

LECH RODZIEWICZ¹⁾, EWA KULIKOWSKA²⁾

OZNACZANIE KWASU BENZOESOWEGO
W NAPOJACH BEZALKOHOLOWYCH GAZOWANYCH METODĄ
CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

BENZOIC ACID DETERMINATION IN SOFT DRINKS
WITH GAS BY THE HPLC METHOD

¹⁾Zakład Higieny Weterynaryjnej
15-959 Białystok, ul. Zwycięstwa 26a
Kierownik: dr M. Hołub

²⁾Laboratorium Kontroli Jakości
Białostockich Zakładów Przemysłu Owocowo-Warzywnego
Kierownik: inż. E. Kulikowska

*W pracy przedstawiono szybką metodę oznaczania zawartości kwasu benzo-
esowego w napojach bezalkoholowych gazowanych z zastosowaniem wysoko-
sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).*

Kwas benzoesowy jest stosowany w napojach gazowanych bezalkoholowych jako środek konserwujący zapobiegający powstawaniu pleśni i drożdży. Polska Norma [7] zezwala na dodawanie kwasu benzoesowego i jego soli do napojów bezalkoholowych gazowanych zawierających naturalne lub identyczne z naturalnymi składniki smakowo aromatyczne i barwniki w ilościach nie przekraczających 200 mg/l.

Do oznaczenia kwasu benzoesowego w produktach spożywczych stosowana jest najczęściej metoda miareczkowa, kolorymetryczna, chromatografia gazowa i chromatografia cieczowa. Metoda miareczkowa i kolorymetryczna jest obowiązująca w kraju i opublikowana w Polskich Normach [8]. Obie te metody są pracochłonne i uciążliwe. Pierwsza metoda polega na miareczkowaniu po ekstrakcji chloroformem, a druga jest oparta na zmodyfikowanej reakcji *Mohlera* po ekstrakcji eterem.

Stosowane obecnie metody chromatografii gazowej [1, 3, 6] polegają na przekształceniu kwasu benzoesowego w pochodne metylowe. Metoda ta nie pozwala na bezpośrednie oznaczenia kwasu benzoesowego, co stwarza pewne trudności analityczne.

Korzystniejszym rozwiązaniem jest stosowanie metody chromatografii cieczowej w tzw. fazach odwróconych z zastosowaniem kolumn z żelom krzemionkowym modyfikowanym długołańcuchowymi węglowodorami alifatycznymi: C-8 i C-18 [2, 4, 5]. Ta odmiana chromatografii cieczowej nie wymaga dużych ilości rozpuszczalników organicznych, które dodawane są jako modyfikatory fazy wodnej. Proces przygotowania próbki do analizy jest bardzo prosty i polega na odgazowaniu, przesączeniu, a następnie oczyszczeniu przez ekstrakcję, destylację z parą wodną lub na kolumnach Ekstralut.

Celem pracy było ustalenie optymalnych parametrów do oznaczenia kwasu benzoowego w napojach bezalkoholowych gazowanych metodą chromatografii cieczowej przy użyciu detektora UV i kolumny z odwróconą fazą typu C-18.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Kwas benzoowy oznaczano w próbkach napojów gazowanych bezalkoholowych konserwowanych benzoianem sodu w ilości 200 mg/l [7] oraz w próbkach bez dodatku konserwanta.

Zasada metody

Ekstrakcję benzoianu sodowego w napojach gazowanych przeprowadzano eterem etylowym po uprzednim odgazowaniu próbki. Rozdział związku prowadzono na kolumnie z odwróconą fazą, a pomiar przy pomocy chromatografu cieczowego wyposażonego w detektor UV.

Odczynniki: 1/ kwas benzoowy cz. d. a., 2 / eter etylowy, 3/ roztwór kwasu siarkowego (1/5, V/V), 4/ faza ruchoma o składzie acetonitryl – woda podwójnie destylowana przesączona przez filtr 45 μ m (40 / 60, V/V).

Aparatura i sprzęt laboratoryjny: 1/ chromatograf cieczowy firmy Hewlett Packard model 1050 z detektorem UV-VIS i z pętlą dozująca 20 μ l, 2/ kolumna chromatograficzna firmy Hewlett Packard LiChrospher 100 RP-18 5 μ m, 125 \times 4 mm (nr kat. 79925 OD-564), 3/ butla ze sprężonym azotem, 4/ drobne szkło laboratoryjne (próbówki, pipety i rozdzielacze).

Roztwory wzorcowe:

1/ roztwór podstawowy kwasu benzoowego w eterze etylowym 1 mg/ml

2/ roztwór roboczy o stężeniach 0,1, 0,2 i 0,3 mg/ml sporządzano z pominięciem procesu ekstrakcji w następujący sposób: do 3 próbek dodawano kolejno 1, 2, 3 ml roztworu podstawowego i odparowywano w strumieniu azotu do sucha. Pozostałość rozpuszczano w 10 ml fazy ruchomej.

Przygotowanie próbek

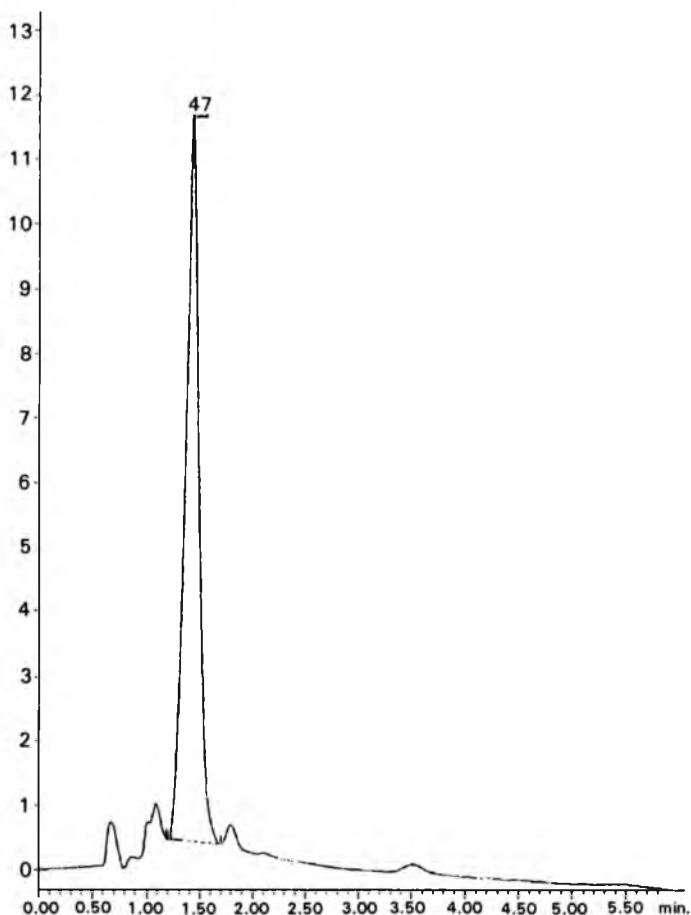
Do rozdzielacza o pojemności 100 ml przenoszono 10 ml odgazowanego napoju i dodawano 0,2 ml roztworu kwasu siarkowego (1/5) i ekstrahowano eterem etylowym (2 \times 25 ml). Z połączonych ekstraktów pobierano 5 ml eteru etylowego i zagęszczano w próbkach do sucha w strumieniu azotu. Suchą pozostałość rozpuszczano w 10 ml fazy ruchomej. Przygotowane roztwory robocze i próbki badane analizowano używając chromatografu cieczowego wyposażonego w detektor UW-VIS przy długości fali 254 nm i kolumnę odwróconej fazy LiChrospher 100 RP-18. Przez kolumnę przepuszczano fazę ruchomą z szybkością 1 ml / min. Stężenie kwasu benzoowego odczytywano z krzywej wzorcowej i wyniki mnożono przez 10.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Opracowana metoda ekstrakcji, zastosowana kolumna LiChrospher 100 RP-18 i skład fazy ruchomej acetonitryl /woda (40/60) umożliwiając oznaczenie kwasu benzoowego w napojach bezalkoholowych gazowanych. Typowy chromatogram próbki napoju pomarańczowego po dodaniu kwasu benzoowego przedstawiono na ryc. 1.

W celu weryfikacji opracowanej metody oznaczania kwasu benzoowego przeprowadzono badania wewnątrz laboratoryjne, wyznaczając wskaźniki precyzji i dokładności metody. W tym celu dodano do próbek napoju pomarańczowego 100, 200, 300, mg/l kwasu benzoowego. Wyniki tych badań zebrano w tab. I.

Ocena statystyczna metody, wykonana na podstawie badań wewnątrz laboratoryjnych, wskazuje na przydatność opracowanego postępowania analitycznego do oznaczania kwasu benzoowego w napojach bezalkoholowych. opracowaną metodą wyko-



Ryc. 1. Chromatogram próbki napoju pomarańczowego „Ptyś” konserwowanego benzoianem sodu w ilości 200 mg/l.

Chromatogram of a sample of orange juice drink „Ptyś” with sodium benzoate as a preservative in concentration of 200 mg/l.

Tabela I. Ocena statystyczna metody oznaczania kwasu benzoowego w próbkach soku pomarańczowego
Statistical analysis of the method of benzoic acid determination in samples of orange juice

Wskaźniki precyzji i dokładności	Wzmocnienie mg/l		
	100	200	300
Liczba oznaczeń, n	7	7	7
Średnia arytmetyczna, mg/l	95,1	190	288
Odchylenie standardowe, mg/l	2,8	5,4	7,1
Współczynnik zmienności, %	2,9	2,8	2,5*
Średni odzysk, %	95	95,2	96,1

nano rutynowe oznaczenia w siedmiu różnych asortymentach napojów bezalkoholowych „Ptyś produkowanych przez Białostockie Zakłady Przemysłu Owocowo-Warzywnego, które były konserwowane benzoesanem sodu w ilości 200 mg/l. Otrzymane wyniki mieściły się w zakresie 178 – 205 mg/l.

L. Rodziewicz, E. Kulikowska

BENZOIC ACID DETERMINATION IN SOFT DRINKS WITH GAS BY THE HPLC METHOD

Summary

A method for benzoic acid determination in soft drinks by liquid chromatography using UV detector is presented. The method makes the possibility of benzoic acid determination with recovery about 95 % and with variability index about 2.6%.

PIŚMIENNICTWO

1. AOAC Official Method of Analysis: Benzoic acid and sorbic acid in food., 1990, 1143. – 2. *Baker J. T.* Bakerbond Application Notes: Simultaneous extraction of caffeine, saccharin and sodium benzoate from Diet Cola for HPLC. – 3. *Giryn H., Gruszczyńska Z.*: Zastosowanie chromatografii gazowej do oznaczania kwasu benzooesowego i sorbowego w napoju pomarańczowym i koncentracie pomidorowym. Roczn. PZH 1990, 41, 217. – 4. *Larsson B.*: Gas-liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acid in food.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1983, 66, 775 – 5. *Lenenberger M., Gauch R.*: Determination of food preservatives and saccharin by high-performance liquid chromatography. J. Chromat. 1979, 173, 343. – 6. *Gossel J. A.*: Gas chromatography determination of preservatives in food. J. Chromat. 1971, 63, 429. – 7. Polska Norma PN-93/A-79032. Napoje bezalkoholowe gazowane. – 8. Polska Norma PN-62/A-04016. Oznaczanie kwasu benzooesowego.

Otrzymano: 1996.01.29