

Vanillin és bourbonal megkülönböztetése papiros kromatográfiás módszerrel

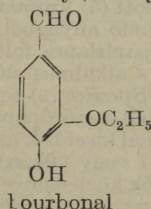
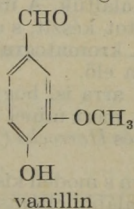
RAVASZ LÁSZLÓ

Kereskedelmi Minőségellenőrző Intézet, Budapest

Érkezett: 1958. június 10.

A harmincas évek végén mind az édesiparban, mind a háztartásokban egyre fokozódott a „szintetikus vanília”, a kristályvanillin használata s részben kiszorította a fűszervaníliát. Annak ellenére, hogy a fűszervanília finomabb zamatú, nehezebb beszerzése, adagolása, minőségének fajta és évjárat szerinti ingadozása s nem utolsósorban nagyobb körülméktést igénylő tárolása miatt számos felhasználási területen előnyben részesítik a kristályvanillint, illetve a belőle készített vanillincukrot, vaníliaesszenciát.

A vanillin protokatechualdehyd származék, 3-metoxi-, 4-oxy-, benzaldehyd. A vanillinnel közel azonos, de megközelítőleg háromszor erősebb zamatú a vele kémiailag rokon bourbonal, 3-etoxy-, 4-oxy-, benzaldehyd.



Mindkét vegyületet felhasználták a vaníliazamat előidézésére. A bourbonal világpiaci árának ingadozásától függően kihasználva nagyobb zamatosító erejét, rövidesen találtakoztak a minőségellenőrző szervek olyan esetekkel, amikor a vanillint hamisították bourbonállal (főként vanillincukrokban, s a bourbonált kristályvanillinnel (főként tiszta készítményekben).

Hazai szerzők is foglalkoztak a két vegyület egymásmelletti megbízható kimutatásával. *Telegdy-Kováts* (1) az égetéses eljárást, illetve az olvadáspont meghatározását ajánlja mind a tiszta készítmények, mind a cukortartalmú készítmények vizsgálatánál. Utóbbiaknál a hatóanyagot éteres kirázással különíti el a cukortól. *Jaschik* (2) a két vegyület megkülönböztetésére a hidrazinszulfátot ajánlja. Módszerének lényege, hogy ellentétben az eddig megjelent irodalmi ismerte tésekkel (3) sósavas hidrazinszulfát helyett reagensként 0,1 n. hidrazin szulfátot (sósav nélkül) használ. Míg a vanillinoldat hidrazinszulfát hozzáadásakor megsárgul s csak másnap válik ki az oldatból narancsvörös színű kristályhalmaz, addig a bourbonal oldatból azonnal sárga csapadék képződik, mely fölött az oldat szintelen marad. Vanillin és bourbonal keverékéből a reagens hozzáadásakor sárga csapadék képződik, s a fölötté levő oldat

is sárga színű marad. Összehasonlító oldatok alkalmazásával (kolorimetriás módszer) a vanillin-bourbonál aránya 5—10% pontossággal meghatározható.

Hazánkban a vanília pótlására vanillincukrot és vaníliapótló tablettákat hoznak forgalomba. Előbbi 0,6%, utóbbi 1,0% kristályvanillin tartalmú. A készítők többnyire ennél 50%-kal több hatóanyagot használnak fel azért, hogy a szavatosságai idő végén (3 hónap) is tartalmazza a készítmény a burkolótassakon feltüntetett kristályvanillin mennyiségét.

A vanillintartalom meghatározását úgy végezzük, hogy a vanillincukorból 5—10 g-ot lemérünk, 20 százalékos alkoholos oldatban feloldjuk s timolfalein vagy fenolfalein indikátor mellett mikrobürettából 0,1 n NaOH oldattal megtitráljuk. 1 ml 0,1 n NaOH oldat fogyasztás 0,0152 g kristályvanillinnek felel meg. Vaníliapótló tablettáknál kötőanyagként többnyire stearint használnak, mely szintén fogyasztást lúgot. Ebben az esetben úgy járunk el, hogy a 20%-os alkoholos oldatban oldott vizsgálati anyagot szűrőpapíron megsűrjük, alkoholos oldattal utánmossuk s a szűrletből végezzük a titrálást.

Újabbán a gyártó vállalatok engedélyt kértek, hogy 0,4% bourbonállal 0,35% bourbonal tartalom feltüntetésével készítsenek vanillincukrot. A meghatározást továbbra is lúgos titrálással végezzük. 1 ml 0,1 n NaOH 0,0166 g bourbonálnak felel meg. A meghatározásnál azonban arra is ügyelni kell, hogy a bourbonált nem helyettesítették-e részben vagy egészben vanillinnel.

Áttanulmányozva a két vegyület megkülönböztetésére vonatkozó rendkívül nagy számban található irodalmi adatot (4), leggyorsabb és legcélravezetőbb módszernek (különösen sorozatvizsgálatok esetén) a *Dingemans* által ajánlott (5) kromatográfiás eljárást találtuk. A módszer lényege, hogy a vizsgálandó anyagból alkoholos kivonatot készít, s abból megfelelő minőségű szűrőpapírlapra foltokat helyez el. A kromatogramot petroléterben fejleszti ki s alkalmas előhívóoldattal hívja elő.

Bergner és *Sperlich* (6) felhívja a figyelmet arra is, hogy a meghatározásnál ügyelni kell a szűrőpapíros víztartalmára, mert minél nagyobb annak víztartalma, annál kisebbek az R_f értékek. *Eyck* és *Horrocks* (7, 8) *Schleicher* és *Schüll* N° 597 vagy 604 szűrőpapírost ajánl.

Fenti szerzők közleményeit áttanulmányozva s modell kísérletet végezve a vanillin és bourbonal megkülönböztetésére az alábbi eljárást tartjuk alkalmasnak:

A vizsgálandó anyagok előkészítése

1. Vanillincukorból 0,5 g-ot lemérünk s hozzáadunk 2—3 ml 96%-os alkoholt, többször összerázzuk, hogy a vanillint kioldjuk s a cukrot leülepedni hagyjuk. Az oldat tisztáját használjuk fel a vizsgálathoz. Úgy is eljárhatunk, hogy alkoholos törzsoldatot készítünk, s annak csak aliquot részét használva titráláshoz, a visszamaradt oldatot használjuk fel a kromatografáláshoz.

2. Vaníliapótló tablettából 0,5 g-ot lemérünk, 5 ml 40%-os alkohollal a hatóanyagot kirázzuk, az oldatot szűrjük s szűrletét szárazra párolva, a maradékot 2—3 ml 96%-os alkoholban feloldjuk.

3. Egyéb élelmiszernél úgy járunk el, hogy a vizsgálandó anyagból 10—20 g-ot lemérünk, 30—40 ml etiléterrel a vanillint, illetve a bourbonalt kioldjuk, majd az éteres részt szárazra párolva, a maradékot 2—3 ml 96 százalékos alkoholban oldjuk.

Összehasonlító oldatok:

0,01 százalékos alkoholos vanillinoldat,

0,1 százalékos alkoholos bourbonaloldat.

A szűrőpapiros előkészítése és a kromatogram kifejlesztése

Whatman N° 0 számú szűrőpapirosból 30×30 cm nagyságú négyzetes lapot kivágunk. (Kevesebb minta esetén 20×20 cm nagyságú lap is elegendő.) A szűrőpapirost félórára szárító szekrénybe helyezük, majd kivéve félóráig levegőn állni hagyjuk, s alsó élével párhuzamosan 2,5 cm magasságban ceruzával vonalat húzunk. Ezután a szűrőpapiros oldalától 3 cm távolságban balról jobbra 2,5—3 cm-re egymástól mikropipetta segítségével 1—1 ml vizsgálandó oldattal foltokat helyezünk el a vonalon. Az utolsó két foltot a vanillines, illetve bourbonaloss összehasonlító oldattal készítjük. Egyszerre 1 ml oldatot a ceruzával megjelölt startpontra ne vigyünk fel, mert az így készített folt nagyon szétfolyik. Úgy járunk el, hogy a pipetából 3—4 csepp kiengedése után pár másodpercig hagyjuk a foltot száradni, s a további hozzáadást is részletekben végezzük. A foltok helyét jelöljük meg, hogy azok melyik vizsgálati oldatból, illetve összehasonlító oldatból származnak. Ezután a szűrőpapírt megszáritjuk, majd belőle az ismert módon hengert formálunk, s annak két érintkező oldalélét cénaöltéssel lazán rögzítjük. Az így elkészített szűrőpapiroshengert helyezük négyzetes üveglapon nyugvó üvegbura alá, melybe előzőleg kevés vizet, illetve petrolétert tartalmazó két üvegpharkát helyeztünk, s egy éjjelen át hagyjuk állni, hogy a szűrőpapír a két oldószer gőzével telítődjék.

Whatman N° 0 szűrőpapírnál a szűrőpapír víztartalmától függően az alábbi R_f értékeket találtuk (I. táblázat).

I. táblázat

	A szűrőpapír víztartalma		
	5,2%	8,0%	15,1%
	R_f érték		
Vanillin	0,32	0,18	0,08
Bourbonal	0,80	0,62	0,36
Cumarin	0,93	0,80	0,65

Másnap a két folyadékkal teli edénykét a bura alól kivesszük, helyükbe a szűrőpapiroshenger átmérőjénél nagyobb Petri-csészét helyezünk, melybe 2 cm magasán petrolétert öntünk, és ebbe állítjuk a hengert. 2—3 óra alatt az oldószer felemelkedik a szűrőpapiros tetejéig. Ügyelni kell arra, hogy az üvegbura alja megfelelően csiszolt legyen, ellenkező esetben oldószervesztelességgel számolhatunk, s a Petri-csészébe öntött petroléter mennyisége nem lesz elegendő. Utána kivesszük a papiroshengert, levegőn megszáritjuk s a kromatogramot előhívjuk.

A kromatogram előhívása

Az előhíváshoz az alábbi négy oldatot használtuk :

1. 25 százalékos ammóniumhidroxid-oldat,
2. 0,5 g benzidin, 20 ml jégecet és 80 ml 96%-os alkohol oldata,
3. 90 ml telített vizes hidrazinszulfát-oldat és 10 ml 4 n sósav elegye,
4. 0,1 n alkoholos KOH-oldat.

A megszáritott szűrőpapirost (a henger varratainak szétvágása után) kiterítjük s üvegből készült levegőfújós permetezővel befújjuk. Az ammó-

niumhidroxidos, illetve alkoholos káliumhidroxidos befűvés után a foltok gyengén ellilásodnak, a 2. és 3. sz. oldatokkal bepermetezett szűrőpapíron a foltok megsárgulnak.

Az alábbi II. táblázat tünteti fel, hogy az előhívóoldatokkal bepermetezett szűrőpapíron a foltok napfényben, illetve UV fényben vizsgálva milyen színben tűntek elő:

II. táblázat

Előhívó oldat	Napfényben	UV fényben
	vizsgálva a foltokat	
25%-os ammóniumhidroxid-oldat	Szintelen, 1—2 órai állás után világos, lilás elszíneződés	Sötétkék
Benzidin-oldat	A vanillin világos, a bourbonal narancssárga	Narancssárga
Hidrazinszulfát-oldat	Citromsárga	Sárgásbarna
0,1 n alkoholos KOH-oldat	Szintelen, 1—2 órai állás után világos aransárga	Sötétkék

Az előhívó oldatot szükség esetén a kereskedelemben kapható poliamid műanyagból készült parfümszóróval is permetezhetjük, ekkor azonban a permet egyenlőtlen clostású, s helyenként esetleg nagy szétfolyó cseppek képződnek, és több előhívóanyagra is van szükség. Az előhívás után a szűrőpapírt megszáritjuk s azután vizsgáljuk. Összehasonlító oldatok esetén az R_f érték ismerete szükséges, s a szűrőpapíros víztartalmának kondicionálására sem kell ügyelni.

Egy-egy szűrőpapíron egyszerre nyolc minta vizsgálható. A vanillin és bourbonal egymás mellett is jól megkülönböztethető.

A használt négy előhívóoldat közül a sósavas hidrazinszulfátot találtuk a legjobbnak. Benzidinoldatnál a beszáradt permetesepek sárga színe zavarja a foltok felismerését, s megbízható képet csak UV fényben kaphatunk. Az ammóniumhidroxid csak 0,01 százaléknál töményebb oldatból felvitt foltokat színez megfelelően. Az alkoholos KOH-al előhívott foltok képe is csak UV fényben vizsgálható. A sósavas hidrazinszulfáttal előhívott foltok már napfényben is jól megkülönböztethetők. Kellő gyakorlat mellett ismert töménységű összehasonlító oldatok használata esetén a foltok nagyságából az is megállapítható, hogy a vizsgált vanillineukor vagy vaníliapótló kristályvanillin, illetve bourbonal tartalma eléri-e a kívánt százalékos értéket.

IRODALOM

- (1) *Telegdy-Kováts L.*: Mezőgazdasági Kutatások. XIV. 1—3, 1941.
- (2) *Jaschik S.*: Magyar Kémiai Folyóirat, 56. 431. 1950.
- (3) *Stadler, P.* és *Wagner, K.*: Z. Anal. Chem. 108, 161, 1937.
- (4) *Bauer, J.*: Die organische Analyse. 1950.
- (5) *Dingemans, J. J.*: Chem. Weekbl. 27, 694, 1930.
- (6) *Bergner K. G.* és *Sperlich, H.*: Deutsche Lebensmittel Rundschau, 6, 134, 1951.
- (7) *van Eyk, P. N.*: Pharm. Weekbl. 60, 1204, 1923.
- (8) *Horrocks, R. H.*: Nature 164, 444, 1949.

РАЗЛИЧЕНИЕ ВАНИЛИНА И БУРБОНАЛА ПРИ ПОМОЩИ ХРОМАТОГРАФИИ

L. Ravas

Для различения ванилина и бурбонала, находящихся в смешанном состоянии (во ванилином сахаре и в других пищевых продуктах) преимущественно применяется хроматографический метод. При развитии спиртового раствора исследуемых веществ на Ватман № 0 фильтровальной бумаге с петролэфиром, значение R_f -а бурбонала больше чем два раза превышает R_f Ванилина. Значение R_f -а зависит от содержания воды фильтровальной бумаги. Для проявления применяется опрыскивание с солянокислым раствором гидразинсульфата. На проявленном хроматограмме пятна ванилина и бурбонала имеют лимонно-жёлтый в солнечном свете, а в У. В. свете желтокоричневый цвет.

UNTERSCHIEDUNG VON VANILLIN UND BOURBONAL VERMITTELS DER PAPIERCHROMATOGRAPHIE

L. Ravasz

Zum Nachweis von Vanillin und Bourbonal nebeneinander (in Vanillinzucker und anderen lebensmittelindustriellen Produkten) ist die papierchromatographische Methode vorteilhaft anwendbar. Die Flecke des alkoholischen Extraktes der zu prüfenden Substanzen auf Filterpapier Whatman N° 0 werden mit Petroläther auseinandergezogen; dabei beträgt der R_f Wert des Bourbonals das Doppelte des Vanillins. Zum Entwickeln erwies sich als Sprühreagens salzsaure Hydrazinsulfatlösung am geeignetsten. Auf dem entwickelten Chromatogramm sind die Flecken des Vanillins wie auch diejenigen des Bourbonals zitronengelb und im U. V. Licht gelbbraun.

DETECTION OF VANILLIN AND BOURBONAL IN THE PRESENCE OF EACH OTHER BY A CHROMATOGRAPHIC METHOD

L. Ravasz

The chromatographic method proved to be suitable for the detection of vanillin and bourbonal in the presence of each other (in powdered sugar aromatized by vanillin and in other food preparations). On developing the ethanolic solution of the substances to be examined by petroleum ether on Whatman N° 0 filter paper, bourbonal showed R_f values over the double value of that of vanillin. As a developing spray, a hydrochloric acid solution of hydrazine sulphate gave best results. The spots of both vanillin and bourbonal on the developed chromatograms were lemon yellow in daylight and yellowish brown in ultraviolet light.