

PORÓWNANIE SPEKTROFOTOMETRYCZNYCH METOD OZNACZANIA ZAWARTOŚCI DWUTLENKU SIARKI W CUKRZE BIAŁYM

Teresa Sumińska, Barbara Gajownik

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

Oddział Cukrownictwa, Zakład Technologii Cukru

ul. Inżynierska, 405-084 Leszno

teresa.suminska@ibprs.pl

Streszczenie

Celem pracy było wytypowanie najodpowiedniejszej dla laboratorium metody oznaczania dwutlenku siarki w cukrze białym. Założono, że metoda ta powinna być użyteczna podczas bieżącej kontroli produkcji, a więc możliwie szybka i prosta w obsłudze.

Badania wykonano metodami posiadającymi oficjalny status ICUMSA: kolorymetryczną z rozaniliną i enzymatyczną. Biorąc pod uwagę dużą liczbę analiz wykonywanych podczas kampanii w laboratorium oraz chcąc ułatwić pracę i skrócić czas określania zawartości SO₂ w cukrze, oznaczenia tego związku metodą kolorymetryczną wykonano dwoma sposobami:

- z wykorzystaniem spektrofotometru HACH,
- z wykorzystaniem spektrofotometru HACH i zastosowaniem analizy próbówkowej do przygotowania roztworu cukru do badań.

W ramach pracy sprawdzono trwałość odbarwionego roztworu rozaniliny używanego w metodzie kolorymetrycznej. Trwałość tego odczynnika przyczyniłaby się bowiem do skrócenia czasu oznaczenia o każdorazowe wyznaczanie krzywej wzorcowej.

Słowa kluczowe: cukier, dwutlenek siarki, rozanilina, krzywa wzorcową, spektrofotometr

COMPARISON OF SPECTROPHOTOMETRIC METHODS FOR DETERMINATION OF THE DIOXIDE SULPHUR IN WHITE SUGAR

Summary

The aim of the study was to predicting method for the determination of sulfur dioxide in white sugar the most suitable for the laboratory was assumed that the proposed method should be useful in the current production control, and therefore possibly fast and easy to use.

The study was performed by methods having official status ICUMSA: colorimetric fuchsin-based method and enzymatic method. In view of the large number of analyzes carried out during the campaign in the laboratory, in order to facilitate the work and shorten the time

of the determination of SO₂ in sugar, determination of this compound by the colorimetric method was performed in two ways:

- using a spectrophotometer HACH,
- using a HACH spectrophotometer analysis of the tube and used for the preparation of the test sugar solution.

As part of the operation stability of decolorized fuchsin solution used in the colorimetric method. This reagent fact contributes to reduce the time marking each case, setting the standard curve.

Key words: sugar, sulfur dioxide, fuchsin, standard curve, spectrophotometer

WSTĘP

Początki stosowania dwutlenku siarki do przerobu buraków sięgają pierwszej połowy XIX wieku. Wykorzystywany jest on w dwóch ważnych operacjach technologicznych produkcji cukru:

- w przygotowaniu wody do wysładzania krajanki buraczanej w ekstrakcji ciągłej,
- w procesie oczyszczania i odbarwiania soków oraz półproduktów cukrowniczych.

Dwutlenek siarki posiada właściwości zakwaszające, zmniejszające zabarwienie soków, a tym samym zabarwienie cukru białego, ma również działanie antyseptyczne. Głównym jego zadaniem na stacji ekstrakcji jest obniżenie pH do wartości optymalnej. Stosowanie SO₂ w cukrownictwie wynika także z jego niskiego kosztu i łatwości dozowania.

Celem siarkowania oczyszczonego i odfiltrowanego soku rzadkiego jest zmniejszenie przyrostu zabarwienia, poprawianie gotowania cukrzyc i usunięcie zbędnego nadmiaru alkaliczności. Mc Ginnis podaje, że można siarkować sok półgęsty, tj. sok o około 45 Bx, np. wychodzący z III działu wyparki. Można go siarkować wraz z klarówką przed skierowaniem do następnego działu. Można także siarkować sok gęsty niezależnie od rzadkiego lub tylko sok gęsty [Mc Ginnis 1976].

Mechanizm hamowania przez SO₂ przyrostu zabarwienia wyjaśniono neutralizowaniem przez ten związek katalizatorów przyspieszających tworzenie się substancji barwnych z produktów rozkładu sacharozy i inwertu [Wagnerowski 1974]. Zmniejszenie zabarwienia soku polega na katalizie oksydatywnej, a w mniejszym stopniu na redukowaniu barwników do tzw. leukozwiązków, tj. form bezbarwnych [Mc Ginnis 1976].

Dwutlenek siarki stosowany podczas procesu ekstrakcji i oczyszczania częściowo przechodzi do wysłodków, a częściowo jest adsorbowany przez CaCO₃ w czasie saturacji. Ilości pozostające w soku rzadkim stanowią 3–4% ilości początkowej [Dandar i inni 1974].

Z uwagi na fakt, że SO_2 jest wykorzystywany w procesie technologicznym, można znaleźć jego ślady w cukrze.

Stosowanie SO_2 w ilościach zapewniających odbarwienie soku powoduje powrót zabarwienia w cukrze podczas magazynowania – wskutek utleniania przez tlen z powietrza związków zawierających siarczyny. Pierwotną przyczyną wysokiej zawartości siarczynów w cukrze jest zbyt duża ilość stosowanego dwutlenku siarki lub dozowanie go w niewłaściwym punkcie schematu technologicznego. Dwutlenek siarki powinien być dodawany tylko w takich ilościach, jakie wystarczą do katalicznego zapobieżenia wzrostowi zabarwienia, tak aby jego ilość w cukrzycy I nie przekraczała 25 ppm. Śladowe ilości dwutlenku siarki znajdujące w cukrze handlowym nie mają wpływu na jego przydatność dla użytkowników. Nadmierna zawartość może natomiast powodować np. korozję puszek zawierających środki spożywcze słodzone [Mc Ginnis 1976].

Poglądy na temat szkodliwości kwasu siarkawego dla organizmu ludzkiego są podzielone. Według niektórych autorów kwas siarkawy w małych ilościach jest zupełnie nietoksyczny, gdyż ulega szybkiemu utlenieniu w przewodzie pokarmowym, po czym zostaje wydalony z ustroju. Inni badacze są zdania, że nawet małe ilości kwasu siarkawego powodują znaczne obniżenie odporności krwi na gronkowce. Zawartość tego związku w artykułach żywnościowych musi być jednak ograniczona, chociażby tylko dlatego, że nadmiar SO_2 wpływa niekorzystnie na właściwości smakowe i zapachowe tych produktów [Gawrych, Butwiłowicz 1969].

Zgodnie z definicją w ustawie o bezpieczeństwie żywności, SO_2 stosowany w procesie technologicznym otrzymywania cukru można uznać za „substancję pomocniczą”, tj. „substancję, która sama nie jest spożywana jako składnik żywności, a jest stosowana w przetwarzaniu surowców, środków spożywczych lub ich składników dla osiągnięcia zamierzonego celu technologicznego w procesie produkcji, która może spowodować niezamierzone, lecz technicznie nieuniknione wystąpienie jej pozostałości w produkcie końcowym, w ilości, która nie zagraża zdrowiu oraz nie spełnia funkcji technologicznej w gotowym produkcie”.

Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22.11.2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych podaje listę środków spożywczych, w których mogą być stosowane dwutlenek siarki i siarczyny oraz ich maksymalne poziomy. Wśród wymienionych środków są cukry, w których pozostałość SO_2 nie może przekraczać 10 mg/kg.

Komitet Naukowy ds. Żywności w Unii Europejskiej zaliczył dwutlenek siarki i siarczyny w stężeniach powyżej 10 mg/kg lub 10 mg/l w przeliczeniu na SO₂ do substancji mogących wywołać alergię.

Polska norma PN-A-74850:1996 nie zawiera danych co do dopuszczalnych ilości SO₂ w cukrze białym.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał do badań stanowiły próby cukru białego wyprodukowanego przez cukrownie podczas minionej kampanii. Oznaczanie dwutlenku siarki wykonano trzema sposobami:

- metodą ICUMSA GS2/1/7-33 z rozaniliną,
- metodą ICUMSA GS2/1/7-33 z zastosowaniem analizy próbówkowej,
- metodą ICUMSA GS2/3-35 (enzymatyczna).

Oficjalną metodą oznaczania zawartości dwutlenku siarki w cukrze białym jest metoda kolorymetryczna z rozaniliną. Polega ona na pomiarze absorpcji kompleksu siarczynów z rozaniliną w świetle widzialnym o długości fali 560 nm po reakcji z formaliną. Absorbancja tego kompleksu jest proporcjonalna do ilości siarczynów zawartych w cukrze. Oficjalny status ICUMSA posiada również metoda enzymatyczna oznaczania SO₂ w cukrze białym. Jest to metoda polegająca na utlenianiu siarczynów i SO₂ do siarczanów za pomocą oksydazy siarczynowej. Ilość siarczynów w danej próbce cukru jest proporcjonalna do ilości dinukleotydu nikotynoadeninowego (NADH) użytego w czasie analizy [Butwiłowicz 1997; Zbiór przepisów analitycznych ICUMSA]. Metoda enzymatyczna jest metodą szybką, łatwą i pozwalającą uniknąć potencjalnego działania kancerogennego, o jakie jest podejrzewana rozanilina stosowana w metodzie kolorymetrycznej.

WYNIKI

Wyniki badań oznaczania zawartości SO₂ w cukrze białym zestawiono w tabeli 1. W tabeli 2 podano rozbieżności wyników po wykonaniu serii oznaczeń, a w tabeli 3 średnie wyniki oznaczania zawartości dwutlenku siarki w cukrze białym.

Tabela 1. Zestawianie wyników oznaczania zawartości SO₂ w cukrze białym (mg/kg)*The compilation of the results of the determination of SO₂ in white sugar (mg/kg)*

Próba cukru	Metoda kolorymetryczna						Metoda enzymatyczna		
	metoda ICUMSA GS2/1/7-33 z rozaniliną			metoda ICUMSA GS2/1/7-33 z zastosowaniem analizy próbówkowej			metoda ICUMSA GS2/3-35		
	I seria	II seria	III seria	I seria	II seria	III seria	I seria	II seria	III seria
A	0,00	0,09	0,03	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00
B	0,21	0,25	0,35	0,15	0,21	0,25	0,34	0,26	0,19
C	2,67	3,64	2,56	2,02	2,81	2,34	0,64	2,22	1,32
D	0,20	0,18	0,34	0,18	0,22	0,28	0,00	0,00	0,00
E	2,57	2,50	2,64	2,91	2,69	2,84	2,08	-	2,06
F	6,86	6,79	6,63	7,12	6,85	6,78	2,24	5,79	3,03
G	3,93	3,99	4,09	4,21	4,05	4,15	2,48	2,49	2,53
H	0,00	0,15	0,35	0,00	0,18	0,21	0,00	0,50	0,24
I	0,24	0,26	0,47	0,24	0,18	0,28	0,68	0,74	0,04
J	2,58	2,76	2,98	2,75	2,66	2,69	1,44	-	2,02
K	2,55	2,33	2,76	2,45	2,57	2,84	1,60	1,83	1,94
L	0,11	0,18	0,39	0,10	0,00	0,24	1,56	0,00	0,45

Tabela 2. Rozbieżność wyników po wykonaniu serii oznaczeń zawartości SO₂ w cukrze białym (mg/kg) wytypowanymi metodami

The discrepancy results after a series of determinations SO₂ content of white sugar (mg/kg) in scheduled methods

Próba cukru	Metoda kolorymetryczna		Metoda enzymatyczna
	metoda ICUMSA GS2/1/7-33 z rozaniliną	metoda ICUMSA GS2/1/7-33 z zastosowaniem analizy próbówkowej	metoda ICUMSA GS2/3-35
A	0,09	0,03	0,00
B	0,14	0,10	0,15
C	1,08	0,32	1,58
D	0,16	0,10	0,00
E	0,14	0,22	0,02
F	0,23	0,34	3,55
G	0,16	0,16	0,05
H	0,35	0,21	0,50
I	0,23	0,10	0,70
J	0,40	0,09	2,02
K	0,43	0,39	0,34
L	0,28	0,24	1,56
Średnia	0,31	0,19	0,87

Tabela 3. Średnie wyniki oznaczania zawartości SO₂ w cukrze białym (mg/kg) wytypowanymi metodami*The average results for the determination of SO₂ in white sugar (mg/kg) in scheduled methods*

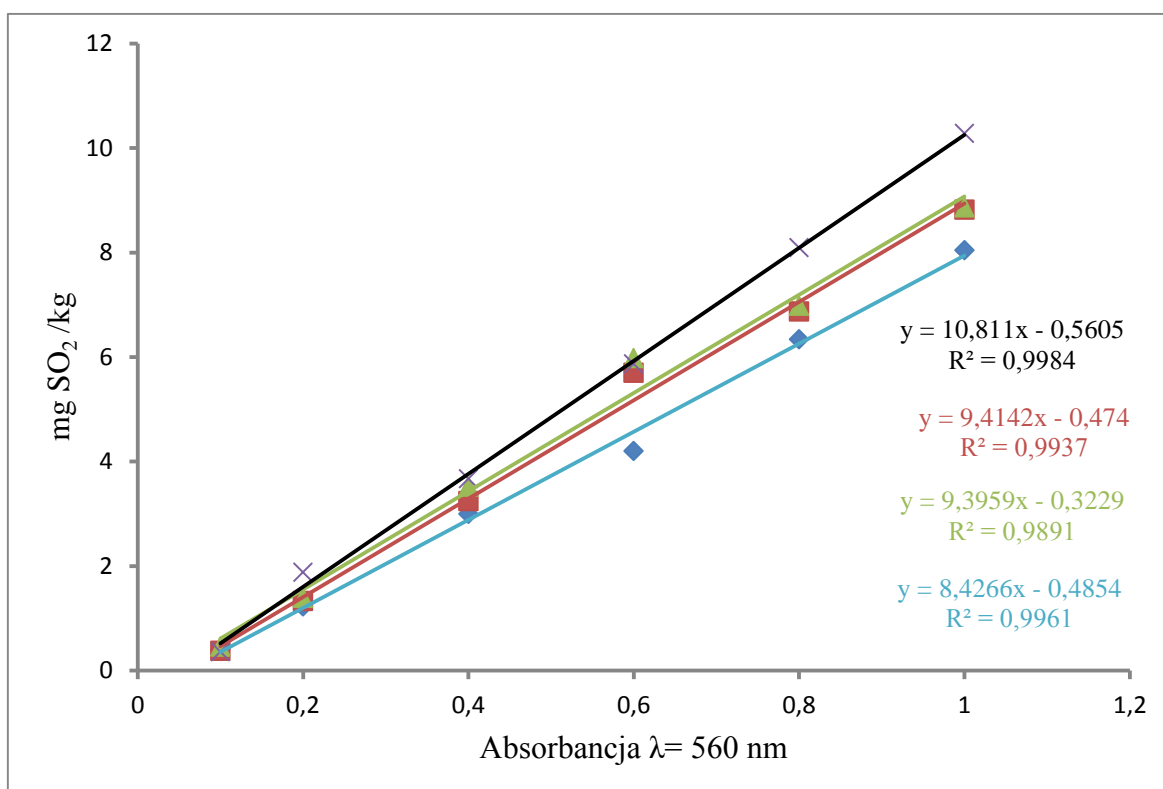
Próba cukru	Metoda kolorymetryczna		Metoda enzymatyczna
	metoda ICUMSA GS2/1/7-33 z rozaniliną	metoda ICUMSA GS2/1/7-33 z zastosowaniem analizy próbówkowej	metoda ICUMSA GS2/3-35
A	0,04	0,01	0,00
B	0,27	0,20	0,26
C	2,95	2,39	1,39
D	0,24	0,23	0,00
E	2,57	2,81	2,07
F	6,76	6,92	3,69
G	4,00	4,14	2,50
H	0,17	0,13	0,25
I	0,32	0,23	0,49
J	2,77	2,70	1,73
K	2,55	2,62	1,79
L	0,23	0,11	0,67

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wyniki oznaczania zawartości SO_2 w cukrze białym, otrzymane w rezultacie stosowania różnych metod analitycznych, w większości są do siebie zbliżone.

Porównując średnie wyniki oznaczeń uzyskane w rezultacie stosowania wcześniej wymienionych metod, można stwierdzić, że metoda „próbówkowa” oraz metoda tradycyjna dają porównywalne wyniki.

Przy korzystaniu z metody enzymatycznej stwierdzono, że dla prób, w których zawartość SO_2 wynosiła powyżej 2 mg/kg cukru, wyniki były niższe w stosunku do wyników uzyskanych metodą kolorymetryczną, natomiast dla prób o zawartości SO_2 poniżej 1 mg/kg wyniki były nieco wyższe.

Najmniejszą rozbieżność wyników w ramach serii powtórzeń dla tej samej próby cukru uzyskano dla metody kolorymetrycznej, w której zmodyfikowano sposób przygotowania roztworu do analizy próbówkowej. Można przypuszczać, że w wyniku modyfikacji metody nie popełnia się błędów przypadkowych związanych np. z dopełnianiem kolb do kreski czy przenoszeniem roztworu cukru.



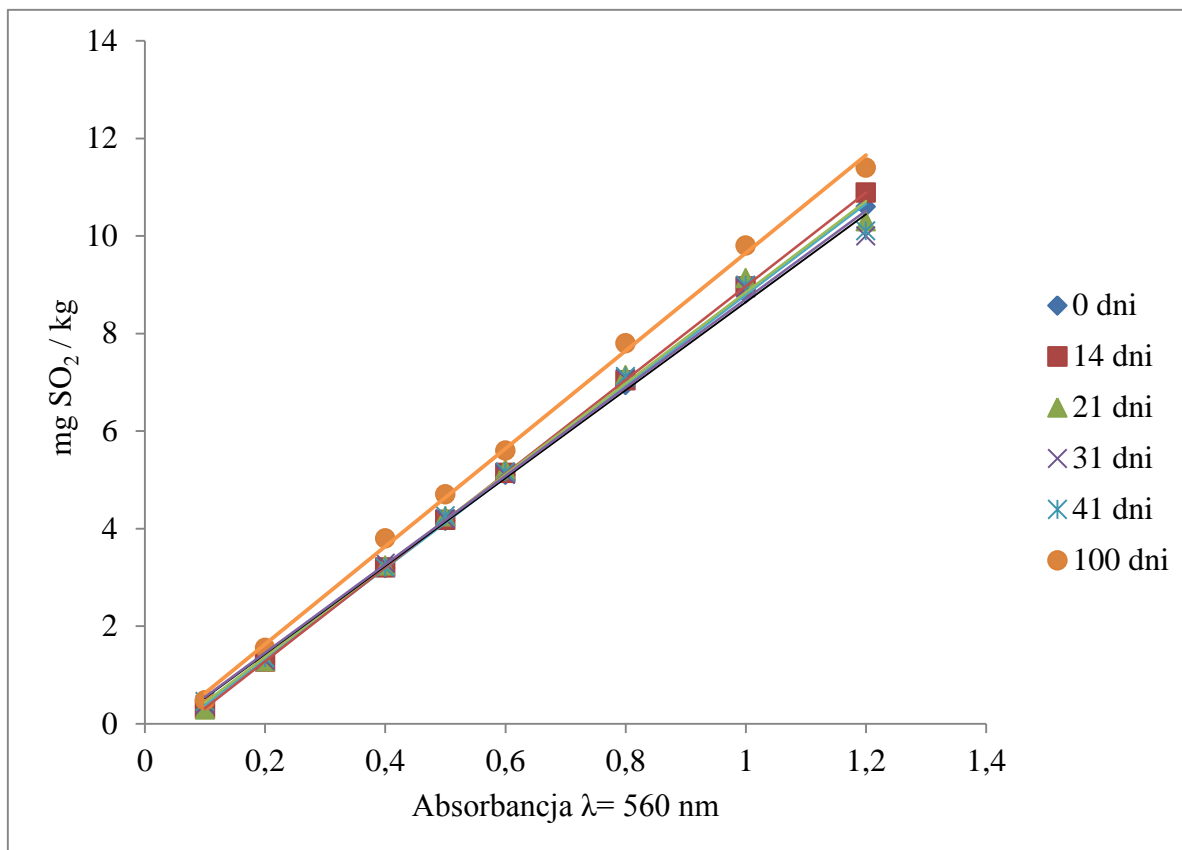
Rysunek 1. Krzywe wzorcowe wyznaczone przy użyciu rozaniliny odbarwionej przed wykonaniem analizy
Standard curves were determined using fuchsin inked before analysis

Krzywe wzorcowe, do wyznaczania których każdorazowo odbarwiano roztwór rozaniliny, wykazują względem siebie pewne odchylenie powyżej stężenia 1 mg SO₂/kg cukru. Dlatego też do oznaczenia dwutlenku siarki w cukrze zawierającym większe ilości tego związku wskazane wydaje się stosowanie odbarwionego roztworu rozaniliny, na którym została sporządzona krzywa wzorcowa, służąca do odczytów zawartości SO₂.

Oznaczenie zawartości dwutlenku siarki w cukrze białym jest oznaczeniem czasochłonnym. Duży wpływ na czas trwania tej analizy ma przygotowanie odczynników potrzebnych do sporządzenia zestawu roztworów wzorcowych niezbędnych do wyznaczenia krzywej wzorcowej. Dlatego też w ramach badań przeprowadzono obserwacje „trwałości” odbarwionego roztworu rozaniliny, która jest używana zarówno podczas przygotowania wzorców, jak i w bezpośredniej analizie cukru białego. W tym celu przygotowano 200 ml odbarwionego roztworu rozaniliny. Po 60 minutach sporządzono serię wzorców i wyznaczono pierwszą krzywą wzorcową. Następnie przez ok. 3 miesiące co pewien czas wyznaczano krzywą wzorcową, używając tego samego odbarwionego roztworu rozaniliny przechowywanego w lodówce. Używając tego roztworu, wyznaczono 6 krzywych, których równania zestawiono w tabeli 4. Ułożenie tych krzywych względem siebie przedstawia rysunek 2.

Tabela 4. Równania krzywych wzorcowych wyznaczonych z wykorzystaniem tego samego przechowywanego, odbarwionego roztworu rozaniliny
The equations determined from standard curves using this itself, stored, discolored solution fuchsin

Czas przechowywania odbarwionego roztworu rozaniliny (liczba dni)	Równanie krzywej wzorcowej	Wartość współczynnika regresji
0	$y = 9,41111x - 0,5876$	0,9994
14	$y = 9,6223x - 0,6525$	0,9992
21	$y = 9,8189x - 0,6856$	0,9988
31	$y = 9,5431x - 0,6154$	0,9991
41	$y = 9,5551x - 0,5614$	0,9994
102	$y = 10,339x - 0,6708$	0,9987



Rysunek 2. Krzywe wzorcowe wyznaczone z użyciem przechowywanego, odbarwionego roztworu rozaniliny
Standard curves were determined using stored, discolored solution fuchsin

Krzywe wzorcowe wyznaczone z użyciem odbarwionego roztworu rozaniliny po 14, 21, 31 i 41 dniach w zasadzie pokrywają się z krzywą wyznaczoną w dniu odbarwienia rozaniliny. Krzywa wzorcowa sporządzona po 100 dniach powyżej stężenia 2 mg SO₂/kg wykazuje nieznaczące odchylenie.

WNIOSKI

1. Do rutynowych oznaczeń zawartości SO₂ w cukrze białym wybrano metodę kolorymetryczną ICUMSA GS2-33, w której zmodyfikowano sposób przygotowania roztworu cukru przeznaczonego do badań metodą analizy próbkowej. Modyfikacja metody znacznie skraca czas oznaczenia.
2. Stwierdzono, że odbarwiony roztwór rozaniliny przechowywany w chłodziarce może być używany do wykonywania analiz w okresie ok. 1,5 miesiąca bez konieczności ponownego wykonywania krzywej wzorcowej.
3. Metoda enzymatyczna stosowana do oznaczeń jest metodą szybką i stosunkowo

bezpieczną dla zdrowia, ale uzyskane rezultaty charakteryzowały się znaczną rozbieżnością. Mogło to być wynikiem niewielkiej zawartości badanego związku w próbach cukru, gdyż metoda ta jest polecana do oznaczeń siarczynów w próbach, w których stężenie jest wyższe od 3 mg/kg.

PIŚMIENNICTWO

1. Butwiłowicz A. (1997). Metody analityczne kontroli produkcji w cukrowniach. Warszawa: IPC
2. Dandar A., Vasatko J., Rajniakova A. (1974). Wpływ siarkowania soków buraczanych przed progresywną wstępną defekacją na efekt oczyszczania. *Gaz. Cukr.*, 82(10), s. III okł.
3. Gawrych M., Butwiłowicz A. (1969). Oznaczanie śladowych ilości dwutlenku siarki w cukrach białych. *Gaz. Cukr.*, 77(1), 8
4. Mc Ginnis R. A. (1976). *Cukrownictwo*. Warszawa: WNT
5. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22.11.2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. D.U. nr 232; poz. 1525
6. Wagnerowski K. (1974). Ulepszanie procesu ekstrakcji cukru z krajanki przez zakwaszanie wody wysładzającej (cz. I). *Gaz. Cukr.*, 82(9), 238; (cz. II). *Gaz. Cukr.*, 82(10), 257
7. Zbiór przepisów analitycznych ICUMSA (2013), Bartens