

# STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU OXIDU SIŘIČITÉHO A PODÍLU JEHO VOLNÉ FORMY V CITRONOVÉ ŠŤÁVĚ A OCHUCOVADLECH NA JEJÍ BÁZI

## DETERMINATION OF THE TOTAL CONTENT OF SULFUR DIOXIDE AND THE PROPORTION OF ITS FREE FORM IN LEMON JUICE AND FLAVORINGS BASED ON IT

Jan Pospíšil<sup>1</sup> – Kateřina Debreczeniová<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie  
FVHE, VETUNI, Palackého třída 1, 612 42 Brno

<https://doi.org/10.11118/978-80-7509-996-9-0297>



### ABSTRAKT

Tato práce se zabývá srovnáním celkového obsahu SO<sub>2</sub> a množstvím jeho volné formy, která je odpovědná za antibakteriální a antioxidační vlastnosti SO<sub>2</sub> v potravině. Předmětem výzkumu byly citronové šťávy a ochucovadla na jejich bázi, dostupná v tržní síti ČR. Celkem 22 výrobků bylo rozděleno do 2 skupin, na produkty ošetřené přídavkem SO<sub>2</sub> (n=10) a produkty bez přídavku SO<sub>2</sub> (n=12). Analýza byla prováděna spektrofotometricky s využitím analytických setů K-TSULPH a K-FSULPH (Megazyme Ltd., IE). Celkový obsah SO<sub>2</sub> v ošetřených výrobcích se pohyboval mezi 37–364 mg.l<sup>-1</sup>, volná forma pak byla přítomna v množství 20–186 mg.l<sup>-1</sup>. U 20 % vzorků byl podíl volné formy velmi nízký, přestože celkový obsah SO<sub>2</sub> byl značný. Byl prokázán statisticky významný rozdíl (p < 0,05) v celkovém obsahu SO<sub>2</sub> mezi sířenými a nesířenými výrobky. Legislativní limit 350 mg.l<sup>-1</sup> byl překročen pouze u 1 vzorku, kdy stanovená hodnota činila 364 ± 6 mg.l<sup>-1</sup>.

*Klíčová slova: siřičitany, ovocné šťávy, volné siřičitany, Ellmanovo činidlo*

### ABSTRACT

This work deals with the comparison of the total content of SO<sub>2</sub> and the amount of its free form, which is responsible for the antibacterial and antioxidant properties of SO<sub>2</sub> in food. The subject of the research was lemon juice available on the Czech market and flavorings based on it. Twenty-two products were divided into 2 groups: SO<sub>2</sub> treated products (n=10) and SO<sub>2</sub> free products (n=12). The analysis was performed spectrophotometrically using analytical sets K-TSULPH and K-FSULPH (Megazyme Ltd., IE). Total content of SO<sub>2</sub> in treated products ranged between 37–364 mg.l<sup>-1</sup>, while the free form was present in the amount of 20–186 mg.l<sup>-1</sup>. In 20% of the samples, the proportion of its free form was very low, even though the total SO<sub>2</sub> content was considerable. Statistically significant difference (p < 0.05) was demonstrated in the total SO<sub>2</sub> content between the treated and non-treated products. The legislative limit of 350 mg.l<sup>-1</sup> was exceeded only in one sample, when the determined value was 364 ± 6 mg.l<sup>-1</sup>.

*Keywords: sulfites, fruit juices, free sulfites, lemon seasonings, Ellman's reagent*

## ÚVOD / INTRODUCTION

Citronová šťáva a ochucovadla založená na jejím základě mají v potravinářské výrobě a gastronomii celou řadu využití. Používá se například při výrobě některých druhů pečiva, jako složka polev v cukrárenské výrobě, či při výrobě zmrzliny. V naší práci jsme se však zaměřili na komerčně prodávané citronové šťávy a ochucovadla, používaná koncovým spotřebitelem k přípravě studených nápojů, dochucení čajů, salátových zálivek, omáček, či masných jídel. Vzhledem k přirozeně vysokému obsahu vody podléhá citronová šťáva poměrně rychle zkáze, pokud není v průběhu výroby ošetřena tepelným záhřevem, přidavkem konzervačních látek, či jiným typem technologie s konzervačním účinkem (např. ošetření pulzním elektrickým polem apod.). U citrusových šťáv dochází v důsledku snadné oxidace k neenzymatickému hnědnutí, které má nepříznivý vliv na chuť a barvu produktu. Stárnutím výrobku se může toto zabarvení dále zintenzivňovat (Bayati et al., 2020). Ztráta přirozené barvy a chuti je spojena i s tepelným ošetřením, proto se často volí kombinace spíše šetrného záhřevu doplněná o použití konzervačních látek. Mezi hojně užívané konzervanty v oblasti ovocných šťáv patří kromě benzoanu sodného a sorbanu draselného zejména oxid siřičitý. Výhodou oxidu siřičitého (dále  $\text{SO}_2$ ) je kromě vlastního konzervačního účinku jeho schopnost inhibovat enzymově katalyzované reakce i reakce neenzymatického hnědnutí, a tím potlačit změny barvy potravinové matrice během výroby i následného skladování hotového produktu (Adams, 1997). Při aplikaci  $\text{SO}_2$  je třeba si uvědomit, že část volných iontů bude v průběhu životnosti výrobku interagovat se složkami potravinové matrice, čímž může jeho účinek v čase výrazně klesat (Miranda et al., 2009). Proto jsme se v rámci pokusu zaměřili nejen na stanovení celkového obsahu  $\text{SO}_2$  (dále T- $\text{SO}_2$ , z anglického Total  $\text{SO}_2$ ), ale i na kvantifikaci jeho aktivní volné formy (dále F- $\text{SO}_2$ , z anglického Free  $\text{SO}_2$ ). Použití  $\text{SO}_2$  je regulováno evropskou legislativou, konkrétně Nařízením 1333/2008, ve kterém jsou uvedeny podmínky použití a hodnoty nejvyššího přípustného množství (dále NPM) T- $\text{SO}_2$  pro dané kategorie potravin a dále Nařízením 1169/2011, ze kterého vyplývá povinnost výrobce uvádět na obale přítomnost  $\text{SO}_2$  a siřičitanů jako alergenů, při koncentracích vyšších než  $10 \text{ mg.l}^{-1}$ . Hodnoty NPM pro celkový obsah  $\text{SO}_2$  v citronových a limetkových šťávách jsou  $350 \text{ mg.l}^{-1}$  a pro ochucovadla na bázi citrusových šťáv  $200 \text{ mg.l}^{-1}$ .

## MATERIÁL A METODIKA / MATERIAL AND METHODS

Pro stanovení vybraných parametrů (celkový obsah oxidu siřičitého, obsah volné formy  $\text{SO}_2$ ) bylo vybráno celkem 22 různých výrobků, rozdělených do dvou kategorií. První kategorie – Sířené citronové šťávy a ochucovadla – obsahovala celkem 10 vzorků, u nichž výrobce deklaroval použití oxidu siřičitého. Druhá kategorie – Nesířené citronové šťávy a ochucovadla – pak obsahovala celkem 12 vzorků nesířených výrobků. Celkový obsah  $\text{SO}_2$  a podíl jeho volné formy ve zvolené matrici byl stanovován pomocí komerčních analytických setů K-TSULPH a K-FSULPH (Megazyme Inc, IE). Z důvodů vyšší těkavosti analytu (zejména u volné formy  $\text{SO}_2$ ) byla analýza prováděna bezprostředně po otevření a homogenizaci výrobků. Vlastní spektrofotometrická analýza probíhala na přístroji Specord 200 Plus (Analytik Jena AG, DE) při vlnové délce  $405 \text{ nm}$  (T- $\text{SO}_2$ ), respektive  $575 \text{ nm}$  (F- $\text{SO}_2$ ), za nekolísavé laboratorní teploty  $25^\circ\text{C}$ . Vzorky byly

analyzovány v duplicitním provedení a s každou denní šarží vzorků byly měřeny 2 slepé vzorky a 2 standardy. Vyhodnocování probíhalo u obou metod pomocí jednobodového standardu. Koncentrace standardu činila 300 mg.l<sup>-1</sup> pro T-SO<sub>2</sub> a 100 mg.l<sup>-1</sup> pro F-SO<sub>2</sub>. Oba standardy byly připravovány dle návodu výrobce setu, ze siřičitanu sodného a to nejdéle 30 minut před vlastním použitím. Navažování standardu bylo prováděno s přesností na 0,001 g na vahách A&D GF-200-EC (A&D Instruments Ltd, UK). K vlastnímu stanovení bylo odebráno 0,050 ml homogenního vzorku. U některých vzorků bylo vzhledem k povaze výrobku (zákal, výraznější zabarvení, deklarované použití SO<sub>2</sub>) přistoupeno k naředění v poměru 1:1 s destilovanou vodou. Metoda stanovení T-SO<sub>2</sub> je založena na rozkladné reakci siřičitanů s Ellmanovým činidlem, kdy rozpadem Ellmanova činidla vznikají barevné produkty vhodné ke spektrofotometrické analýze. Metoda stanovení F-SO<sub>2</sub> je založena na reakčním principu vazby SO<sub>2</sub>, fuchsinu a aldehydu za vzniku fialovočerveného produktu vhodného ke spektrofotometrické analýze. Ke stanovení základních statistických parametrů byl použit program Excel 2016, verze 16.0.5278.1000 ze sady Microsoft Office Professional Plus 2016 (US). Normalita dat byla ověřena pomocí Shapiro-Wilkova testu v programu UNISTAT verze 6.5 firmy UNISTAT Ltd. (UK).

## VÝSLEDKY A DISKUZE / RESULTS AND DISCUSSION

Výsledky pro jednotlivé kategorie vzorků jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2. Z výsledkové tabulky pro kategorii Sířené citronové šťávy a ochucovadla lze vyvodit tyto závěry. Celkem 90 % vzorků vyhovělo legislativním limitům pro celkový obsah SO<sub>2</sub>, přičemž nevyhovující vzorek č. 60 přesáhl limit pouze o 14 mg a lze předpokládat, že po otevření výrobku by rychle došlo ke snížení pod hodnotu NPM. Z výsledků dále vyplývá, že se v tržní síti mohou objevit i výrobky označené jako ošetřené oxidem siřičitým, aniž by obsahovaly relevantní koncentrace této látky, jako v případě vzorku č. 56. U tohoto vzorku byla stanovená koncentrace pod mezí detekce metody (dále LOD), která činí 2 mg.l<sup>-1</sup>. Vzorek stejné šarže jsme z tržní sítě odebrali a stanovovali opakovaně se stejným výsledkem, což by mohlo indikovat chybu v aplikaci SO<sub>2</sub> během výroby dané šarže, či chybu při párování etiket s konkrétní řadou výrobků. Průměrná hodnota celkového obsahu SO<sub>2</sub> v této kategorii činila 201 ± 127 mg.l<sup>-1</sup>, přičemž koncentrace kolísala v širokém rozpětí 37–364 mg.l<sup>-1</sup>. Rozsah hodnot je vyšší než 1,5–274 mg.l<sup>-1</sup>, uváděných publikací EFSA z roku 2016, zabývající se problematikou siřičitanů v potravinách.

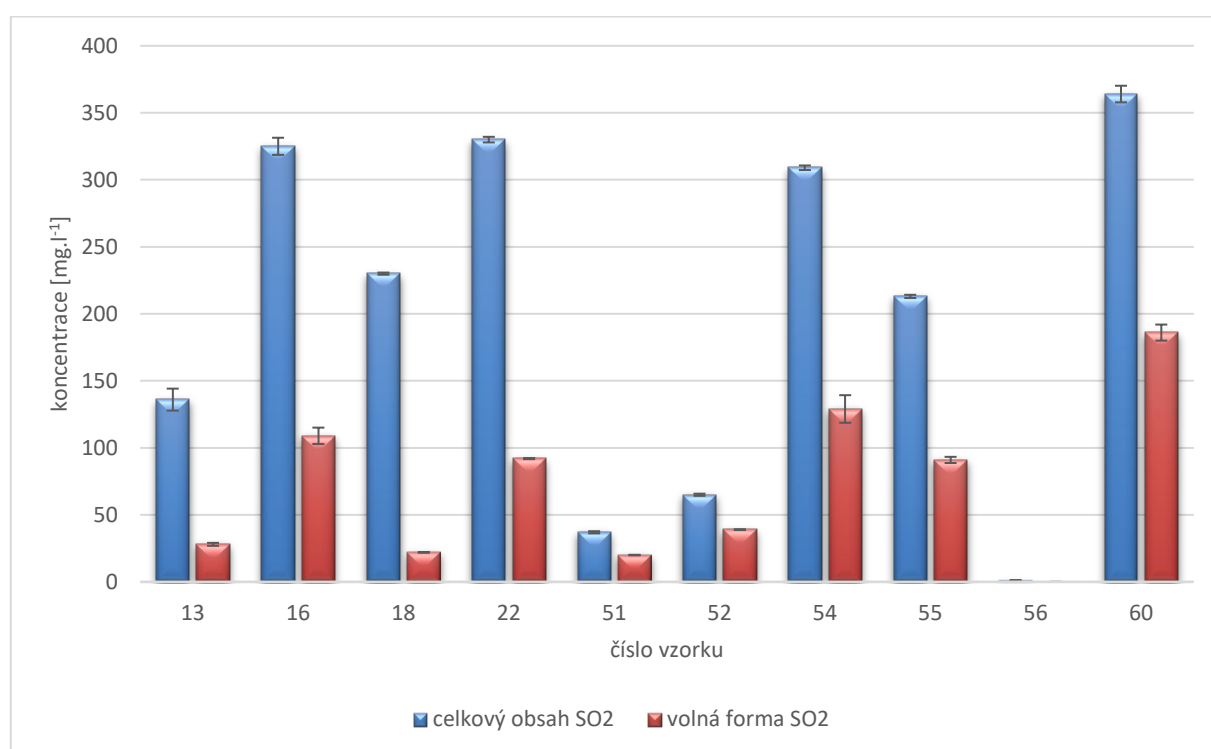
Naměřené koncentrace volné formy SO<sub>2</sub> se pohybovaly mezi 20–186 mg.l<sup>-1</sup> s průměrnou hodnotou 72 ± 56 mg.l<sup>-1</sup>. Podíl volné formy SO<sub>2</sub> u vzorků s nenulovou koncentrací se pohyboval od 10 do 60 % (medián 42 %) a je poměrně dobře zachycen na obrázku 1.

Poměrně zajímavý rozpor nastává u vzorků č. 18 a 55, kdy při relativně stejném celkovém obsahu SO<sub>2</sub> 230 a 213 mg.l<sup>-1</sup> byla stanovena značně odlišná koncentrace volné formy SO<sub>2</sub>, a to 22 a 91 mg.l<sup>-1</sup>. Vzhledem k tomu, že vzorky byly odebírány z tržní sítě v co nejkratší době po uvedení výrobku do oběhu, by mohlo jít o odchylky způsobené rozdílnými skladovacími podmínkami, jinak dlouhou prodlevou ve skladu výrobce před uvedením šarže na trh, či rozdílnými vnitřními parametry matrice (odrůda, pH, podíl proteinové složky apod.)

**Tabulka 1:** Sířené citronové šťávy<sup>#</sup> a ochucovadla\* (n=10)

| Vzorek          | T-SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ] | SD [mg.l <sup>-1</sup> ] | F-SO <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ] | SD [mg.l <sup>-1</sup> ] | NPM [mg.l <sup>-1</sup> ] | Forma SO <sub>2</sub> |
|-----------------|-----------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|
| 13 <sup>#</sup> | 136                                     | 8,2                      | 28                                      | 1,1                      | 350                       | Disiřičitan draselný  |
| 16 <sup>#</sup> | 325                                     | 6,4                      | 109                                     | 6,1                      | 350                       | Disiřičitan draselný  |
| 18 <sup>#</sup> | 230                                     | 0,8                      | 22                                      | 0,1                      | 350                       | Disiřičitan draselný  |
| 22 <sup>#</sup> | 330                                     | 2,1                      | 92                                      | 0,4                      | 350                       | Disiřičitan draselný  |
| 51 <sup>*</sup> | 37                                      | 0,8                      | 20                                      | 0,2                      | 200                       | Disiřičitan draselný  |
| 52 <sup>*</sup> | 65                                      | 0,8                      | 39                                      | 0                        | 200                       | Disiřičitan draselný  |
| 54 <sup>#</sup> | 309                                     | 1,7                      | 129                                     | 10,3                     | 350                       | Disiřičitan draselný  |
| 55 <sup>#</sup> | 213                                     | 1,2                      | 91                                      | 2,3                      | 350                       | Disiřičitan draselný  |
| 56 <sup>#</sup> | < LOD                                   | -                        | < LOD                                   | -                        | 350                       | Disiřičitan draselný  |
| 60 <sup>#</sup> | 364                                     | 6,2                      | 186                                     | 6,0                      | 350                       | Disiřičitan draselný  |

Vysvětlivky: (n=x) počet vzorků v kategorii, T-SO<sub>2</sub> průměrná koncentrace celkového oxidu siřičitého, SD směrodatná odchylka, F-SO<sub>2</sub> průměrná koncentrace volné formy oxidu siřičitého, NPM nejvyšší přípustné množství dle legislativy, LOD limit detekce metody

**Obrázek 1:** Srovnání poměru T-SO<sub>2</sub> a F-SO<sub>2</sub> u sířených citronových šťáv a ochucovadel

V kategorii Nesířené citronové šťávy a ochucovadla vyhovělo 100 % výrobků legislativním limitům. U osmi z celkového počtu dvanácti vzorků byla hodnota celkového obsahu pod mezí detekce použité metody, zatímco zbývající čtyři vzorky obsahovaly 12–69 mg.l<sup>-1</sup>, tj. hodnoty zhruba na úrovni přirozeného pozadí v tomto typu potravinové matrice. Pokud jde o obsah volné formy SO<sub>2</sub> v této kategorii výrobků, lze konstatovat, že se prakticky nevyskytuje. Jedinou výjimkou byl vzorek č. 62, u něž byla stanovena hodnota T-SO<sub>2</sub> 12 mg.l<sup>-1</sup>, přičemž podíl volné formy činil 10 mg.l<sup>-1</sup>. V rámci statistické analýzy bylo zjištěno, že obě sledované kategorie vzorků vykazují normální rozložení při použití Shapiro-Wilksova testu normality. Pomocí F testu byl prokázán rozdíl rozptylů na hladině významnosti  $p < 0,01$  při srovnávání T-SO<sub>2</sub> u sířených a nesířených

výrobků. Následným t-testem byl prokázán statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) v celkovém obsahu  $\text{SO}_2$  mezi oběma kategoriemi výrobků.

**Tabulka 2:** Nesířené citronové šťávy<sup>#</sup> a ochucovadla\* ( $n=12$ )

| Vzorek          | T- $\text{SO}_2$ [mg.l <sup>-1</sup> ] | SD [mg.l <sup>-1</sup> ] | F- $\text{SO}_2$ [mg.l <sup>-1</sup> ] | SD [mg.l <sup>-1</sup> ] | NPM [mg.l <sup>-1</sup> ] | Forma $\text{SO}_2$ |
|-----------------|----------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------|
| 14*             | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 200                       | ---                 |
| 15 <sup>#</sup> | 67                                     | 0,4                      | < LOD                                  | -                        | 350                       | ---                 |
| 17 <sup>#</sup> | 67                                     | 0,8                      | < LOD                                  | -                        | 350                       | ---                 |
| 19 <sup>#</sup> | 69                                     | 0                        | < LOD                                  | -                        | 350                       | ---                 |
| 20*             | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 200                       | ---                 |
| 21*             | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 200                       | ---                 |
| 53*             | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 200                       | ---                 |
| 57*             | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 200                       | ---                 |
| 58*             | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 200                       | ---                 |
| 59*             | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 200                       | ---                 |
| 61 <sup>#</sup> | < LOD                                  | -                        | < LOD                                  | -                        | 350                       | ---                 |
| 62*             | 12                                     | 0,2                      | 10                                     | 0,1                      | 200                       | ---                 |

Vysvětlivky: ( $n=x$ ) počet vzorků v kategorii, T- $\text{SO}_2$  průměrná koncentrace celkového oxidu siřičitého, SD směrodatná odchylka, F- $\text{SO}_2$  průměrná koncentrace volné formy oxidu siřičitého, NPM nejvyšší přípustné množství dle legislativy, LOD limit detekce metody.

## ZÁVĚR / CONCLUSIONS

Hlavním zjištěním našeho výzkumu je, že u některých výrobků může být i při poměrně vysokém obsahu celkového množství  $\text{SO}_2$  podíl jeho volné formy relativně nízký, což může vést k oslabení až úplné ztrátě jeho protektivních vlastností. Naše výsledky také naznačují, že u ochucovadel na bázi citronové šťávy nedochází k tak výrazné konverzi volné formy  $\text{SO}_2$  na vázanou formu, jako u citronových šťáv. Vzorky sířených ochucovadel měly procentuální podíl volné formy vyšší než 50 %, ve srovnání s 10–51 % u sířených citronových šťáv. Nicméně tento předpoklad by bylo potřeba ověřit na širším souboru vzorků. Hodnoty celkového obsahu  $\text{SO}_2$  v sířených výrobcích se pohybovaly mezi 37–364 mg.l<sup>-1</sup>, volná forma  $\text{SO}_2$  pak byla přítomna v množství 20–186 mg.l<sup>-1</sup>. V nesířených výrobcích se hladina celkového obsahu pohybuje v rozmezí 0–69 mg.l<sup>-1</sup> a přítomnost volné formy  $\text{SO}_2$  byla prokázána pouze u vzorku č. 62, kde činila  $10 \pm 0,1$  mg.l<sup>-1</sup>. Dle očekávání byl prokázán statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) v celkovém obsahu  $\text{SO}_2$  mezi sířenými a nesířenými výrobky. Z celkového počtu 22 analyzovaných vzorků nevyhověl pouze 1 vzorek legislativnímu limitu 350 mg.l<sup>-1</sup>. Jednalo se o vzorek č. 60, u kterého byla stanovena hodnota  $364 \pm 6$  mg.l<sup>-1</sup>. Procentuální podíl nevyhovujících vzorků, vyskytujících se v současné době v tržní síti, lze tedy u tohoto typu potravin zhruba odhadnout na nižší než 5 %.

## PODĚKOVÁNÍ / ACKNOWLEDGEMENT

Vznik příspěvku byl finančně podpořen z prostředků institucionální podpory dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumných organizací.

## LITERATURA / REFERENCES

Adams, J. B. (1997): Food additive-additive interactions involving sulphur dioxide and ascorbic and nitrous acids: A review. *Food Chemistry*, 59(3): 401–409.

Bayati, A., Nazari, F., Hassanzadazar, H., Hosseini, M. (2020): Identification parameters for comparison of naturally and commercially lime juice. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 12(1): 110–119. DOI 10.34302/crpjfst/2020.12.1.11.

European Food Safety Authority (2016): Scientific Opinion on the re-evaluation of sulfur dioxide (E 220), sodium sulfite (E 221), sodium bisulfite (E 222), sodium metabisulfite (E 223), potassium metabisulfite (E 224), calcium sulfite (E 226), calcium bisulfite (E 227) and potassium bisulfite. *EFSA Journal*, 14(4). DOI 10.2903/j.efsa.2016.4438.

Miranda, G., Berna, A., Salazar, D., Mulet, A. (2009): Sulphur dioxide evolution during dried apricot storage. *LWT - Food Science and Technology*, 42(2): 531–533. DOI 10.1016/j.lwt.2008.08.008.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1169/2011 ze dne 15. října o poskytování informací o potravinách spotřebitelům. *Úřední Věstník Evropské unie*.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1333/2008 ze dne 16. prosince o potravinářských přídatných látkách. *Úřední Věstník Evropské unie*.

*Kontaktní adresa / Contact Information: doc. Ing. Miroslav Jůzl, Ph.D., Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: miroslav.juzl@mendelu.cz*