

Vanillin ultraibolya spektrofotometriás meghatározása

HAJDÚ KÁROLYNÉ

Állategészségügyi és Élelmiszer Ellenőrző Állomás
Békéscsaba

Érkezett: 1984. szeptember 24.

1. A módszer elve

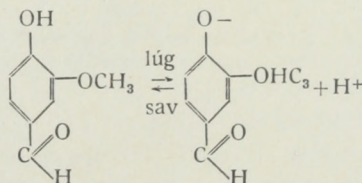
A Svájci Élelmiszerkönyv szorbinsav és benzoésav meghatározási módszer alkalmas a vanillin meghatározására is.

A minta petroléteres, majd 0,5%-os NaHCO_3 oldatos extrahálásával kapunk oldatban a vanillin $28\,660\text{ cm}^{-1}$ (349 nm) hullámszámnál jellemző abszorpciós maximumot ad. Ez a spektrum azonban erősen függ a pH-értéktől.

2. Az UV spektrum pH függése

A vanillin spektrumát a pH függvényében vizsgálva 4 izobesztikus pontot kapunk, ahol az extinkció független a pH-értéktől.

A $28\,660\text{ cm}^{-1}$ (349 nm) hullámszámnál levő abszorpciós maximum csak a lúgos oldatban jelentkezik, amikor a vanillin nem protonált, anionos formában jelen.



A puffer oldatokban felvett spektrumok alapján, a protonált és nem protonált forma közötti egyensúlyból számolva, a vanillin protonálódási állandójának az értéke 7,3. Irodalomban talált pH-érték $7,396$ (1.)

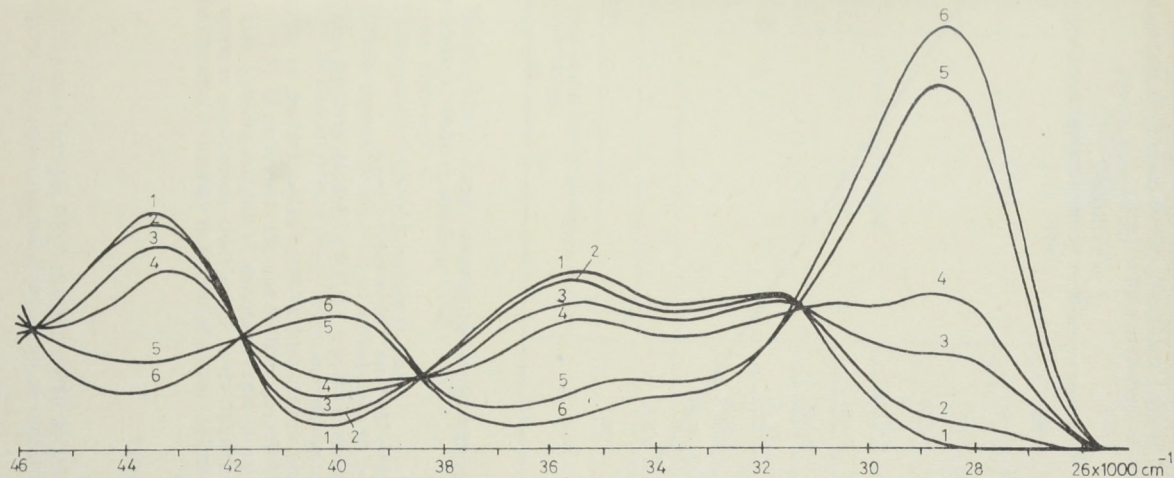
A spektrum további változást nem mutat, ha $\text{pH} < 1,3$, ill. $\text{pH} > 9,6$.

3. Az UV spektrum elméleti magyarázata

A vanillin abszorpciós sávrendszereinek hullámhossza közelítőleg becsülhető a benzaldehid spektrumából, figyelembe véve a fenil és metoxi helyettesítő csoportok hullámhossz eltolódását. (2, 3)

A vanillin lúgos oldatában a legkisebb hullámszámú ($28\,660\text{ cm}^{-1}$, 349 nm) sávrendszer az aromás rendszer elektion átmenetéből, a középső ($34\,000\text{ cm}^{-1}$, 294 nm) a fenil kromofor $\pi \rightarrow \pi^*$ átmenetéből, míg a legnagyobb ($40\,200\text{ cm}^{-1}$, 249 nm) hullámszámú sávrendszer a fenil csoportról a karbonil csoportra való elektion átvitelből származik.

A vanillin UV spektruma lúg hatására eltolódik a kisebb hullámszámok felé, a fenolát anion nagyobb elektron küldő konjugatív képessége miatt, ugyanakkor az abszorpciós intenzitás nő a $28\,660\text{ cm}^{-1}$ (349 nm) hullámszámnál.



1. ábra
Vanillin UV spektrumának pH-tól való függése
Vanillin koncentráció 0,006 mg/cm³

Jelmagyarázat:

	pH	Extinkció 28660 cm ⁻¹ -nél
1.	1,3	0,014
2.	6,0	0,076
3.	6,7	0,235
4.	7,0	0,366
5.	8,0	0,864
6.	9,6	1,012

4. Mennyiségi meghatározás, kalibrációs egyenes

Vanillin lúgos oldatban való meghatározásánál, $28\,660\text{ cm}^{-1}$ (349 nm) hullám számon, kapott kalibrációs egyenes egyenlete a következő:

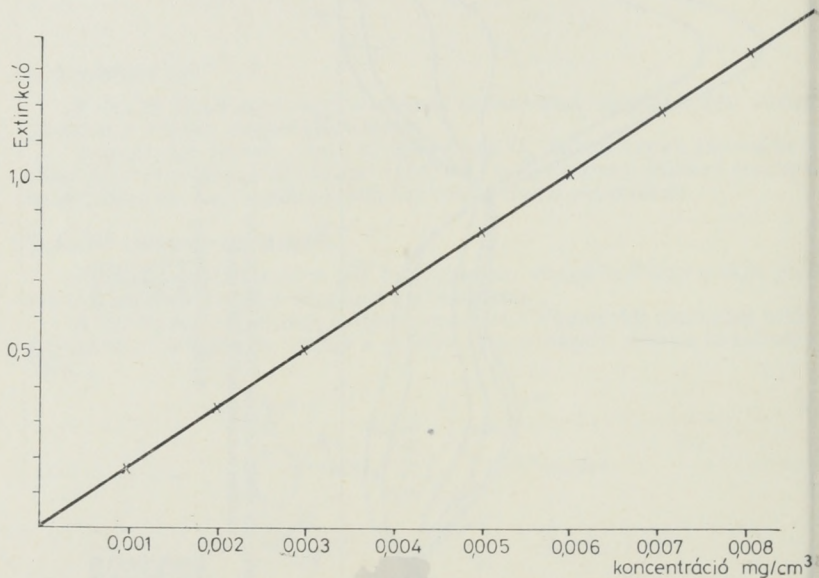
$$y = a + bx$$

y = extinkció

x = vanillin koncentráció mg/cm^3
ben

$$a = -0,0026$$

$$b = 169,64 \pm 0,63$$



2. ábra

Kalibrációs egyenes 28660 cm^{-1} hullámszámon mérve

A kalibrációs egyenes konfidencia sávja a $\pm 0,007$ extinkciós értéknél nem nagyobb az egész koncentráció tartományban.

A kalibrációs görbét négyszer vettem fel különböző időpontokban, az egyenes paramétereit és megbízhatósági intervallumát 24 adatból számoltam ki. (4.)

A vanillint savas oldatban is meg lehet határozni ha nincsen mellette jelen be-zoesav vagy szorbinsav. Savas oldatban a legnagyobb abszorpciós maximuma $43\,500\text{ cm}^{-1}$ (230 nm) hullámszámnál van, ez is lineárisan változik a koncentráció-val.

5. Vanillin visszanyerési vizsgálatai

5.1. Modell oldatokból

A vizsgált vanillin koncentrációk $0,001$; $0,004$ és $0,007\text{ mg}/\text{cm}^3$ -esek voltak, a kalibrációs egyenes legkisebb, középső és legnagyobb koncentrációjának megfelelően.

A méréseket $10 - 10$ párhuzamos méréssel végeztem el.

Visszanyerési százalék vizsgálata a koncentráció függvényében, modell olatdok alapján

Vanillin koncentráció mg/cm ³ -ban		0,001	0,004	0,007
1	Visszanyerési százalék	90,2%	90,5%	91,3%
2		89,0%	91,0%	91,3%
3		89,0%	88,5%	91,5%
4		92,0%	91,0%	91,0%
5		87,7%	88,8%	91,5%
6		87,1%	92,0%	91,1%
7		89,0%	92,8%	91,7%
8		87,1%	91,3%	90,8%
9		85,9%	90,9%	91,5%
10		86,5%	89,3%	90,8%
Átlag		88,3%	90,6%	91,3%
Szórás		1,85%	1,38%	0,39%
Az átlag konfidencia intervalluma 95%-os valószínűséggel		±1,32%	±0,99%	±0,28%

Megállapítható, hogy a koncentráció növekedésével a kinyerési százalék nő és az eredmények szórása csökken.

5.2. Visszanyerési vizsgálat termékekből

Kétféle termékből végeztem el a visszanyerési vizsgálatokat 6–6 párhuzamos méréssel.

Egy jól visszanyerhető és egy rosszul visszanyerhető termékből.

Visszanyerési vizsgálatok termékekből

Termék	Eredeti vanillin-tartalom mg/kg-ban	Addíció	Addíció utáni vanilin tartalom mg/kg-ban	Visszanyerési százalék
Csilla töltetlen teasütemény Bemérés 2 g	1. 45,0	Bemérés a termékéből 2 g, addíció 0,1 mg vanilin	82,1	86,8 %
	2. 43,5		78,4	82,1 %
	3. 45,1		66,0	69,1
	4. 49,1		64,7	67,7 %
	5. 46,9		62,6	65,5 %
	6. 43,5		64,2	67,2 %
Átlag	45,5		69,7	72,9 %
Szórás	2,16		8,35	8,77 %
Gyorsfagyasztott gesztenyepüré Bemérés 5 g	1. 52,3	Bemérés a termékéből 3 g addíció 0,1 mg vanilin	82,9	95,6 %
	2. 53,6		87,0	100,3 %
	3. 52,6		83,9	96,7 %
	4. 52,9		91,6	105,6 %
	5. 55,1		84,3	97,2 %
	6. 53,9		89,8	103,5 %
Átlag	53,4		86,6	99,8 %
Szórás	1,03		3,52	4,06 %

6. Különböző élelmiszerek vanillin tartalmának meghatározása

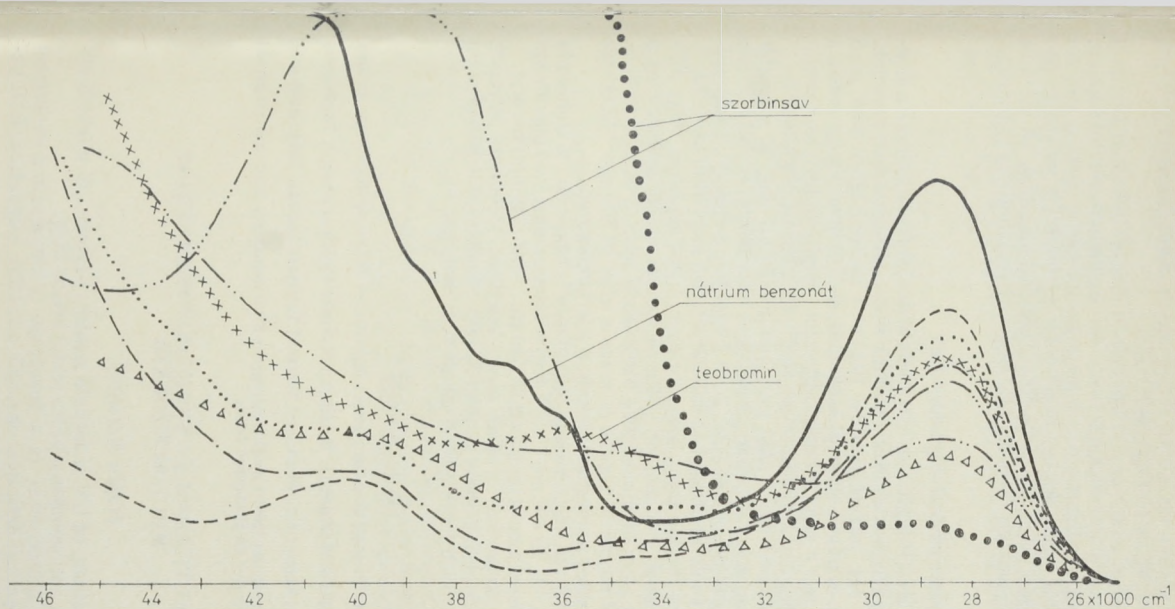
6.1. Minta előkészítés

A homogenizált vagy apróra darált mintából 2–5 g-ot mérünk be egy 100 cm³-es csiszolt dugós Erlenmayer lombikba, hozzáadunk 2 cm³ 5 n H₂SO₄ oldatot, mivel egyenletesen átnedvesítjük.

Nagyobb víztartalom esetén csökken a vanillin visszanyerési százaléka, ezért kerülni kell a vízzel való hígítást.

Erre a szuszpenzióra öntjük rá a 30 cm³ 30–40-es petrolétert és jól összerázzuk, majd leöntjük róla óvatosan a petrolétert egy rázóitölcsérbe, ezt a műveletet még kétszer megismételjük és a petroléteres fázisokat összegyűjtjük a rázóitölcsérben.

(Lisztes áruknál előbb kell hozzáönteni a petrolétert és csak azután az 5 n H₂SO₄ 2 cm³-ét, mert összecsomósodik a minta a kénsavtól és azután nehezebben lehet belőle kinyerni a vanillint. Az ilyen módon való előkészítésnél is romlik a visszanyerési százalék, ami a 2. táblázatból is látszik.)



3. ábra
Különböző termékek vanillin tartalmának meghatározása

Jelmagyarázat

- gesztenyepüré
- - - - - vaníliás krémrúró
- · - · - · Tea csemege tészta
- · · · · · üreges tejsokoládé
- · · · · · csokoládéval bevont konzum szaloncukorka
- szegedi túros táska
- ××××××× mogyorós tejsokoládé
- △△△△△△△ Csilla töltetlen teasütemény
- ○ ○ ○ ○ ○ ○ Marci csokoládé bevonatrésze

Ezután a vanillint a petroléterből először 20, majd 15 végül 10 cm³ 0,5%-os NaHCO₃ oldattal a vizes fázisba rázzuk át, ezt 50 cm³-es mérőlombikban gyűjtjük össze, majd jelig töltjük 0,5%-os NaHCO₃ oldattal.

Ha a vizes fázis opálos, akkor egy szűrőpapírral ellátott tölcserén keresztül engedjük be az 50 cm³-es mérőlombikba, így tiszta, fotometrálnaképpan oldatot kapunk.

A Carrez derítés nem alkalmazható a fehérje mentesítésre, mert a vanillin nagy része elvész a derítés során. Az így nyert oldat extinkcióját mérjük 28 660 cm⁻¹ (349 nm) hullámszámnál 0,5%-os NaHCO₃ oldattal szemben. (A 0,5%-os NaHCO₃ oldat helyett ugyanilyen %-os Na₂CO₃ oldat is használható az extrahálásnál.)

6.2. Zavaró hatások és egymás melletti meghatározások

A vanillinnal együtt a szorbinsav és a nátriumbenzoát is kivonható ezzel a módszerrel a mintából, azonban lúgos oldatban a vanillin meghatározását nem zavarják. A szorbinsav általában egy nagyságrenddel nagyobb mennyiségben van jelen ugyanabban a termékben, mint a vanillin (pl. csokoládé, szaloncukorka), így annak a lúgos oldatnak amelyből már a vanillint meghatároztuk, megfelelő hígítása és savazása után 37 800 cm⁻¹ (265 nm) hullámszámnál meghatározható a szorbinsav is.

A nátriumbenzoát 43 500 cm⁻¹ (230 nm) hullámszámnál nagyon érzékeny abszorpciós maximumot ad savas oldatban, azonban ha a vanillinnal együtt akarjuk meghatározni, akkor a vanillinhez szükséges 2–5 g bemérés esetén (pl. gesztenyepüré) a nátrium-benzoát ennél a hullámszámnál mérhetetlen nagy extinkciót ad.

37 140 cm⁻¹ (269 nm) hullámszám környezetében, lúgos oldatban, nagy nátriumbenzoát koncentrációnál, egy nagyon jellemző hármas csúcsa jelenik meg a nátriumbenzoátnak, ami alapján minőségileg azonosítani lehet a vanillin mellett. Ezután ebből az oldatból megfelelő hígítás és savazás után 43 500 cm⁻¹ (230 nm) hullámszámnál mennyiségileg is meghatározható a nátriumbenzoát.

A kakaós termékeknél (pl. tejszokoládé, étcsokoládé, kakaópor) a teobromin elnyúló sávja jelenik meg, kb. 36 400 cm⁻¹ (275 nm) hullámszámnál levő maximummal, ez a vanillin mennyiségi meghatározását 28 660 cm⁻¹-nél (349 nm) zavarja.

Süteményeknél (pl. túrósrétes) a sütés során keletkező különböző anyagok enyhe emelkedést okoznak az UV spektrumban 34 000–36 000 cm⁻¹ hullámszám tartományban, azonban a vanillin meghatározását nem zavarják.

I R O D A L O M

- (1) *Kostüm, Vogel, Andrussov*; Dissoziationskonstanten organischer Säuren in wässriger Lösung 1961. London
- (2) *Dr. Tóke L.*; Szerves kémiai praktikum II. Budapesti Műszaki Egyetem kézirat, Tankönyvkiadó Budapest 1980.
- (3) *Dr. Varsányi Gy.*; Fizikai kémiai III. Budapesti Műszaki Egyetem kézirat. Tankönyvkiadó Budapest 1981.
- (4) *Veress G., Pungor E.*; Az analitikai kémiai adatfeldolgozás főbb módszerei Budapesti Műszaki Egyetem kézirat. Tankönyvkiadó Budapest 1982.

VANILLIN ULTRAIBOLYA SPEKTROFOTOMETRIÁS MEGHATÁROZÁSA

Hajdú Károlyné

A vanillin lúgos oldatban, az UV és látható színek határán, jól mérhető abszorpciós maximumot ad, ami azonban a pH-értéktől erősen függ.

Az extrahálás során a szorbinsav és a benzoésav is kinyerhető a vanillinnal együtt, azonban lúgos oldatban ezek nem zavarják a vanillin meghatározását. Lehetőség van az egymás melletti meghatározásra is.

DETERMINATION OF VANILLIN BY ULTRA-VIOLET SPECTROPHOTOMETRY

Hajdú, K.

In basic solution vanillin gives a well measurable absorption maximum at the limit of UV and visible spectrum, but it strongly depends on the pH value.

Sorbic acid and benzoic acid can be extracted together with vanillin, but they do not disturb the determination of vanillin. There is a possibility for spontaneous determination, too.

УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВАНИЛИ

К. Хайду

В щелочном растворе ваниль дает хорошо измеримый максимум абсорбции на границе ультрафиолетового и видимого цветного фона, что, однако, в большой мере зависит от величины pH.

По ходу экстракции вместе с ванилью экстрагируется также сорбиновая в бензойная кислоты, однако, в щелочном растворе они не мешают определению ванили.

Таким образом, становится возможным определение содержания ванили также и в присутствии вышеуказанных кислот.

SPEKTROPHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG VON VANILLIN IM ULTRAVIOLETTEN BEREICH

K. Hajdú

Vanillin ergibt in alkalischer Lösung an der Grenze von UV und des sichtbaren Bereichs ein gut meßbares Absorptionsmaximum, das jedoch stark vom pH-Wert abhängig ist. Bei der Extraktion können die Sorbin- und Benzoesäure zusammen mit dem Vanillin gewonnen werden, die aber in der alkalischen Lösung die Bestimmung von Vanillin nicht stören. Die Möglichkeit der Bestimmung nebeneinander besteht ebenfalls.