



SÜDZUCKER

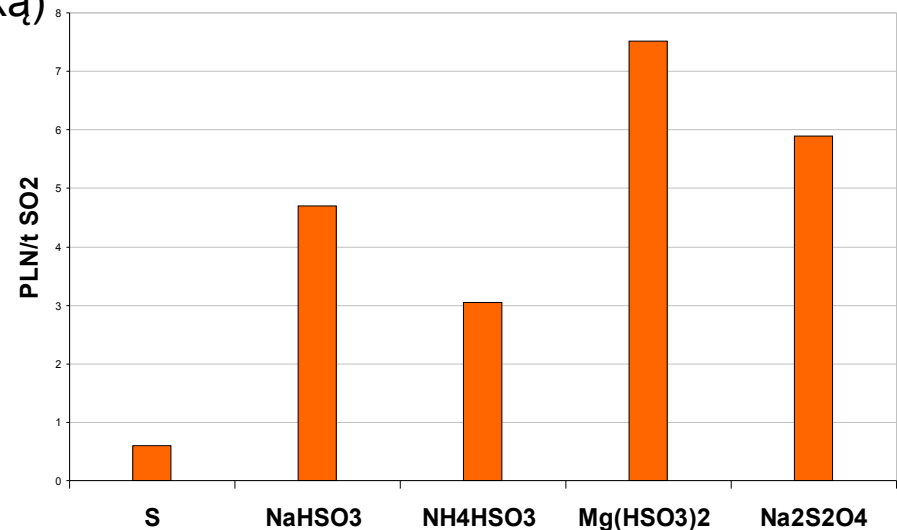


# Metody oznaczania dwutlenku siarki w produktach cukrowniczych

dr Dagmara Wojtków  
SZP



- Początki stosowania dwutlenku siarki do przerobu buraków sięgają pierwszej połowy XIX wieku.
- **Cel:**
  - denaturacja ścian komórkowych, dezaktywacja inwertazy buraczanej, hamowanie wzrostu bakterii, zmniejszenie zabarwienia surowego soku, regulacja pH (woda świeża, sok recykulacyjny)
  - redukcja zabarwienia soku rzadkiego, zmniejszenie przyrostu zabarwienia soku na wyparce, obniżenie zabarwienia cukru, redukcja energii cieplnej – wody do zabielenia (sok rzadki przed wyparką)
- **Źródła SO<sub>2</sub>:**
  - SO<sub>2</sub> ciekły/ gazowy
  - Wodorosiarczany (ciekłe)
    - NaHSO<sub>3</sub>
    - NH<sub>4</sub>HSO<sub>3</sub>
    - Mg(HSO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>
    - Ca(HSO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>



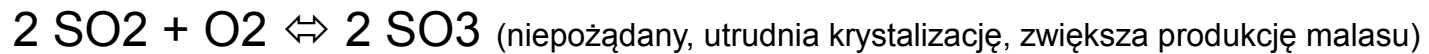


- **SO<sub>2</sub> gazowy**

- Potrzebny piec do procesu spalania siarki:



W pewnym stopniu zachodzi druga reakcja:



- **SO<sub>2</sub> ciekły**

- Problemy z transportem, duże koszty bezpiecznego przewożenia, rozładowywania i magazynowania.

- **NaHSO<sub>3</sub>**

- Nie wymaga specjalnych warunków magazynowania
- Bez właściwości zakwaszających



- Właściwości melasotwórcze (NaOH)



## ▪ NH<sub>4</sub> HSO<sub>3</sub>

- Nie wymaga specjalnych warunków magazynowania
- Właściwości zakwaszające po odparowaniu NH<sub>3</sub>  
 $\text{NH}_4\text{HSO}_3 \Leftrightarrow \text{SO}_2 + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
- Powoduje spadek pH w wyparce
- Mniejsza melasotwórczość
- Emisja NH<sub>3</sub>:
  - 100 g SO<sub>2</sub>/t b. => 24 g NH<sub>3</sub>/t b.





- Dwutlenek siarki w postaci jonu siarczanowego może reagować ze związkami karboksylowymi tworząc wodorosiarczyny; jeśli sferyczna przeszkoda nie jest zbyt duża reaguje z aldehydami i ketonami (glukoza, fruktoza) - reakcja odwracalna.
- Siarczyny mogą ulegać hydrolizie kwasowej lub zasadowej. Mogą być rozłożone poprzez ogrzewanie.
- W oparciu o powstawanie wodorosiarczanów jony siarczanowe mogą blokować powstawanie barwnych związków Millarda (redukcja koloru substancji barwnych do bezbarwnych związków)
- Niektóre ketony zawierające duże grupy mogą nie być podatne na atak nukleofilowy poprzez jon siarczanowy => niekompletne odbarwianie
- Niektóre reakcje pośrednie mogą zablokować grupę SO<sub>2</sub> (zachodzą barwne reakcje Maillarda)
- Reakcja siarczynów z grupami NO<sub>2</sub>- powoduje wzrost zawartości popiołu.



## Wymagania dotyczące zawartości SO<sub>2</sub> w cukrze:

- wg specyfikacji SZP maksymalna ilość to 10 g SO<sub>2</sub>/t WS,
- wg specyfikacji klienckich maksymalna ilość to 6 g SO<sub>2</sub>/t WS,
- stosowanie dawki do 45 g SO<sub>2</sub>/t b. gwarantuje zawartość poniżej 6 g SO<sub>2</sub>/t WS.

## Wymagania dotyczące zawartości SO<sub>2</sub> w melasie:

- Brak aktualnych aktów prawnych (PN z 1968r dopuszcza 1000ppm w melasie klasy I)
- Stwierdzono, że:
  - zawartość > 400 g SO<sub>2</sub>/t melasu hamuje fermentację alkoholową,
  - zawartość > 300 g SO<sub>2</sub>/t melasu wpływa szkodliwie na drożdże,
  - stosowanie dawki do 50 g SO<sub>2</sub>/t b. powinno zabezpieczyć przed przekroczeniem 300 g SO<sub>2</sub>/t melasu.



**W przemyśle cukrowniczym zawartość dwutlenku siarki określana jest przy użyciu następujących metod:**

- metoda z rozaniliną
- metoda enzymatyczna
- metoda Monier'a-Williams'a





- Metoda ta jest oparta na reakcji dwutlenku siarki i rozaniliny odbarwionej kwasem solnym w obecności formaldehydu.
- Dzięki tej reakcji powstaje nowy fioletowy związek. Ilościowe oznaczanie dwutlenku siarki odbywa się przy ekstynkcji 560 nm.
- Do obliczeń wymagane jest sporządzenie krzywej wzorcowej.





1. Rozpuścić 10 - 40 g próbki w wodzie destylowanej
2. Dodać 4 ml roztworu wodorotlenku sodu  $c = 0,1 \text{ mol / l}$  i rozcieńczyć roztwór próbki wodą do 100 ml
3. Przenieść 10 ml tego roztworu do probówki, dodać 2 ml odbarwionego roztworu rozaniliny i 2 ml roztworu aldehydu mrówkowego ( $\beta = 0,2 \text{ g/100 ml}$ )
4. Po 30 min zmierzyć absorbancję przy liczbie falowej 560 nm (z wykorzystaniem kuwety optycznej o długości 1 cm)
5. Dla cukru białego – kuwetę odniesienia uzupełnić wodą destylowaną.



**Wartość precyzji** wyznaczona na podstawie analizy cukru białego o średniej zawartości dwutlenku siarki: 15,9 mg / kg (badanie ICUMSA).

Powtarzalność  $r = 3,2$  mg / kg

Odtwarzalność  $R = 11,2$  mg / kg.

## Uwagi:

- **Metoda nie jest odpowiednia dla analizy ciemnych roztworów.**
- Rozanilina ma wysoki potencjał zagrożenia (R 45 - może powodować raka).

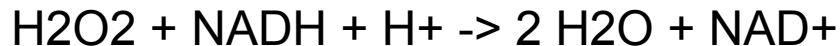




- Siarczyn utlenia się do siarczanu przez siarczyn monoaminooksydazy (SO<sub>2</sub>-OD) w obecności tlenu:



- Nadtlenek wodoru powstający w tej reakcji jest ograniczony przez enzym NADH-peroksydazę (NADH-POD) w obecności zredukowanego nikotynamid-dwunukleotydu (NADH)



- NADH utlenia się w tej stechiometrycznej reakcji do siarczynu i alternatywnie do dwutlenku siarki. NADH jest mierzony przy długości fali 365 nm (alternatywne długości fal: 334 nm, 340 nm)
- Utworzony nadtlenek wodoru nie reaguje z pozostałym siarczynem.



1. Wymieszać próbkę cukru
2. Rozpuścić próbkę cukru w wodzie przez obracanie (ok. 30 g/100 ml)
3. Przeprowadzić oznaczenie zgodnie z instrukcjami producenta testu
4. Jeżeli stężenie dwutlenku siarki jest bardzo niskie, dodać maksymalną, dopuszczoną przez test objętość roztworu próbki i wykonać analizę bez dodania wody.

# Wykonanie analizy:



SÜDZUCKER

pipette into the optical cell (1 cm)	Blank	sample
solution 1 (NADH)	1.0 ml	1.0 ml
sample solution		2 ml
water (redist)	2.0 ml	
suspension 3 (NADH-POD)	0.01 ml	0.01 ml

**Wymieszać (plastikową pipetką) i po 2 min odczytać absorbcję A1.**

**Rozpocząć reakcję poprzez dodanie:**

pipette into the optical cell (1 cm)	Blank	sample
suspension 4 (SO <sub>2</sub> -OD)	0.05 ml	0.05 ml

**Wymieszać (plastikową pipetką), poczekać na zakończenie reakcji (ok 30 min) i odczytać absorpcję A2.**



- Jeśli absorpcja A2 stale maleje, należy ekstrapolować ekstynkcję do czasu poprzez dodanie zawiesiny 4 (siarczyn monoaminooksydazy)
- Należy określić różnice absorpcji (A1-A2) dla obu prób: ślepej i próbki właściwej
- Obliczyć  $\Delta E$  (dwutlenek siarki) poprzez odjęcie różnic absorpcji (próbka właściwa - próbka ślepa)
- Zmierzona różnica absorpcji powinna wynosić co najmniej 0,1 jednostki absorpcji w celu uzyskania precyzji wyników.
- Jeżeli różnica absorpcji próbki jest większa niż 1,0 (mierzona przy 365 nm), stężenie dwutlenku siarki jest zbyt wysokie. Roztworu próbki należy rozcieńczyć.



$$C = \frac{V \cdot MW}{\varepsilon \cdot l \cdot \nu \cdot 1000} \cdot \Delta E$$

C – SO<sub>2</sub> w g/l roztworu próbki

V – końcowa objętość; 3,06 ml

MW- masa molekularna oznaczanej substancji (64,06 g/mol)

l – długość kuwety w cm

E – współczynnik ekstynkcji NADPH (przy liczbie falowej 365 nm E = 3,4 l/(mmol\*cm))

**Uwaga: Próbka została rozcieńczona podczas przygotowywania, więc wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczania.**



- Granica wykrywalności: 1 mg / kg  
(objętość próbki 2 ml; stężenie próbki 30 g/ 100 ml)
- Metoda nie jest odpowiednia dla ciemnych roztworów.





- Zarówno wolne jak i związane siarczyny takie jak produkty addycji karbonylowej mogą być oznaczone według tej metody.
- Ogrzewanie próbki kwasem solnym powoduje konwersję wolnego i związanego siarczynu do dwutlenku siarki.
- Dwutlenek siarki jest transportowany przez strumień azotu do roztworu nadtlenu wodoru.
- Przez nadtlenek wodoru, dwutlenek siarki utlenia się do kwasu siarkowego.
- Ilość wytworzonego kwasu siarkowego jest równoważna ilości dwutlenku siarki.
- Liczba utworzonego kwasu siarkowego jest określona przez miareczkowanie roztworem wodorotlenku sodu.



1. Wypełnić wkraplacz kwasem solnym  $c = 4 \text{ mol/l}$
2. Dodać 400 ml wody do kolby okrągłodennej
3. Napęlnić zbiornik z nadtleniem wodoru zawierającym czerwień metylową jako wskaźnik (pH doprowadza się do pH 5,8 za pomocą roztworu wodorotlenku sodu  $c = 0.01 \text{ mol / l}$ ; roztwór jest żółty)
4. Włączyć chłodzenie skraplacza
5. Układ przepłukać azotem przez około 15 min (wyregulować przepływ na około 200ml/min)
6. Powyżej wkraplacza z kwasem solnym ustawić delikatne ciśnienie



1. Sporządzić roztwór woda/ etanol (950/50 v/v)
2. Przenieść około 50 g próbki do zlewki
3. Wymieszać próbkę z 100 ml roztworu woda/ etanol
4. Usunąć wkraplacz i ilościowo przenieść roztwór próbki w kolbie (w atmosferze azotu)
5. Umieścić wkraplacz na kolbie z roztworem próbki
6. Kwas solny powinien płynąć do kolby z roztworem próbki (jeśli to konieczne, należy zwiększyć ciśnienie azotu)
7. Zatrzymać dodawanie kwasu solnego przed ostatnimi 5 ml kwasu solnego
8. Ogrzewać roztwór przez 90 min w taki sposób, że 80 - 90 kropli / min kondensatu będzie wracać ze skraplacza do kolby
9. Po zakończeniu ogrzewania należy usunąć naczynie z roztworem nadtlenku wodoru (kolor roztworu zmienił się na czerwony, jeżeli roztwór nadtlenku wodoru zawiera kwasu po procesie)
10. Natychmiast miareczkować roztwór nadtlenku wodoru z roztworem wodorotlenku sodu do żółtego punktu końcowego, który utrzymuje się dłużej niż 20 sekund

- Obliczyć zawartość dwutlenku siarki w mg / kg:

$$\text{SO}_2 \text{ (mg / kg)} = (32,03 * V * 1000 * N) / m$$

32.03 = milirównoważnik masy dwutlenku siarki (mg / mmol)

V = zużycie roztworu wodorotlenku sodu w ml

N = stężenie roztworu wodorotlenku sodu c = 0,01 mol / l

m = masa próbki w gramach wprowadzona do kolby okrągłodennej

1000 = współczynnik konwersji g na kg



**Precyzja** została wyznaczona w oparciu o badania *The Association of Official Analytical Chemists* nad kukurydzą o średniej zawartości dwutlenku siarki na poziomie 9,2 mg / kg.

- Powtarzalność  $r = 3,7$  mg / kg
- Odtwarzalność  $R = 4,0$  mg / kg
- Metoda nie jest odpowiednia dla małej zawartości dwutlenku siarki (<10 mg / kg). Zużycie roztworu wodorotlenku sodu powinno być większe niż 1 ml.



1. Wprowadzanie siarki do produkcji cukru wymaga kontroli zawartości dwutlenku siarki w produktach cukrowniczych.
2. Dwutlenek siarki w cukrze i produktach o jasnej barwie możemy oznaczać metodą z rozaniliną i metodą enzymatyczną.
3. Dla melasu, soków, odcieków wyznaczając zawartość dwutlenku siarki możemy stosować metodę Moniera Williamsa.
4. Zawartość dwutlenku siarki w cukrze nie może przekraczać 10 mg/kg (wymagania prawne) i/lub 6 mg/kg (wymagania klientowskie).



SÜDZUCKER

**Dziękuję za uwagę**