

## Využitie derivačnej spektrofotometrie pri analýze niektorých prírodných a aditívnych zložiek potravín

MILAN SUHAJ – MILAN KOVÁČ

**S úhrn.** Predložená práca uvádza prehľad o doteraz využitých aplikáciách metódy derivačnej spektrofotometrie na stanovenie niektorých prírodných a aditívnych zložiek v potravinách. Poukazujeme na ďalšie možnosti stanovenia kyseliny sorbovej a kyseliny L-askorbovej vo vybraných potravinárskych výrobkoch, pri ktorých sme použili 1. a 2. deriváciu absorpčných UV spektier. V prípade stanovenia kofeínu v nápoji Coca-Cola sa sledoval aj vplyv poriadku derivácie na výťažnosť stanovenia.

Ultrafialové a viditeľné spektrá vzoriek komplexného zloženia obyčajne obsahujú absorpčné pásy so zjavne malým počtom informácií, ktoré by poslúžili kvantitatívnym analytickým účelom. Priama UV VIS spektrofotometria sa preto používa iba na identifikáciu a stanovenie jednoduchých jednozložkových alebo málozložkových zmesí. Derivačná spektrofotometria je naproti tomu všeobecnejšie využiteľná metóda, pretože informácie obsiahnuté v pôvodnom spektre sú transformované do novej a potenciálne viac využiteľnej podoby, ktorá umožňuje za určitých podmienok stanoviť požadované látky.

Využitie derivovaného spektra sa traduje od r. 1955, keď Giese a French [1] použili 1. deriváciu pri štúdiu spektier rastlinných pigmentov. O rok neskôr Singleton a Collier [2] patentovali využitie druhých a vyšších derivácií pri infračervenej spektrofotometrii. Plné využitie derivovaných spektier zaznamenáme však až v súčasnosti pri moderných spektrofotometrických prístrojoch vybavených mikropočítačmi. V odbornej literatúre sa objavujú aplikácie derivačnej spektrofotometrie najmä v oblasti stanovenia jednotlivých komponentov liečiv a potravín. Prehľad niektorých aktuálnych aplikácií derivačnej metódy najmä z oblasti potravinárskej analýzy uvádza tabuľka 1.

Derivácia spektra sa dosiahne diferenciáciou absorbancie podľa vlnovej

Ing. Milan Suhaj, Ing. Milan Kováč, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

Tabuľka 1. Prehľad o aplikáciách derivačnej spektrofotometrie  
Table 1. Application of the derivation spectrophotometry

Stanovovaná zložka <sup>1</sup>	Stupeň derivácie <sup>2</sup>	Vlnová dĺžka <sup>3</sup> [nm]	Literatúra <sup>4</sup>
fenacetín, acetaminofén, v liečivách	2	295	[3]
kortikosteroidy <sup>6</sup>	2	272	[4]
tetracyklíny, chinín <sup>7</sup>	1		[5, 9]
natamicín zo syrov s povrchovou plesňou <sup>8</sup>	2	290–340	[6]
norbixín, bixín farbivá na syry <sup>9</sup>	2	400–500	[7]
syntetické farbivá <sup>10</sup>	1	225–300	[8, 21, 22]
olachindox rastový preparát <sup>11</sup>	2	330–410	[10]
kofeín, teín v káve čaji, liečivách <sup>12</sup>	1	287	[11]
kys. chlorogenová v kávových výrobkoch <sup>13</sup>	2	325	[12]
malvín vo víne <sup>14</sup>	2	520–700	[13]
sacharín v nápojoch <sup>15</sup>	4	235,8	[14, 21]
kys. benzoová v potravinách <sup>16</sup>	2	250–300	[15]
dusičnany vo vodách <sup>17</sup>	2	180–250	[16]
aromatické aminokyseliny v bielkovinách	2	266–295	[17, 18]
rezíduá pesticídov tiabendazolu a karbendazímu v zelenine <sup>19</sup>	2	257–335	[19]
tokoferoly v tukoch <sup>20</sup>	2		[20]
acesulfam K v nealkoholických nápojoch <sup>21</sup>	2	227	[26]

<sup>1</sup>Component determined; <sup>2</sup>Derivation order; <sup>3</sup>Wavelength; <sup>4</sup>References; <sup>5</sup>Phenacetine, acetaminophene in pharmaceuticals; <sup>6</sup>Corticosteroids; <sup>7</sup>Tetracycline, quinine; <sup>8</sup>Natamicine in cheese with surface mould; <sup>9</sup>Norbidixine, bixine, cheese colourants; <sup>10</sup>Synthetic colours; <sup>11</sup>Olachindox, growth preparation; <sup>12</sup>Caffeine, theine in coffee, tea, pharmaceuticals; <sup>13</sup>Chlorogene acid in coffee products; <sup>14</sup>Malvine in wine; <sup>15</sup>Saccharine in drinks; <sup>16</sup>Benzoic acid in foods; <sup>17</sup>Residues of thiabendazole and carbendazim fungicides in vegetables; <sup>20</sup>Tocopherols in fats; <sup>21</sup>Acesulfam K in soft drinks.

dĺžky, t. j. graficky sa vyjadrí diferenciálny pomer  $dA/d\lambda$  pre prípad prvej derivácie,  $d^2A/d\lambda^2$  druhej derivácie atď. Derivovanie absorpčných spektier sa môže realizovať opticky, matematicky alebo elektronicky. Pri optickom spôsobe ide o techniku súčasného merania pri dvoch vlnových dĺžkach líšiacich sa malým intervalom  $\Delta\lambda$ . Takéto meranie možno získať aj moduláciou oscilujúcej vlnovej dĺžky [23]. Specord M 40 transformuje namerané UV VIS spektrá do derivovanej podoby matematicky, pričom sa využíva algoritmus tvorby derivácií podľa Savitského a Golaya po predchádzajúcom získaní spektra v digitálnej podobe [24]. Z vlastností derivovaných spektier treba uviesť najmä schopnosť eliminácie pozadia, rozptylu a zákalu z pôvodného spektra, zvýšenie citlivosti dôkazu a rozlíšenia jednotlivých zložiek v spektre [23–25]. Tieto vlastnosti predurčujú uvedenú metódu na využitie najmä pri stanovení takých zložiek v zmesi, ktoré majú v spektre izolovaný absorpčný pás.

V predloženej párci okrem prehľadu aplikácií metódy derivačnej spektrofotometrie poukazujeme na ďalšie možnosti uplatnenia metódy pri stanovení niektorých prírodných alebo aditívnych látok, ako kyseliny sorbovej, kyseliny L-askorbovej, kofeínu a teínu v niektorých vybraných typoch potravinárskych výrobkov.

## Materiál a metódy

Na stanovenie sme použili vzorky potravín z obchodnej siete. Kvapalné vzorky sme riedili 20-krát až 100-krát, filtrovali cez rýchlofilter Filtrak 388, džem a kečup sme predtým homogenizovali 3 min na zariadení Ultra-Turrax T 25 (Ika-Labortechnik) pri frekvencii  $9500 \text{ min}^{-1}$ . Spektrá sme merali pomocou spektrometra Specord M 40 (Zeiss Jena, NDR) za týchto podmienok:

použitý rozsah merania	200–310 nm
spektrálna šírka štrbiny	$0 \text{ cm}^{-1}$
integračný čas	2 s
zosilnenie	1
rýchlosť zápisu	$2 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$
Zero Adj	0
Exp Y	0,8
Exp X	$1 \text{ mm} \cdot \text{cm}^{-1}$

Matematické operácie so spektrami za účelom korekcie na stanovenie slepých pokusov, derivovanie spektier (1. a 2. derivácie) a ich násobenie (1. derivácia x 10, 2. derivácia x 80) pred záznamom sme robili pomocou programovej kazety Data Handling I. Výsledky merania sme získali z analytických čiar, ktoré sme určili metódou lineárnej regresie pre štandardné roztoky sledovaných vzoriek.

### Výsledky a diskusia

*Stanovenie kyseliny sorbovej.* Kyselina sorbová (kyselina 2,4-*trans,trans*-hexadiénová) má antimikrobiálne účinky proti plesniam a kvasinkám a najčastejšie

Tabuľka 2. Stanovenie kyseliny sorbovej derivačnou spektrofotometriou ( $n = 3$ )  
Table 2. Determination of sorbic acid by derivation spectrophotometry ( $n = 3$ )

Výrobok <sup>1</sup>	Prídavok <sup>2</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ]	Nájdenný obsah <sup>3</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ] ± $s_R$	NPK <sup>4</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ]	Výťažnosť <sup>5</sup> [%]
Olympus, nealko-nápoj <sup>6</sup>	200	195      1,43	200	97,6
džem višňový <sup>7</sup>	400	415,29      1,24	400	103,57
nálev uhorkový sladkokyslý <sup>8</sup>	800	770,27      5,43	800	96,28
Top-topic nealkoholický nápoj <sup>9</sup>	–	147,66      0	200	–
Top-topic, nealkoholický nápoj	200	356,13      0	–	104,23
Perla, pomarančový nápoj	–	152,89      3,24	200	–
Kečup, chem. nekonzervovaný <sup>11</sup>	500	607,32      22,9	500	121,5

$s_R$  – smerodajná odchýlka určená z rozpätia; Standard deviation;

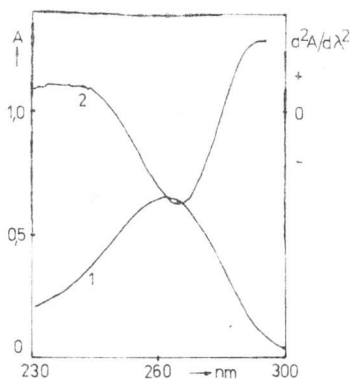
<sup>1</sup>Product; <sup>2</sup>Amount added; <sup>3</sup>Amount found; <sup>4</sup>Hygienic limit; <sup>5</sup>Recovery; <sup>6</sup>Olympus, soft drink; <sup>7</sup>Sour cherry jam; <sup>8</sup>Sweet-and-sour gherkin dressing; <sup>9</sup>Top-topic, soft drink; <sup>10</sup>Perla, orange soft drink; <sup>11</sup>Ketchup, no chem. preservatives.

tejšie sa využíva ako aditívna konzervačná látka v sirupoch, džemoch, kečupoch, horčici, syroch a v niektorých vínach. Absorbuje v UV oblasti s  $\lambda_{\max}$  pri 258 nm.

Na obrázku 1 je ukážka UV spektra a jeho druhá derivácia pre prípad stanovenia kyseliny sorbovej v nápoji Top-topic. Výsledky stanovenia kyseliny sorbovej v niektorých modelových vzorkách (nápoj Olympus, džem a sladkokyslý nálev) a nealkoholických nápojoch sú v tabuľke 2. V modelových vzor-

Obr. 1. Porovnanie absorpčného a derivovaného spektra nápoja Top-topic, riedenie 50-krát. 1 – absorpčné spektrum, 2 – jeho 2. derivácia.

Fig. 1. The comparison of the absorption and derivated spectra of the soft drink Top-topic, dilution 50 times. 1 – absorption spectrum, 2 – its 2nd derivation.



kách sme použili prídavok kyseliny sorbovej na úrovni najvyššie prípustného množstva. Z uvedených výsledkov vyplýva, že metóda dáva na sledovaných matriciách dobrú výťažnosť (96–104 %) a iba v prípade kečupu stanovenie rušil pravdepodobne vyšší obsah prirodzených farbív. V prípade nápojov Top-topic a Perla, v ktorých je kyselina sorbová prítomná ako konzervačná látka na sirupovej báze, neprekračuje zistený obsah najvyššie prípustné koncentrácie.

*Stanovnie kofeínu a teobromínu v nápojoch.* Kofeín (trimetyldioxopurín) a teobromín (dimetyldioxopurín) sú prirodzené alkaloidy kávy a čaju a používajú sa aj ako potravinárske aditíva kvôli horkej chuti. Podľa už vypracovanej metódy [11] stanovenia týchto látok sme študovali vplyv poriadku derivácie na stanovenie kofeínu v nápoji Coca-Cola aj po štandardnom prídavku (tab. 3) a stanovovali sme aj obsah tejto drogy v niektorých komerčných výrobkoch (tab. 4 a 5). Obrázok 2 znázorňuje absorpčné spektrum nápoja Coca-Cola a jeho 1. až 3. deriváciu.

Z tabuľky 3 vidíme, že na stanovenie kofeínu je najvhodnejšia 1. derivácia, ktorá dáva najlepšiu výťažnosť, kým v prípade výsledkov získaných z 3. derivácií sa výrazne prejavuje negatívny dopad šumu na stanovenie. V tabuľke 4 porovnávame nájdený obsah kofeínu v kolových nápojoch s hodnotami, ktoré uvádzajú autori [11] tiež podľa stanovení metódou GLC, pričom podľa

Tabuľka 3. Vplyv poriadku derivácie na stanovenie kofeínu v nápoji Coca-Cola ( $n = 6$ )  
Table 3. The influence of the derivation order on the determination of caffeine in Coca-Cola ( $n = 6$ )

	1. derivácia <sup>1</sup> 287 nm	2. derivácia <sup>2</sup> 277 nm	3. derivácia <sup>3</sup> 287 nm
Nájdený obsah <sup>4</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ]	120 ± 0,21	151,88 ± 1,36	99,5 ± 0,99
Nájdený obsah po štandardnom prídavku 100 mg · l <sup>-1</sup> <sup>5</sup>	218 ± 0	249 ± 0,07	177 ± 0,72
Rozdiel (výťažnosť) <sup>6</sup> [%]	97,85	97,25	78,36

<sup>1</sup>1st derivation; <sup>2</sup>2nd derivation; <sup>3</sup>3rd derivation; <sup>4</sup>Content found; <sup>5</sup>Content found after standard addition 100 mg l<sup>-1</sup>; <sup>6</sup>Difference (recovery) [%].

Tabuľka 4. Stanovenie kofeínu v kolových nápojoch, porovnanie metód ( $n = 6$ )  
Table 4. Determination of caffeine in cola drinks, comparison of the methods ( $n = 6$ )

Typ nápoja <sup>1</sup>	Nájdený obsah (derivačná spektrofotometria) <sup>2</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ± s <sub>R</sub> ]		Nájdený obsah (derivačná spektrofotometria) <sup>2</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ± s <sub>R</sub> ] [11]		Nájdený obsah (GLC) <sup>3</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ± s <sub>R</sub> ] [11]	
Pepsi-Cola	93,88	0,36	94,20	0,29	96,4	0,84
Coca-Cola	120,66	0,21	113,40	0,04	110,3	1,00

<sup>1</sup>Drink type; <sup>2</sup>Content found by derivation spectrophotometry; <sup>3</sup>Content found by GLC.

uvedených výsledkov môžeme konštatovať veľmi dobrú zhodu napriek rozdielnej výrobe toho istého nápoja.

V tabuľke 5 sú výsledky stanovenia teobromínu v komerčne dostupných čajoch podľa zistenej koncentrácie drogy po 3 minútach extrakcie do horúcej vody a filtrácii. Uvedenú metódu možno do určitého stupňa považovať za meradlo kvality čajov podľa množstva vyextrahovaného alkaloidu.

*Stanovenie kyseliny l-askorbovej.* Kyselina L-askorbová, ako zložka vitamínu C, sa v potravinárskom priemysle bežne používa ako aditívna látka najmä pri detskej výžive a výrobe nápojov. V spektre tvorí pomerne intenzívny absorpčný pás pri  $\lambda_{\max}$  263,2 nm. Tabuľka 6 uvádza príklady stanovenia kyseliny L-askorbovej pre prípad sirupu Karíbia, práškoveho nápoja Dia-Sap

Tabuľka 5. Stanovenie derivátov dioxopurínu v niektorých komerčných čajoch ( $n = 3$ )  
Table 5. Determination of dioxopurine derivatives in commercially available tea ( $n = 3$ )

Typ čaju <sup>1</sup>	Nájdenny obsah <sup>2</sup> [mg · l <sup>-1</sup> ± s <sub>R</sub> ]	
B. O. P. Black Tea, China	621,61	2,65
Rich Leaf Tea, G. B.	526,56	0
Cejlónsky čaj, Balírny obchodu, Praha <sup>3</sup>	514,52	2,36
čínsky zelený čaj, Čína <sup>4</sup>	492,53	0,29
Lyons Orange Pekoe Tea, Cejlón	490,54	2,94
Zlatá zmes, Balírny obchodu, Praha <sup>5</sup>	475,55	1,93
čínsky čaj, Čína <sup>6</sup>	428,40	4,29
Milford Aromatic Green Tea	398,01	3,98
Darjeeling, indický čaj, Balírny obchodu, Praha <sup>7</sup>	365,94	0,59
indický čaj, ZSSR <sup>8</sup>	344,08	2,36

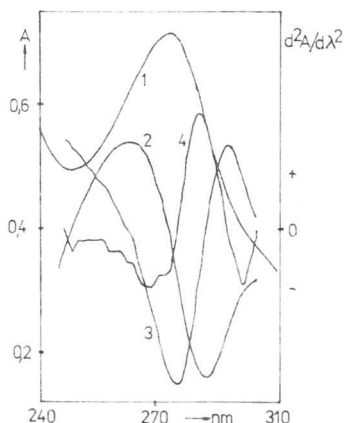
<sup>1</sup>Tea type; <sup>2</sup>Content found; <sup>3</sup>Ceylon tea, packed in Czechoslovakia; <sup>4</sup>Chinese green tea, China; <sup>5</sup>Golden mixture, packed in Czechoslovakia; <sup>6</sup>Chinese tea, China; <sup>7</sup>Darjeeling, Indian tea, packed in Czechoslovakia; <sup>8</sup>Indian tea, USSR.

Tabuľka 6. Stanovenie kyseliny L-askorbovej derivačnou spektrofotometriou ( $n = 3$ )  
Table 3. Determination of L-ascorbic acid by derivation spectrophotometry ( $n = 3$ )

Výrobok <sup>1</sup>	Nájdenny obsah <sup>2</sup> [mg · kg <sup>-1</sup> ± s <sub>R</sub> ]		Deklarovaný obsah <sup>3</sup> [mg · kg <sup>-1</sup> ]
Karíbia, citrusový sirup <sup>4</sup>	979,5	19,6	1 000
Dia Sap Lemon, práškový nápoj <sup>5</sup>	1 113,8	1,90	1 100
Dojčenská výživa jablková <sup>6</sup>	2 245,8	103,2	2000

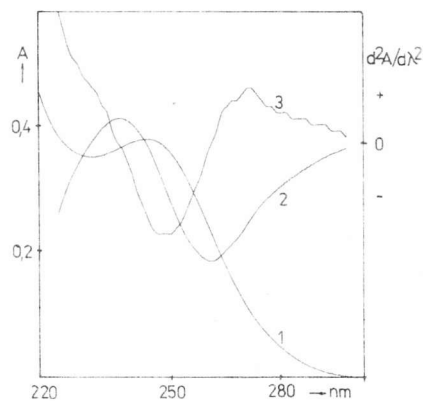
<sup>1</sup>Product; <sup>2</sup>Content found; <sup>3</sup>Content declared; <sup>4</sup>Karíbia, citrus syrup; <sup>5</sup>Dia Sap Lemon, instant drink; <sup>6</sup>Apple baby food.

(obr. 3) sladeného aspartamom a dojčenskej jablkovej výživy. Výsledky pre lepšiu orientáciu porovnávame s hodnotou, ktorá je deklarovaná na etiketách uvedených výrobkov. Na stanovenie sme použili derivácie 1. stupňa.



Obr. 2. Absorpčné a derivované spektrá nápoja Coca-Cola, riedenie 20-krát. 1 – absorpčné spektrum, 2 – 1. derivácia, 3 – 2. derivácia, 4 – 3. derivácia.

Fig. 2. Absorption and derivated spectra of Coca-Cola, dilution 20 times. 1 – absorption spectrum, 2 – 1st derivation, 3 – 2nd derivation, 4 – 3rd derivation.



Obr. 3. Absorpčné a derivované spektrá nápoja Dia Sap Lemon, 0,4 g . l<sup>-1</sup>. 1 – absorpčné spektrum, 2 – 1. derivácia, 3 – 2. derivácia.

Fig. 3. Absorption and derivated spectra of the soft dring Dia Sap lemon, 0,4 g . l<sup>-1</sup>. 1 – absorption spectrum, 2 – 1st derivation, 2 – 2nd derivation.

## Záver

Z uvedených výsledkov aplikácie metódy derivačnej spektrofotometrie, ako aj z prehľadu v tabuľke 1 môžeme konštatovať, že meranie derivovaných spektier sa stáva vďaka pokroku v prístrojovom vybavení a čoraz väčšej dostupnosti tejto techniky modernou analytickou metódou, ktorá sa pre svoju jednoduchosť a rýchlosť bude čoraz viac uplatňovať aj v potravinárskej analýze. Uvedené príklady analýz majú byť impulzom pre rozpracovanie načrtnutých spôsobov využitia derivovaných spektier aj v oblasti analýzy ďalších prírodných a aditívnych látok v požívatinách.

## Literatúra

1. GIESE, A. T. – FRENCH, C. S., Appl. Spectrosc., 9, 1955, s. 78.
2. SINGLETON, F. – COLLIER, G. L., Brit. 760, 1956, 729.
3. KORANY, M. A., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 69, 1986, s. 608.



4. FAWZY, A. E., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 69, 1986, s. 614.
5. ABDEL, A. W., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71, 1988, s. 625.
6. RIEDL, R. – LUF, W. – BRANDL, E., Z. Lebensm. – Unters. Forsch., 179, 1984, s. 394.
7. LUF, W. – BRANDL, E., Z. Lebensm. – Unters. Forsch., 186, 1988, s. 327.
8. HEWLETT-PACKARD UV-VIS Application Brief, 9, 1985.
9. AMER, M. M., Anal. Lett., 21, 1988, s. 773.
10. BOTSOGLOU, N. a kol., J. Agric. Food Chem., 33, 1985, s. 907.
11. ABDEL-MOETY, E. M., Z. Lebensm. – Unters. Forsch., 186, 1988, s. 412.
12. HUMHREY, C. J. – MACRAE, R., Int. Analyst, 1, 1988, 29, s. 31.
13. CREUS, J. M. – LOPEZ, J. – POVEDA, T., An. Bromatol., 35, 1985, s. 9.
14. GEPPERT, H., Lebensmittelindustrie, 34, 1987, s. 82.
15. SIMAL, J. – LOPEZ, J., An. Bromatol., 34, 1984, s. 103.
16. SIMAL, J. – LAGE, M. A., – IGLESIAS, I., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 68, 1985, s. 962.
17. BALESTRIERI, C. a kol., Eur. J. Biochem., 90, 1978, s. 433.
18. ICHIKAWA, T. – TERADA, H., Biochim. Biophys. Acta, 580, 1979, s. 120.
19. GARCIA, S. F. – GRUCES, B. C., Anal. Chem., 60, 1988, s. 323.
20. BUKOVITS, G. J. – LEZEROVICH, A., J. Am. Oil. Chem. Soc., 64, 1987, s. 517.
21. TALSKY, G. – GOETZ, M. S. – BETZ, H., Mikrochim. Acta, 112, 1982, s. 1.
22. SASAKI, H., J. Food Hyg. Soc. Jap., 20, 1980, s. 93.
23. ANZENBACHER, P. – HUDEČEK, J., Chem. Listy, 75, 1981, s. 180.
24. Spektrofotometr Specord M 40 – návod. Ostrava, Dům techniky ČSVTS, 1986.
25. OWEN, T., Int. Lab., 17, 1987, s. 58.
26. SUHAJ, M. – KOVÁČ, M., Bull. PV 7, 1988, č. 3–4, s. 395.

Do redakcie došlo 27. 12. 1988

### **Использование метода деривационной спектрофотометрии для анализа некоторых натуральных и аддитивных компонентов пищевых продуктов**

#### **Резюме**

Работа приводит обзор о до сих пор использованных применениях метода деривационной спектрофотометрии для определения некоторых натуральных и аддитивных компонентов в пищевых продуктах. Авторы показывают и другие возможности определения сорбиновой и аскорбиновой кислот в отборных пищевых продуктах, для которых применили деривацию первого и второго порядка абсорбционных УВ спектров. Для определения кофеина в напитку Кока-кола авторы наблюдали тоже за влиянием порядка деривации на степень извлечения определения.

## **Use of derivation spectrophotometry in the analysis of some natural food components and food additives**

### **Summary**

The paper gives a review of the so far used applications of derivation spectrophotometry for the determination of some natural food components and food additives in foods. The possibilities of the determination of sorbic and L-ascorbic acids in some food products are shown, where the 1st and 2nd derivations of the UV absorption spectra have been used. In case of the caffeine determination in Coca-Cola, the influence of the derivation order on the recovery of the determination has been studied as well.