

Stanovenie stupňa substitúcie karboxymetylcelulózy

TERÉZIA VACOVÁ — BERNADETTA KRKOŠKOVÁ

Súhrn. V rámci výberu metódy na prevádzkovú kontrolu stupňa substitúcie potravinárskej karboxymetylcelulózy sa porovnávala gravimetrická a titračná metóda. Stanovila sa štandardná odchýlka pri gravimetrickej metóde $s_x = 0,03$ a pri titračnej metóde $s_x = 0,04$. Výsledky obidvoch metód sú dostatočne reprodukovateľné, ale výsledky gravimetrickej metódy sú systematicky vyššie, pravdepodobne v dôsledku zaťaženia chybou pri spopolnení vzoriek. Na kontrolu stupňa substitúcie potravinárskej karboxymetylcelulózy možno odporúčať jednoduchšiu a rýchlejšiu titračnú metódu.

Karboxymetylcelulóza (KMC — sodná soľ karboxymetyléru celulózy) je všeobecný názov éteru celulózy získaného reakciou alkalickéj celulózy s monochlóroctanom sodným pri definovaných podmienkach. Využíva sa v rozličných výrobách ako textúrotvorné činidlo a jej vlastnosti môžu variovať v širokom rozsahu, v závislosti od zloženia makromolekúl. Keďže sa u nás pripravuje výroba potravinárskej KMC na báze technickej suroviny s neštandardnými vlastnosťami, bude potrebné diferencovať surovinu i konečné produkty tak, aby bolo možné vyrábať viaceré typy KMC so známymi vlastnosťami a špecifickým určením.

Jedným z významných faktorov ovplyvňujúcich typ a vlastnosti KMC je stupeň substitúcie, ktorý vyjadruje počet skupín glykolátu sodného $-\text{CH}_2\text{COO Na}$ naviazaných na jednu anhydroglukózovú jednotku v molekule celulózy. (Pri výpočte sa vychádza z priemerného množstva karboxymetylých skupín pripadajúcich na desať anhydroglukózových jednotiek.) Každá anhydroglukózová jednotka obsahuje tri hydroxylové skupiny, ktoré možno éterifikovať, ale optimálna rozpustnosť a ďalšie významné fyzikálne vlastnosti KMC sa dosahujú so stupňom substitúcie (SS) oveľa menším ako 3. Najrozšírenejšie sú typy

Ing. Terézia Vacová, CSc., Ing. Bernadetta Krkošková, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

KMC so SS 0,7 (priemerne 7 karboxymetylových skupín pripadá na 10 anhydroglukózových jednotiek). Výrobky s vyšším SS sú lepšie kompatibilné s inými rozpustnými zložkami.

Priemerná dĺžka reťazca a SS určujú molekulovú hmotnosť polyméru. S rastúcou molekulovou hmotnosťou rýchle rastie viskozita celulózovej gummy. Ako ďalšie významné charakteristiky KMC sa preto uvádzajú viskozita, stupeň polymerizácie, molekulová hmotnosť a veľkosť častíc. Komerčné výrobky sa označujú symbolmi vyjadrujúcimi ich základné vlastnosti, pričom sa pripúšťa tolerancia deklarovanej hodnoty SS v určitom rozsahu (príklad je v tab. 1).

Tabuľka 1. Stupeň substitúcie výrobkov Hercules Cellulose Gum [1]
Table 1. Substitution degree of Hercules Cellulose Gum products [1]

Deklarovaný SS ¹	Skutočný rozsah SS vo výrobkoch ²	c(Na) [mol.kg ⁻¹]
0,4	0,38—0,48	1,96—2,39
0,7	0,65—0,85	3,04—3,70
0,9	0,80—0,95	3,57—4,05
1,2	1,20—1,40	4,65—5,09

¹Declared substitution degree; ²Actual substitution degree in the products.

Možnosti stanovenia stupňa substitúcie. Podľa odporúčania FAO sa SS stanoví gravimetrickou metódou. Po viacnásobnej extrakcii vzorky metanolom (prípadne etanolom) a acetónom sa vzorka vysuší a zmineralizuje suchou cestou v prítomnosti kyseliny sírovej a uhličitanu amónneho. Vypočíta sa obsah sodíka vo vzorke na základe hmotnosti zvyškového síranu sodného, z čoho sa vyhodnotí stupeň substitúcie [2].

Pre charakteristiku technickej KMC Lovosa, ktorú vyrábajú Severočeské chemické závody, n. p., Lovosice, platí podniková norma PND 27 00373. Princípom stanovenia SS podľa tejto normy je vyzrážanie olovinatej soli KMC z roztoku a spätná komplexometrická titrácia prebytočného Pb²⁺. Skutočná spotreba olova na reakciu s KMC zodpovedá množstvu glykolátu sodného viazaného na makromolekulu celulózy, na základe čoho sa vyhodnotí stupeň substitúcie vzorky [3].

Ďalšou možnosťou zistenia stupňa substitúcie je stanovenie počtu voľných hydroxylových skupín na čiastočne substituovanej molekule. Na vzorku sa nechá pôsobiť acetylačná zmes, kde je účinnou zložkou acetanhydrid a po esterifikácii hydroxylových skupín sa prebytočný acetanhydrid stanoví titračne vo forme kyseliny octovej [4]. Uplatnenie metódy si vyžaduje, aby bola známa molekulová hmotnosť vzorky.

Na stanovenie jednotlivých funkčných skupín v rozličných éteroch celulózy sa vypracovala metóda na princípe Zeiselovho štiepenia. Substituenty sa od-

štiepia zázehvom pri 140 °C s kyselinou jodovodíkovou, alkyljodidy sa adsorbujú do hexylbromidu a stanovia sa plynovou chromatografiou. Pri tejto metóde je potrebná zložitá sklená aparátúra [5].

Pre hydroxyetylované deriváty škrobu sa vypracovala metóda stanovenia SS, ktorej princípom je hydrolýza makromolekúl na monoméry, rozdelenie plynovou chromatografiou a identifikácia substituovaných monomérov hmotnostnou spektrometriou. Metóda sa nedá všeobecne využiť pre všetky deriváty [6].

Kompletnú informáciu o polysacharide, vrátane SS, možno získať na základe infračerveného spektra. Spektrum má tým lepšiu vypovedaciu schopnosť, čím je látka čistejšia, preto kľúčovým problémom analýzy je extrakcia rušivých prímiesí zo vzorky [7].

Materiál a metódy

V rámci overovania analytických metód, ktoré majú byť navrhnuté na prevádzkovú kontrolu tuzemsky vyrábaných typov KMC (prípadne KMS — karboxymetylškrob), porovnávali sme metódy na stanovenie stupňa substitúcie, ktoré nevyžadujú zložitú prístrojovú vybavenie. Overili sme:

- a) gravimetrickú metódu, ktorú odporúča FAO [2],
- b) titračnú metódu, platnú u nás na stanovenie SS v technickej KMC [3],
- c) metódu stanovenia počtu voľných hydroxylových skupín [4].

Posledná metóda je jednoduchá a rýchla, ukázala sa však pre dané účely nevyhovujúca, keďže zložitý polysacharidový materiál nie je schopný reakcie pri podmienkach metódy. K reakcii s acetylačným činidlom nedochádza ani pri jeho dlhšom pôsobení, preto neuvádzame podrobnosti o tejto metóde.

Gravimetrická metóda

Príprava vzorky. Do 500 ml kónickej banky sa naváži asi 5 g vzorky s presnosťou na 0,1 mg. Pridá sa 350 ml metanolu alebo etanolu (80 obj. %) a vzorka sa trepe 30 min. Roztok sa potom dekantuje cez odvážený sklený filter s fritou G 3. Extrakcia sa opakuje, kým extrakčná kvapalina nevykazuje negatívny test na ióny Cl⁻ pomocou roztoku AgNO₃. Napokon sa vzorka extrahuje acetónom. Filter so vzorkou sa vysuší pri 110 °C a po ochladení v exsikatore sa odváži.

Pracovný postup. Navážia sa asi 2 g suchej substancie získanej uvedeným postupom s presnosťou na 0,1 mg do odváženého porcelánového kelímka. Vzorka sa opatrne spaľuje nad malým plameňom, potom 10 min nad veľkým plameňom. Vzorka sa schladí, zvlhčí sa 3—5 ml koncentrovanej kyseliny sírovej a opäť sa zahrieva a ochladí. Nad celým obsahom vzorky sa opatrne distribuuje asi 1 g $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ a ďalej sa spaľuje. Opracovanie kyselinou sírovou a uhličitanom amónnym sa opakuje dovtedy, kým ešte zvyškový síran sodný obsahuje uhlík. Napokon sa kelímok ochladí v exsikátore a odváži. Namiesto prídavku uhličitanu amónneho a ďalšieho zahrievania na plameni možno spaľovať vzorku v peci 1 h pri 600 °C.

Obsah sodíka vo vzorke KMC

$$c(\text{Na}) = \frac{m \cdot 1000}{n \cdot 71,02} \quad [\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}],$$

kde m je hmotnosť zvyškového síranu sodného v g, n — hmotnosť naváženej sušiny extrahovanej alkoholom v g, 71,02 — relatívna molekulová hmotnosť Na_2SO_4 .

Stupeň substitúcie KMC

$$\text{SS} = \frac{372,44 \cdot c(\text{Na})}{2300 - 183,92 \cdot c(\text{Na})}$$

Titračná metóda

Príprava vzorky. Do kadičky na 600 ml sa navážia asi 4 g vzorky s presnosťou na 0,1 mg. Pridá sa 100 ml vody a pri miernych otáčkach miešadla sa rozpustí. Po rozpustení sa pri väčších otáčkach miešadla pomaly pridáva deliacim lievikom 250 ml 95—98 % vodného roztoku acetónu. Vyzrážaná KMC sa preniesie do skleneného filtračného kelímka a premýva sa 400 ml 85 % acetónu bez použitia vakuu. Vzorka sa dehydratuje tak, že sa na ňu naleje 50 ml bezvodého acetónu a nechá sa 10 min stáť, potom sa zapojí vákuum a zvyšok acetónu sa prudko odsaje. Dehydratačná fáza sa štyrikrát opakuje. Po poslednom odsatí sa kelímok so vzorkou vysuší pri 60—65 °C, ochladí a odváži.

Pracovný postup. Do 1000 ml odmernej banky sa navážia asi 2 g vzorky, pridá sa voda a vzorka sa nechá rozpustiť (najlepšie cez noc). Odpipetuje sa 100 ml

vzorky do 200 ml odmernej banky, pridajú sa asi 3 kvapky indikátora metylčervene a pri stálom miešaní sa pridá 5 ml kyseliny octovej ($c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 3 \text{ mol.l}^{-1}$) a ihneď potom sa pridá 20 ml dusičnanu olovnatého ($c(\text{Pb}(\text{NO}_3)_2/2) = 0,025 \text{ mol.l}^{-1}$) a doplní sa vodou po značku. Roztok sa nechá stáť pri laboratórnej teplote 15—60 min, potom sa prefiltruje. Z filtrátu sa odpipetuje 100 ml do titračnej banky a po pridani 5 ml 5 % kyseliny vínnej, 5 ml hydroxidu amónneho ($c(\text{NH}_4\text{OH}) = 6 \text{ mol.l}^{-1}$) a indikátora eriochromčerne T sa roztok titruje štandardizovaným roztokom komplexónu 3 ($c(\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}/2) = 0,02 \text{ mol.l}^{-1}$) do prechodu fialového sfarbenia na zelenomodré.

Rovnakým postupom sa stanoví slepý pokus. Do 200 ml odmernej banky sa pipetuje 5 ml hydroxidu sodného ($c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol.l}^{-1}$), pridá sa asi 150 ml vody, 3 kvapky metylčervene a ďalej sa postupuje rovnako ako pri vzorke.

Obsah sodíka vo vzorke KMC

$$c(\text{Na}) = (a - b) \cdot 0,02 \cdot 40 \cdot n^{-1} \quad [\text{mol.kg}^{-1}],$$

kde a je spotreba komplexónu 3 na titráciu vzorky v ml, b — spotreba komplexónu 3 na slepý pokus v ml, n — návažok sušiny prečistenej vzorky v g, 0,02 — látková koncentrácia komplexónu 3 v mol.l^{-1} , 40 — riedenie pôvodne pripraveného roztoku vzorky.

Stupeň substitúcie sa určí interpoláciou z grafu vyhotoveného podľa údajov tabuľky 2.

Ako vzorky sa použili tuzemské vývojové výrobky karboxymetylcelulózy a karboxymetylškrobu, zahraničná KMC so známou hodnotou SS a ďalšie polysacharidy používané ako potravinárske stabilizátory, ktoré sa môžu vyskyto-

Tabuľka 2. Údaje pre zhotovenie grafu na vyhodnotenie stupňa substitúcie titračnou metódou [3]

Table 2. Data for construction of a graph to illustrate the substitution degree derived by the titration method [3]

Stupeň substitúcie ¹	$c(\text{Na})$ [mol.kg ⁻¹]
0,1	0,59
0,2	1,12
0,3	1,61
0,4	2,06
0,5	2,47
0,6	2,86
0,7	3,20
0,8	3,54
0,9	3,83
1,0	4,13

¹Substitution degree.

vať ako súčasť zmesných preparátov. Reprodukovateľnosť výsledkov sa overila na vzorke 01 (KMC so známymi charakteristikami).

Označenie vzoriek:

- 01 — zahraničná KMC Blanose, Hercules Cellulose Gum 7 HOFD
- 02 — KMC poloprevádzkovo vyrobená v Červenej Rečici (27. 1. 1984)
- 03 — KMC poloprevádzkovo vyrobená v Červenej Rečici (1. 10. 1984)
- 04 — KMC pokusne vyrobená v SSKL Liptovský Mikuláš (1983)
- 05 — KMŠ poloprevádzkovo vyrobený v Červenej Rečici
- 06 — kukuričný škrob Maizena, ON 56 6122
- 07 — alginát sodný
- 08 — alginát propylénglykolový
- 09 — karobová guma
- 10 — zahraničný zmesný stabilizátor Stapp
- 11 — zahraničný zmesný stabilizátor Frimulsion Q
- 12 — zahraničný zmesný stabilizátor Frimulsion Q 8.

Výsledky a diskusia

Porovnanie výsledkov stanovenia stupňa substitúcie vzorky 01 gravimetrickou a titračnou metódou je v tabuľke 3. Deklarovaný SS vzorky je 0,7, t. j.

Tabuľka 3. Reprodukovateľnosť stanovenia stupňa substitúcie karboxymetylcelulózy (vzorka 01)
Table 3. Reproducibility of the methods for determining the substitution degree of carboxymethyl cellulose (Sample 01)

Stanovenie ¹	Gravimetrická metóda ² [2]		Titračná metóda ³ [3]	
	n [g]	SS ⁴	n [g]	SS ⁴
1	1,9727	0,92	1,8053	0,79
2	1,9792	0,90	1,7837	0,88
3	2,0330	0,91	1,7750	0,78
4	1,9632	0,97	1,8366	0,80
5	1,9532	0,97	1,7877	0,87
6	1,7742	0,94	1,9422	0,89
7	2,2036	0,96	1,8208	0,85
8	2,1632	0,97	1,7099	0,87
9	1,9010	0,96	1,8503	0,86
10	2,0227	0,96	1,7375	0,87
\bar{x}		0,95		0,85
s_x		0,03		0,04

¹Determination; ²Gravimetric method; ³Titration method; ⁴Substitution degree.

v rozsahu 0,65—0,85. Z pomerne dobre reprodukovateľných výsledkov oboch metód vyplýva, že skutočný SS vzorky je na hornej hranici predpokladaného rozsahu. Gravimetrická metóda vykazuje vyššie hodnoty ($0,95 \pm 0,06$), z čoho možno usúdiť na nedokonalé spopolnenie vzorky pri podmienkach metódy. Kľúčovým miestom titračnej metódy je dôkladné rozpustenie vzorky na začiatku analýzy (ak sa vzorka nedostatočne rozpustí, výsledky sú nepresné). Štandardná odchýlka gravimetrickej metódy je 0,03, titračnej metódy 0,04.

Tabuľka 4. Stanovenie stupňa substitúcie vo vzorkách karboxymetylderivátov celulózy a škrobu
Table 4. Determination of the substitution degree in samples of carboxymethyl derivatives of cellulose and starch

Vzorka ¹	Gravimetrická metóda ² [2]		Titračná metóda ³ [3]	
	n [g]	SS ⁴ ± 0,06	n [g]	SS ⁴ ± 0,08
01	1,9966	0,95	1,8049	0,85
02	2,0945	0,80	1,8425	0,61
03	2,0072	0,46	1,6954	0,34
04	2,1033	1,11	1,4559	0,23
05	1,9975	0,48	1,6814	0,41

For 1—4 see Table 3.

Každý výsledok v tabuľke 4 je priemerom výsledkov troch paralelných stanovení. Výsledky opäť naznačujú systematicky vyššie hodnoty výsledkov pri gravimetrickej metóde. Pomerne dobrá zhoda výsledkov sa dosiahla pri stanovení SS karboxymetylškrobu ($0,48 \pm 0,06$ gravimetricky a $0,41 \pm 0,08$ titračne). Vo vzorkách 02 a 04 sú výsledky oboch metód neporovnateľné pri zohľadnení $\pm 2 s_x$ (pravdepodobnosť výskytu 95 % stanovených hodnôt), čo sa dá vysvetliť tým, že ide o vývojové vzorky s väčším stupňom znečistenia, kde prímеси spôsobujú vyššie hodnoty pri gravimetrickej metóde. Porovnanie reologických vlastností roztokov sledovaných vzoriek jednoznačne dokázalo aj to, že viskozita vzorky 04 zodpovedá veľmi nízkej hodnote stupňa substitúcie, preto je tu pravdepodobnejšia hodnota 0,23 stanovená titračne. Hodnota SS tejto vzorky 1,11 stanovená gravimetricky je síce reprodukovateľná, nie je však správna.

Na porovnanie sa stanovoval SS oboma metódami v ďalších hydrokoloidových stabilizátoroch polysacharidového typu. Priemerné hodnoty výsledkov troch paralelných stanovení týchto vzoriek sú v tabuľke 5. Kontrolná vzorka nederivatizovaného škrobu (06) vykazovala nulovú hodnotu SS, rovnako aj karbová guma (09), ktorej hlavnou zložkou je neutrálny polysacharid. Štruktúra alginátov (07 a 08) zdôvodňuje, že sa zrážajú ako olovnaté soli a pri spopolnení s kyselinou sírovou prechádzajú na sírany, preto sa prejavili pozitívne pri oboch metódach. Veľmi nízke hodnoty SS sa stanovili v zahraničných zmes-

Tabuľka 5. Stanovenie stupňa substitúcie vo vzorkách rozličných polysacharidov
Table 5. Determination of the substitution degree in samples of different polysaccharides

Vzorka ¹	Gravimetrická metóda ² [2]		Titračná metóda ³ [3]	
	<i>n</i> [g]	SS ⁴ ±0,06	<i>n</i> [g]	SS ⁴ ±0,08
06	1,9780	0,00	1,9336	0,00
07	1,9706	0,89	1,6814	0,73
08	2,1270	0,90	1,8206	0,83
09	2,0027	0,00	1,8592	0,00
10	2,1019	0,00	1,8825	0,01
11	1,2722	0,15	2,0410	0,01
12	2,0018	0,11	1,8666	0,02

For 1—4 see Table 3.

ných preparátoch nedefinovaného zloženia (vzorky 10—12), ktoré pravdepodobne obsahujú malé množstvá substituovaných derivátov polysacharidov.

Záverom možno konštatovať, že stanovenie SS gravimetrickou a titračnou metódou je reprodukovateľné, ale výsledky gravimetrickej metódy nepriaznivo ovplyvňuje také znečistenie výrobku, ktoré sa neodstráni vo fáze prípravy vzorky pri extrakcii alkoholom a acetónom. Gravimetrická metóda poskytuje systematicky vyššie hodnoty výsledkov, čo je pravdepodobne spôsobené nedokonalým spopolneným vzorky pri daných podmienkach, kde sa za základ pre výpočet SS použije vyššia ako skutočná hmotnosť zvyškového síranu sodného. Vzhľadom na získané výsledky možno odporúčať, aby sa na kontrolu SS potravinárskej KMC prevzala titračná metóda, platná pre technickú KMC [3]. Táto metóda je dostatočne spoľahlivá a v porovnaní s gravimetrickou metódou je rýchlejšia a jednoduchšia, s menším predpokladom zanesenia systematickej chyby do výsledkov.

Literatúra

1. Hercules Cellulose Gum, France, firemný materiál (b.r.), 31 s.
2. Specifications for Identity and Purity. FAO Food and Nutritional Paper 4, Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations 1978.
3. PND 27 00373, Lovosa, Severočeské chemické závody, n. p., Lovosice 1973.
4. NOWOTNY, S.: Basic Exercises in Immunochemistry. A Laboratory Manual. Berlin—Heidelberg—New York, Springer-Verlag 1979.
5. FRIESE, P.: Fresenius Z. Anal. Chem., 303, 1980, s. 279.
6. LARM, O. — LARSSON, K. — THEANDER, O.: Starch/Stärke, 33, 1981, č. 7, s. 240.
7. FRIESE, P.: Fresenius Z. Anal. Chem., 305, 1981, s. 337.
8. LAUNEROVÁ, D.: Dôkaz a stanovenie čistoty KMC a KMŠ. Diplomová práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1984, 84 s.

Определение степени замещения карбоксиметилцеллюлозы

Резюме

В рамках выбора метода для производственного контроля степени замещения пищевой карбоксиметилцеллюлозы сравнивались методы гравиметрии и титрации. Было установлено стандартное отклонение при гравиметрическом методе $s_x = 0,03$, а при методе титрации — $s_x = 0,04$. Результаты обоих методов в достаточной степени воспроизводимы, но результаты метода гравиметрии систематически выше, вероятно, вследствие нагрузки от ошибки при сжигании образцов. Для контроля степени замещения пищевой гидроксиметилцеллюлозы можно рекомендовать более простой и быстрый метод титрации.

Determination of the substitution degree of carboxymethyl cellulose

Summary

The article deals with the problem of choosing a working method by means of which it would be possible to control the substitution degree of carboxymethyl cellulose used in food industry. In this respect two methods, namely the gravimetric method and the titration method are compared. Consequently, the standard error with the gravimetric error is $s_x = 0.03$, and with the titration method it is $s_x = 0.04$. Results obtained with both methods are sufficiently reproducible, though those obtained with the gravimetric method are systematically higher, most probably as a result of an imperfect incineration of the samples. The more simple and more rapid filtration method is recommended for the above purpose.