnom čase 1 s a zosilnení 1.

Výsledky a diskusia

Tabuľka 1 uvádza výsledky stanovenia kyseliny sorbovej metódou derivačnej spektrofotometrie v niektorých potravinárskych výrobkoch, v ktorých sa využíva jej konzervačné vlastnosti tejto látky (Top-topic, Perla, Dia-sirupy). Ďalšie

Tabuľka 1. Stanovenie kyseliny sorbovej v niektorých potravinárskych výrobkoch derivačnou spektrofotometriou ($n = 3$)

Table 1. Determination of sorbic acid in some food products using the derivation spectrophotometry ($n = 3$)

Výrobok ¹	Prídavok kyseliny sorbovej ² [mg.l ⁻¹]	Kyselina sorbová ³ [mg.l ⁻¹] (s_R)	Výťažnosť ⁴ [%]
Olympus* ⁵	200	195,1 (1,42)	97,6
Top-topic 1 ⁶		128,5 (0,82)	
Top-topic 2		147,7 (0,05)	
Top-topic 2	200	356,1 (0,02)	104,2
Džem — ovocná zmes* ⁷	400	414,3 (1,24)	103,6
Uhorkový nálev* ⁸	800	770,3 (5,43)	96,3
Perla citrónová ⁹		219,0 (0,14)	
Perla citrónová ⁹	152	362,4 (3,43)	94,3
Dia sirup malinový ¹⁰		656,1 (0,59)	
Dia sirup malinový ¹⁰	120	778,5 (1,54)	102,1
Dia sirup citrónový ¹¹		782,4 (0,47)	
Dia-citron nápoj ¹²		96,8 (0,29)	
Dia-citron nápoj ¹²	100	199,2 (0,45)	102,6

s_R — smerodajná odchýlka určená z rozpätia; Standard deviation determined from the range.

* Vzorka pôvodne neobsahovala kyselinu sorbovú; Sorbic acid was not contained in the sample originally.

¹ Produkt; ² Addition of sorbic acid; ³ Sorbic acid; ⁴ Yield; ⁵ Olympus (orange soft-drink); ⁶ Top-topic (grape soft-drink); ⁷ Jam — fruit mixture; ⁸ Pickle for cucumbers; ⁹ Perla (lemon soft-drink);

¹⁰ Dia raspberry syrup; ¹¹ Dia lemon syrup; ¹² Dia-lemon soft-drink.

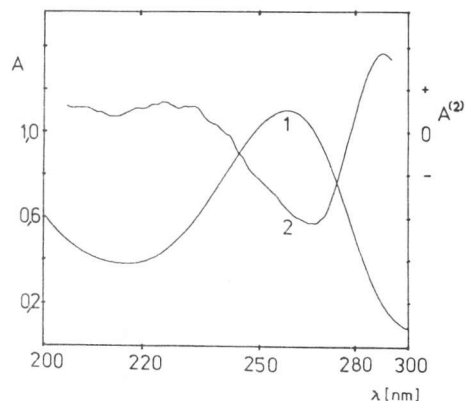
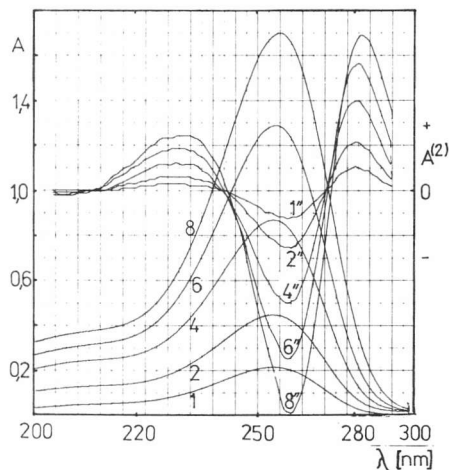
výrobky sme použili na zistenie výťažnosti stanovenia metódou štandardného prídavku na úrovni najvyššie prípustných množstiev (nealkoholické nápoje 200 mg.l⁻¹, džem 400 mg.kg⁻¹, zeleninový nálev 800 mg.l⁻¹, kečup 500 mg.kg⁻¹) [4]. Absorpčné spektrá štandardných roztokov kyseliny sorbovej a vzoriek nealkoholického nápoja Perla a sirupu Dia-citron a ich 2. derivácie uvádzajú obr. 1—3. Tabuľka 2 porovnáva výsledky derivačno-spektrofotometrického stanovenia kyseliny sorbovej vo vybraných výrobkoch s výsledkami získanými metódou kapilárnej izotachoforézy a destilačno-fotometrickou metódou.

Pri stanovení kyseliny sorbovej v niektorých výrobkoch potravinárskeho priemyslu metódou derivačnej spektrofotometrie (tab. 1) sa dosiahol dobrý súhlas medzi nájdeným a pridaným obsahom. Výťažnosť metódy, či už vo výrobkoch, ktoré kyselinu sorbovú pôvodne neobsahovali alebo vo výrobkoch po štandardnom prídavku tejto aditívnej látky, pohybovala sa od 94 do 104 %. Metódu nemožno využiť pre požívatiný s maticou typu kečup alebo víno,

v ktorých stanovenie rušia napr. farbivá flavonoidného charakteru (flavonoidné fenoly, antokyaníny a pod.), ktoré silnejšie absorbujú UV žiarenie od 260 nm [5]. Medza dôkazu uvedenou metódou je pre referenčný roztok kyseliny sorbovej 0,25 mg.l⁻¹, medza stanoviteľnosti v nápoji Olympus bola 5 mg.l⁻¹.

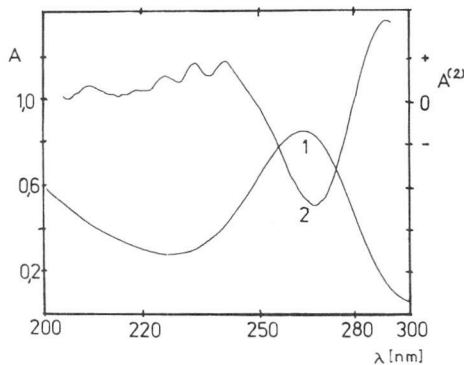
Obr. 1. UV absorpčné spektrá a ich 2. derivácie štandardného roztoku kyseliny sorbovej koncentrácií 1, 2, 4, 6 a 8 mg.l⁻¹.

Fig. 1. UV absorption spectra and their 2nd derivations of sorbic acid standard solutions having the concentrations of 1, 2, 4, 6 and 8 mg.l⁻¹.



Obr. 2. Stanovenie kyseliny sorbovej v nápoji Perla derivačnou spektrofotometriou. 1 — absorpčné UV spektrum nápoja Perla, riedenie 1 : 50, 2 — derivácia absorpčného spektra.

Fig. 2. The determination of sorbic acid in Perla soft-drink using the derivation spectrophotometry. 1 — UV absorption spectrum of Perla soft-drink, dilution 1 : 50, 2 — 2nd derivation of absorption spectrum.



Obr. 3. Stanovenie kyseliny sorbovej v sirupe Dia-citron derivačnou spektrofotometriou. 1 — absorpčné UV spektrum sirupu Dia-citron, riedenie 1 : 200, 2 — 2. derivácia absorpčného spektra.

Fig. 3. Determination of sorbic acid in Dia-citron (Dia-lemon) syrup using the derivation spectrophotometry. 1 — UV absorption spectrum of Dia-citron syrup, dilution 1 : 200, 2 — 2nd derivation of absorption spectrum.

Tabuľka 2 porovnáva derivačno-spektrofotometrické stanovenie kyseliny sorbovej s metódou kapilárnej izotachoforézy a s destilačnou metódou separácie a kolorimetrickom stanovení tejto aditívnej látky. Výsledky stanovenia sa zhodujú v porovnaní s metódou kapilárnej izotachoforézy, ktorá je ideálnou metódou na stanovenie organických kyselín vo vzorkách. V prípade napr. citrónového nápoja Perla a citrónového Dia-sirupu sú rozdiely výsledkov oboch metód pri $\alpha 0,01$ štatisticky nevýznamné. Výsledky sa dajú porovnať aj s destilačnou metódou.

Tabuľka 2. Stanovenie kyseliny sorbovej; porovnanie derivačnej spektrofotometrie s kapilárnou izotachoforézou a destilačnou metódou ($n = 3$)

Table 2. Determination of sorbic acid; derivation spectrophotometry is compared with capillary isotachopheresis and distillation method, as well ($n = 3$)

Výrobok ¹	Derivačná spektrofotometria ²	Kapilárna izotachoforéza ³	Destilačná metóda ⁴
	Kyselina sorbová ⁵ [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] (s_R)		
Perla pomarančová ⁶ 1	163,8 (0,19)	158,2 (1,65)	
Perla pomarančová ⁶ 2	100,7 (0)	108,3 (1,18)	
Perla pomarančová ⁶ 3	100,7 (0,25)	109,1 (0,29)	127,5 (10,7)
Perla citrónová ⁷ 1	128,3 (0,18)	134,7 (3,07)	141,5 (1,1)
Perla citrónová ⁷ 2	219,0 (0,14)	227,3 (3,13)	
Dia sirup citrónový ⁸	782,4 (0,47)	780,7 (6,14)	748,5 (10,4)
Dia sirup malinový ⁹	656,1 (0,59)	671,0 (3,78)	634,6 (14,7)
Dia-citron nápoj ¹⁰	96,8 (0,29)	90,0 (0)	

¹ Product; ² Derivation spectrophotometry; ³ Capillary isotachopheresis; ⁴ Distillation method;

⁵ Sorbic acid; ⁶ Perla orange (soft-drink); ⁷ Perla lemon (soft-drink); ⁸ Perla orange (soft-drink);

⁹ Dia raspberry syrup; ¹⁰ Dia-lemon soft-drink.

Metóda derivačnej spektrofotometrie stanovenia kyseliny sorbovej je veľmi jednoduchá a časovo nenáročná. V sledovaných vzorkách sa nevyžaduje špeciálna úprava alebo separácia kyseliny sorbovej, ale robia sa iba príslušné riedenia alebo filtrácia vzoriek, ak je potrebná. Výsledky opakovaných stanovení sú presnejšie ako pri iných metódach. K presnosti môže výrazne prispieť aj možnosť realizovať merania spektier ich akumuláciou a štatistickým spracovaním pomocou tej istej programovej kazety, ktorá umožňuje aj derivovanie spektier. Využitie tejto metódy na stanovenie kyseliny sorbovej a perspektívne aj iných aditívnych alebo prírodných zložiek požívatín je veľmi reálne pre čoraz väčšiu dostupnosť spektrofotometrov typu Specord M 40 (Carl Zeiss, Jena, NDR) a ich programového vybavenia.

Literatúra

1. DAVÍDEK, J.—JANÍČEK, G.—POKORNÝ, J.: Chemie potravin. Praha, SNTL — Bratislava, Alfa 1983. 629 s.
2. DAVÍDEK, J. a kol., Laboratorní příručka analýzy potravin. 2. vyd. Praha, SNTL — Bratislava, Alfa 1981, 718 s.
3. PRÍBELA, A. a kol.: Analýza cudzorodých látok v poživatinách. Bratislava, Alfa 1974. 299 s.
4. Záväzné opatrenia č. 35. Hygienické požiadavky na cudzorodé látky v poživatinách. Vestník MZd SSR 1977, č. 19—20.
5. SOMERS, T.—ZIEMELIS, G., J. Sci. Food Agric., 36, 1985, s. 1275.
6. VOGNAROVÁ, I.—SVOBODA, L.: Použití kyseliny sorbové k ochraně chleba proti plísním. In: Aditivne látky v poživatinách. Zborník referátov zo IV. celoštátnej konferencie, Banská Bystrica 1988, s. 81.

Do redakcie došlo 6. 3. 1990

Деривационно-спектрофотометрическое определение сорбиновой кислоты в некоторых пищевых продуктах

Резюме

Приводится простой и быстрый метод деривационно спектрофотометрического определения аддитивного консерванта в некоторых пищевых продуктах. Сорбиновая кислота была определена 2-ой деривацией UV спектра при $\lambda_{\text{макс.}}$ 258 нм в пробах безалкогольных напитков, рассолах, джемах и сиропах. Метод хорошо сравнимый со сепарационными методами капиллярной изотакхофорезой и дистилляционными методами.

Пределом доказательства для эталонного раствора сорбиновой кислоты является $0,25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, предел определения в напитке «Олимпус» (апельсиновый напиток) был установлен в $5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$.

Метод можно оценить как быстрый, подходящий для определения сорбиновой кислоты, главным образом, в напитках.

Derivative-spectrophotometric determination of sorbic acid in some food products

Summary

The simple fast method of derivative-spectrophotometric determination of preservative additive agents in some food products is described in this paper. Sorbic acid was determined using the second derivate of UV spectrum at λ_{max} 258 nm in the samples of soft-drinks, pickles, marmelades and syrups. This method can be well compared with such separation methods like isotachopheresis and distillation, as well. The limit of proof for reference solution of sorbic acid was 0.25 mg l^{-1} , the limit of determinability in Olympus — orange soft drink — was determined at 5 mg l^{-1} . This fast method is very suitable for the determination of sorbic acid, especially in soft drinks.