

Plynová chromatografia neesterifikovaných mastných kyselín v mliekárenských výrobkoch

J. HRIVŇÁK, V. PALO

Výskumný ústav agrochemickej technológie, Bratislava

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej, Bratislava

Vypracovala sa metóda rozdelenia mastných kyselín (C_2 až C_{18}) v mliekárenských výrobkoch plynovou chromatografiou bez predbežnej esterifikácie. Metóda je vhodná pre materiály, v ktorých sa mastné kyseliny vyskytujú v malých koncentráciách.

Mastné kyseliny sa plynovou chromatografiou rozdeľujú vo väčšine prípadov vo forme svojich esterov. Ich esterifikácia je pomerne zdĺhavá, namáhavá a pri kvalitatívnom, najmä však kvantitatívnom vyhodnocovaní znamená aj určitý zdroj chýb, na ktoré poukázali H. P. Kaufmann a spolupracovníci [1]. Pri práci s materiálom obsahujúcim mastné kyseliny o malých koncentráciách sa zdá vhodné tieto rozdeľovať vo forme voľných kyselín bez predchádzajúcej esterifikácie. Takto rozdeľovali mastné kyseliny už A. T. James a A. J. P. Martin [2]. Touto metódou stanovili voľné mastné kyseliny (C_1 — C_8) v kravskom mlieku C. L. Hawkinson a spolupracovníci [3], ktorí použili ako zakotvenú fázu silikónový olej s 10 % kyseliny stearovej. R. K. Beerthius a spolupracovníci [4] na rozdelenie vyšších mastných kyselín použili kolónu so silikónovým olejom, kyselinou antrachinónkarboxylovou a Apiezonom L ako zakotvenou fázou. Nižšie neesterifikované mastné kyseliny novšie stanovili niektorí pracovníci [5—8] za použitia polarnejšej zakotvenej fázy (diacetylsebakát a polyestery dvojsýtnych kyselín a glykolov). L. D. Metcalfe [9] rozdelil mastné kyseliny (C_{10} — C_{22}) na 100 cm kolóne plnenej Celitom 545, impregnovaným 25 % dietylenglykoladipátu a 2 % kyseliny fosforečnej pri teplote 235 °C. Ako nosný plyn použil hélium (45 ml/min.).

Súčasnú detektory používané v plynovej chromatografii umožňujú dávkovanie malých vzoriek na kolónu a tým aj použitie menšieho množstva zakotvenej fázy. Týmto sa zároveň zlepšuje rozdeľovacia účinnosť kolóny a čiastočne sa znižuje jej pracovná teplota. P. Jowett [10] tak rozdelil neesterifikované mastné kyseliny (C_6 — C_{18}) na kolóne plnenej sklenenými guľôčkami s 1 % polyetylenglykoljantaranu a 0,4 % kyseliny fosforečnej pri teplote 180 °C

Vzhľadom na potrebu sériových analýz pri štúdiu obsahu mastných kyselín v mliečnych výrobkoch sme vypracovali a prakticky overili spôsob rozdelenia mastných kyselín plynovou chromatografiou bez predbežnej esterifikácie.

Význam predloženej práce spočíva najmä v tom, že umožňuje rozdelenie mastných kyselín C_2 až C_{18} , včítane izo- C_5 a príslušných nenasýtených mastných kyselín.

Experimentálna časť

Analyzovaný materiál

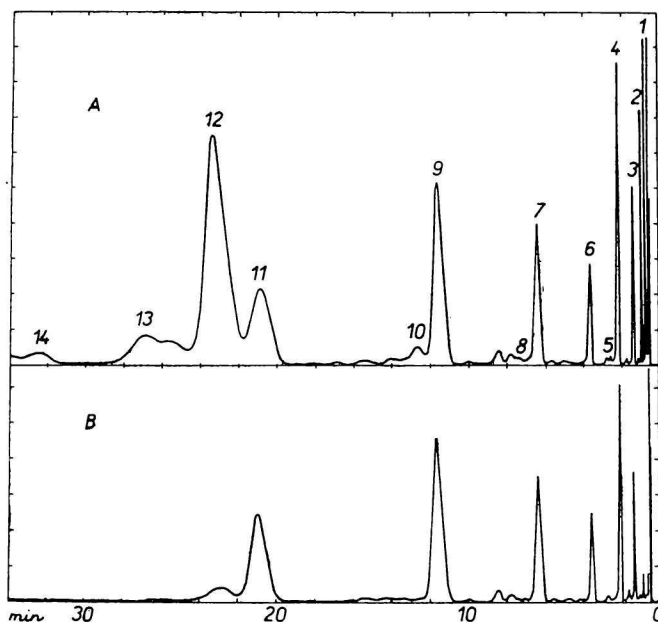
Analyzovali sme syntetické zmesi mastných kyselín, ďalej mastné kyseliny extraho-

vané etyléterom z mliečného tuku po jeho zmydelnení, ako aj voľné mastné kyseliny izolované zo zrelých syrov.

Éterické roztoky mastných kyselín sme najprv čiastočne zahustili odparením éteru za mierneho váku a priamo dávkovali 1—2 μ l mikroinjekčnou striekačkou Hamilton. Jednotlivé vrcholky na chromatograme sme identifikovali porovnaním so štandardmi. Nenasýtené mastné kyseliny sme identifikovali ich vymiznutím z chromatogramu po bromácii pôvodnej zmesi [11].

Podmienky rozdeľovania

Prístroj	Fractovap mod. C (Carlo Erba, Milano).
Detekcia	plameňový ionizačný detektor.
Nosný plyn	dušik.
Tlak	1,0 kg/cm ² .
Prietok	62,5 ml/min.
Teplota kolóny	210 °C.
Teplota odparovania	250 °C.
Kolóna (sklo)	\varnothing 4 mm \times 2 m.
Zakotvená fáza	10 % poly(oxy)propylénglykoladipát, 1 % H ₃ PO ₄ .
Nosič	Celit 545, zrnitosť 0,20—0,25 mm.



Obr. 1. Chromatogram mastných kyselín izolovaných z mliečného tuku pred bromáciou (A) a po bromácii (B).

1. C₄; 2. C₆; 3. C₈; 4. C₁₀; 5. C₁₀¹⁻; 6. C₁₂; 7. C₁₄; 8. C₁₄¹⁻; 9. C₁₆; 10. C₁₆¹⁻; 11. C₁₈; 12. C₁₈¹⁻; 13. C₁₈²⁻; 14. C₁₈³⁻.

Výsledky a diskusia

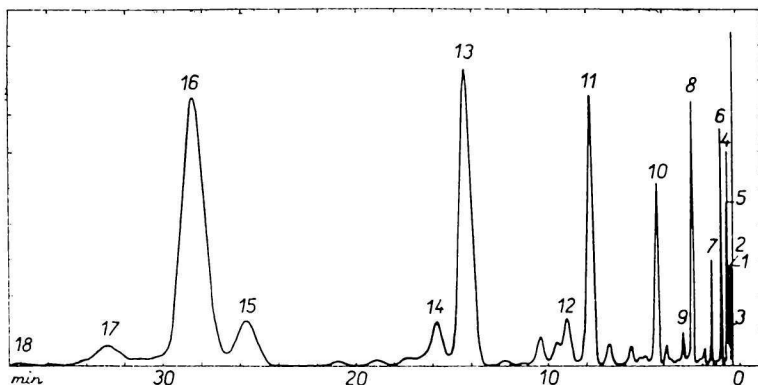
Rozdelenie mastných kyselín v rozsahu C_2 až C_{18} je výhodné najmä preto, lebo sa všetky vyskytujú v analyzovanom materiáli (syry). Z nich niektoré (C_2 , C_3 a izo- C_5) nevznikajú hydrolyzou mliečneho tuku.

Na obr. 1 je chromatogram mastných kyselín izolovaných z mliečneho tuku pred bromáciou (A) a po bromácii (B). Po bromácii vidieť úbytok nenasýtených mastných kyselín. Na obr. 2 je chromatogram voľných mastných kyselín izolovaných zo zrelého syra romadúr.

Neidentifikované vrcholky na chromatogramoch nie sú označené. Ide o vrcholky predstavujúce mastné kyseliny s nepárnym počtom uhlíkov a s rozvetveným reťazcom. Ich identifikácia bude predmetom ďalšej práce.

Z uvedených výsledkov vidieť, že rozdelenie mastných kyselín v rozsahu C_2 až C_{18} je vhodné pre kvalitatívne, ako aj kvantitatívne vyhodnocovanie. Vlny sú symetrické a vo všetkých prípadoch dobre rozlíšené. Experimentálne sme zistili, že pre dané mastné kyseliny je optimálna pracovná teplota kolóny $210\text{ }^\circ\text{C}$. Jej znížením sa skvalitní chromatografický záznam nižších mastných kyselín, avšak tým sa predlži čas analýzy a záznam vyšších mastných kyselín sa rozťahne. Doba registrácie chromatogramu pre celú oblasť mastných kyselín (C_2 až C_{18}) za uvedených podmienok je 35 minút.

Opísanú metódu sme úspešne využili pri sériovej analýze voľných mastných kyselín v niektorých druhoch syrov. V tomto prípade nebolo potrebné malé množstvá mastných kyselín prevádzať na estery a tieto prečistiť. Tým sme urýchlili pracovný postup a zabránili prípadným stratám a zhoršeniu rozdelenia najmä nižších mastných kyselín.



Obr. Chromatogram voľných mastných kyselín izolovaných zo zrelého syra romadúr.
 1. C_2 ; 2. C_3 ; 3. C_4 ; 4. izo- C_5 ; 5. C_5 ; 6. C_6 ; 7. C_8 ; 8. C_{10} ; 9. $C_{10}^{1=}$; 10. C_{12} ; 11. C_{14} ; 12. $C_{14}^{1=}$;
 13. C_{16} ; 14. $C_{16}^{1=}$; 15. C_{18} ; 16. $C_{18}^{1=}$; 17. $C_{18}^{2=}$; 18. $C_{18}^{3=}$.

ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ НЕЭТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ
КИСЛОТ В МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ

Я. Гривняк, В. Пало

Научно-исследовательский институт агрохимической технологии, Bratislava
Кафедра технической микробиологии и биохимии Словацкого политехнического
института, Bratislava

Описывается разделение неэтерифицированных жирных кислот от C_2 до C_{18} методом газовой хроматографии. Очень хорошее разделение этих кислот, в том числе и ненасыщенных, было проведено на колонке, наполненной Целитом 545, проимпрегнированным 10 %-ной поли(окси)пропиленгликольадипиновой кислотой солью и 1 %-ной H_3PO_4 . При температуре 210 °C вышеприведенные жирные кислоты разделились за 35 минут. Этот метод применили для определения жирных кислот в молочных продуктах.

Preložila T. Dillingeroová

GASCHROMATOGRAPHIE UNVERESTERTER FETTSÄUREN IN
MOLKEREIPRODUKTEN

J. Hrivňák, V. Palo

Forschungsinstitut für agrochemische Technologie, Bratislava

Lehrstuhl für technische Mikrobiologie und Biochemie an der Slowakischen Technischen
Hochschule, Bratislava

In der vorliegenden Arbeit wird eine Methode der Trennung unveresterter Fettsäuren von C_2 bis C_{18} durch Gaschromatographie beschrieben. Die sehr gute Trennung dieser Säuren, einschliesslich der ungesättigten, wurde auf einer Kolonne erzielt, die mit Celite 545 gefüllt war. Dieses Celite 545 wurde vorher mit 10 % Poly(oxy)propylenglykoladipat und 1 % H_3PO_4 imprägniert. Bei einer Temperatur von 210 °C werden die angeführten Fettsäuren innerhalb 35 Min. abgetrennt. Diese Methode wird bei der Bestimmung von Fettsäuren in Molkereiprodukten benutzt.

Preložil K. Ullrich

LITERATÚRA

1. Kaufmann H. P., Mankel G., *Fette Seifen Anstrichm.* **65**, 179 (1963).
2. James A. T., Martin A. J. P., *Biochem. J.* **50**, 679 (1952).
3. Hawkinson C. L., Harper W. J., Mikolajcik E., *J. Dairy Sci.* **41**, 1502 (1958).
4. Beerthius R. K., Dijkstra G., Keppler J. G., Recourt J. H., *Ann. New York Acad. Sci.* **72**, 616 (1959).
5. Raupp G., *Angew. Chem.* **71**, 284 (1959).
6. Böttcher C. J. F., Clemens G. F. G., Van Gent C. M., *J. Chromatography* **3**, 584 (1960).
7. Hunter I. R., Ortegren V. H., Pence J. W., *Anal. Chem.* **32**, 682 (1960).

8. Janák J., Dobiášová M., Vereš K., *Collection Czech. Chem. Commun.* **25**, 1566 (1960).
9. Metcalfe L. D., *Nature* **188**, 142 (1960).
10. Jowett P., Horrocks B. J., *Nature* **192**, 966 (1961).
11. Janíček G., Šandera K., Hampl B., *Rukověť potravinářské analytiky*, 425. Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1962.

Do redakcie došlo 4. 9. 1963

Adresa autorov:

*Inž. Ján Hrivňák, C. Sc., Výskumný ústav agrochemickej technológie, Bratislava.
Inž. Vladimír Palo, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie SVŠT, Bratislava,
Kollárovo nám. 2.*