

J. HRIVŇÁK, A. PAVLÍKOVÁ

Za posledných 10 rokov plynová chromatografia v kombinácii s inými analytickými metódami, ako hmotová spektrografia, infračervená spektrografia a nukleárna magnetická rezonancia, našla rozsiahle uplatnenie v štúdiu arómy ovocia. Pekným príkladom aplikácie plynovej chromatografie v oblasti chemického zloženia arómy ovocia je identifikácia asi 150 prchavých zložiek, tvoriacich arómu jahôd (1). V poslednom období značná pozornosť sa venuje aj štúdiu prchavých zložiek jabĺk, a to ako v oblasti kvalitatívnej identifikácie jednotlivých zložiek, tvoriacich ich arómu, tak aj v oblasti kvantitatívnej analýzy týchto látok. Porovnávajú sa pritom rôzne druhy jabĺk, rôzne štádiá dozrievania a spôsoby skladovania. Rovnako sa venuje pozornosť aj analýze jablčných štiav a esencií.

Doteraz sa identifikovalo viac ako 100 zlúčenín tvoriacich prchavú zložku jabĺk. Tieto zlúčeniny pozostávajú:

1. z esterov,
2. z aldehydov a ketónov,
3. z éterov a acetálov,
4. z alkoholov,
5. z kyselín.

Zatiaľ nie je známa žiadna analytická metóda, ktorá by umožňovala analyzovať (aspoň kvalitatívne) súčasne všetky prchavé zložky jabĺk. Ide o zlúčeniny veľmi rozmanité, napr. vedľa seba sú alkoholy, aldehydy, ketóny a kyseliny, takže je veľmi obťažný problém navrhnúť takú chromatografickú kolónu, ktorá by umožnila ich rozdelenie. V praxi sa používajú rôzne kolóny, v poslednom čase najmä kapilárne, ktoré sú viacmenej selektívne pre určité typy zlúčenín.

Vypracovanie exaktnej kvantitatívnej analytickej metódy sťažuje nielen veľký počet prchavých zložiek, ale aj ich veľmi nízka koncentrácia. Celkový počet prchavých zložiek predstavuje len cca 10–100 mg v kg ovocia, z čoho vyplýva, že väčšina zložiek je pod jednu stotinu mg. Preto väčšina autorov sa zameriava pri štúdiu len na hlavné zložky, v koncen-

tráciách asi 1 mg/kg ovocia, pričom nižšie koncentrácie ostatných zložiek bývajú obyčajne pod prahom citlivosti metódy, a teda nemožno ich kvalitatívne ani kvantitatívne analyzovať.

Doteraz vypracované metódy analýzy prchavých zložiek jabĺk, i keď nie sú exaktne kvantitatívne ani kvalitatívne, majú význam v tom, že umožňujú získať aspoň relatívne, avšak objektívne výsledky, a umožňujú porovnať vzorku so štandardným druhom ovocia.

Extrakčné metódy

Extrakčné metódy sú založené na extrakcii ovocných štiav alebo esencií vhodným rozpúšťadlom alebo zmesou rozpúšťadiel.

Extrakt sa obyčajne pred analyzovaním zahusťujú. Nedostatky tohto spôsobu spočívajú v tom, že nie sú presne známe rozdeľovacie koeficienty, a okrem toho často ide o heterogénnu zmes, takže nie je presne známe percento výťažku (recovery). Okrem toho používané rozpúšťadlá nie sú superčistými chemikáliami, môžu znečisťovať a vo väčšine prípadov aj znečisťujú vzorku. Keby sa aj superčisté chemikálie používali, metódy by boli neúnosné — nákladné (hodnota 1 kg superčistého rozpúšťadla je okolo 10 000—100 000 Kčs). Ďalej nie je vždy známy úbytok prchavých zložiek pri zahusťovaní a pod.

Extrakčné metódy sú významné z hľadiska stanovenia vyššie vrúcich zložiek, asi od 80—100 °C a vyššie a poskytujú dosť reprodukovateľné výsledky.

Ako extrakčné činidlá sa najčastejšie používajú dietylér, izopentán, pentán, tekutý CO₂, C ClF₂ — C ClF₂ a pod. Zvláštnym spôsobom extrakčných metód je predbežná absorpcia prchavých zložiek, napr. na aktívnom uhlí, nasledovaná jeho extrakciou do vhodného rozpúšťadla.

Aby bolo možné analyzovať aj veľmi prchavé zložky, ako extrakčné činidlá sa používajú rozpúšťadlá s vyšším bodom varu, ako napr. o-dichló-benzén, p-krezol, 2,2-dichlórdietyléter, dietylftalát a pod.

Metóda „head space“:

Metóda „head space“ je založená na analýze plynnej fázy, nachádzajúcej sa nad vzorkou (2—4). Vychádza sa pritom z toho, že koncentrácia v plynnej fáze je úmerná koncentrácii v kvapalnej fáze. V prípade ovocia, resp. ovocnej šťavy ide obyčajne o heterogénny alebo koloidný systém, takže prechod do plynnej fázy nebýva ideálny a výsledky preto nemôžu byť exaktne kvantitatívne.

Metóda „head space“ sa však v praxi často používa a je výhodná na získanie relatívnych výsledkov, ktoré sú obvykle postačujúce pri objektívnom hodnotení vzorky proti štandardnému druhu jabĺk.

Metóda „head space“ má prednosti oproti ekstrakčným metódam v tom, že umožňuje analýzu veľmi prchavých zložiek (asi do bodu varu 100—150 °C) a vzorka nie je znečisťovaná rozpúšťadlom.

Analytický postup:

Na porovnanie kvality jednotlivých druhov jablák sme použili nasledovný spôsob spracovania vzorky. Jablká v množstve 1 kg sa postrúhajú na sklenenom strúhadle a prelisujú cez silónové sito. Po odvážení celkového množstva vy lisovanej šťavy sa 100 g podrobí vákuovej destilácii za použitia vodnej vývevy a vodou chladeného chladiča. Teplota vodného kúpeľa destilačnej banky sa udržiava pri 20 °C a destilát sa vymrazuje zmesou tekutého kyslíčnika uhličitého a etanolu pri -60 až -70 °C. Po 15—18 min. destilácii sa získa 9—10 ml destilátu, ku ktorému sa pridá 1 g bezvodného síranu sodného, uzavrie uzáverom so silikónovou gumou a za miešania sa udržiava na vodnom kúpeli pri teplote 30 °C počas 15 min. Z plynnej fázy nad roztokom sa odoberie 1 ml injekčnou striekačkou s plynotesným piestom a dávkuje na kolónu plynového chromatografu.

Prístroj:

Použil sa plynový chromatograf (Fractovap mod. GI Carlo Erba, Miláno) opatrený plameňovým ionizačným detektorom. Ako nosný plyn sa použil dusík. Plyná vzorka nad destilátom sa analyzovala na sklenenej kolóne dĺžky 2 m a vnút. priemeru 3 mm. Kolóna bola plnená Chromosorbom W o zrnitosti 0,20—0,25 mm, impregnovaným 10 % (váž) polypropylénu (Ucon LB 550 x) a 0,5 % (váž) tetrahydroxyetyléndiamínu (THEED). Teplota kolóny bola 70 °C a tlak nosného plynu 0,5 kp/cm².

Na identifikáciu elučných vln sa použili modelové vzorky a literárne údaje [5].

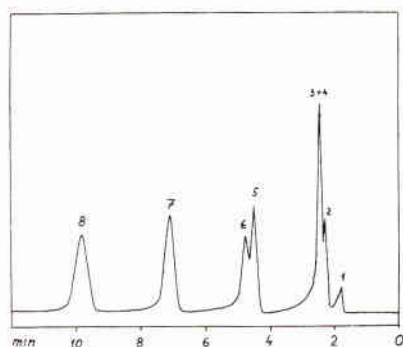
Po odobraní plynnej vzorky pre metódu „head space“ sa destilát vliat do rozdeľovacieho lievika, pridalo sa 1,0 ml etyléru a po pretrepaní a rozdelení sa chromatografoval éterický extrakt.

Prístroj:

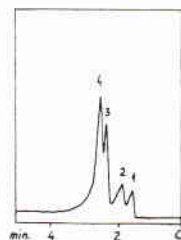
Fracovalo sa na plynovom chromatografe Perkin-Elmer model F 11, za použitia plameňového ionizačného detektora a dusíka ako nosného plynu. Éterický extrakt vzorky sa chromatografoval na kapilárnej kolóne z nehrdzavejúcej ocele dĺžky 30 m a vnútorného priemeru 0,25 mm. Kolóna bola impregnovaná 10 % roztokom Tritonu x-305 (alkylarylpolyléteralkohol) v metanole. Na kolónu sa dávkoval 1 mikroliter etylérového extraktu za použitia 10 mikrolitrovej Hamiltonovej mikroinjekčnej striekačky pri použití deliča 1:50. Chromatografovalo sa za programovania teploty pri tepelnom gradiente 4 °C/min. Pri dávkovaní bola teplota kolóny 70 °C a teplota vstrekovacieho priestoru 120 °C.

Výsledky a diskusia:

Na obr. 1 a 2 sú chromatogramy modelových zmesí alkoholov pre identifikáciu elučných vln.

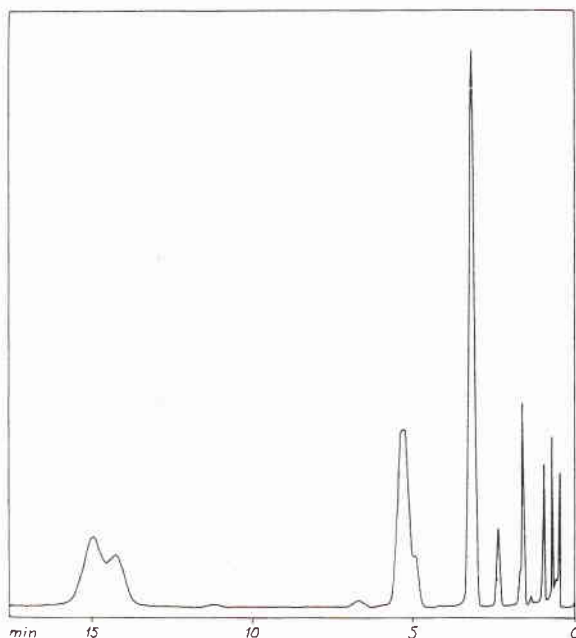


Obr. 1. Modelová zmes alkoholov. Elučné vlny: (1) metanol, (2) etanol, (3) izopropanol, (4) terc butanol, (5) sec. butanol, (6) n-propanol, (7) izo-butanol, (8) n-butanol. Kolóna: 10 % Ucon LB 550 X = 0,5 % THEED na chromosorbe pri 70 °C

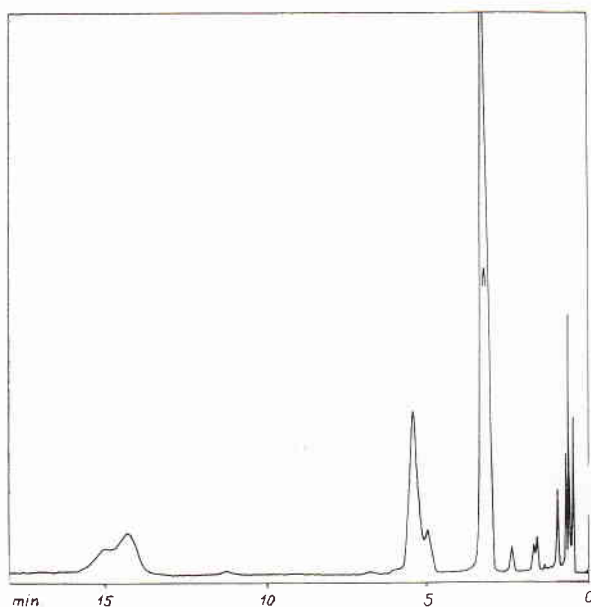


Obr. 2. Modelová zmes. Elučné vlny: (1) acetón, (2) metanol, (3) etanol, (4) izopropanol. Kolóna: ako obr. 1

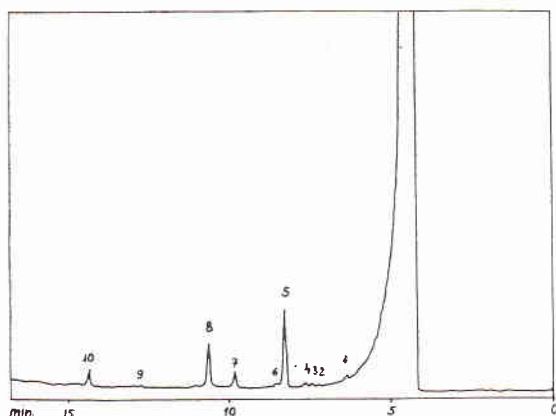
Na obr. 3 a 4 sú arómagramy sorty Jonathan a Golden Delicious. Ako vidieť, arómagramy sú veľmi rozdielne a teda metóda je vhodná pre porovnanie vzorky so štandardným druhom jablák.



Obr. 3. Arómagram vzorky Jonathan. Kolóna 5 % [váž.] Ucon LB 550 x + 0,2 % [váž.] THEED na chromosorbe u (0,20—0,25 mm) pri 70 °C, 2 m, Ø 3 mm 0,4 kp/cm² N₂

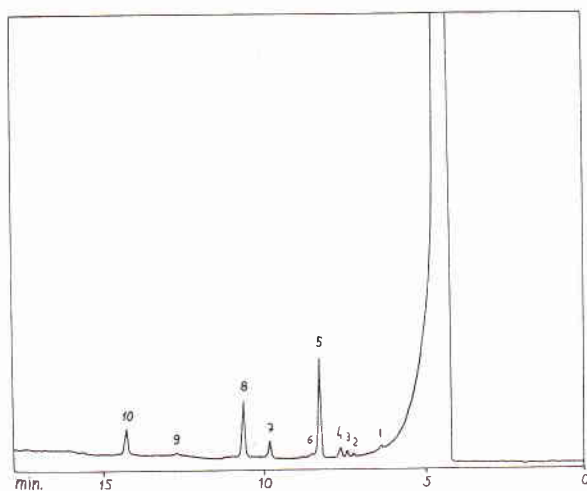


Obr. 4. Arómagram vzorky Golden Delicious. Kolóna: ako obr. 3

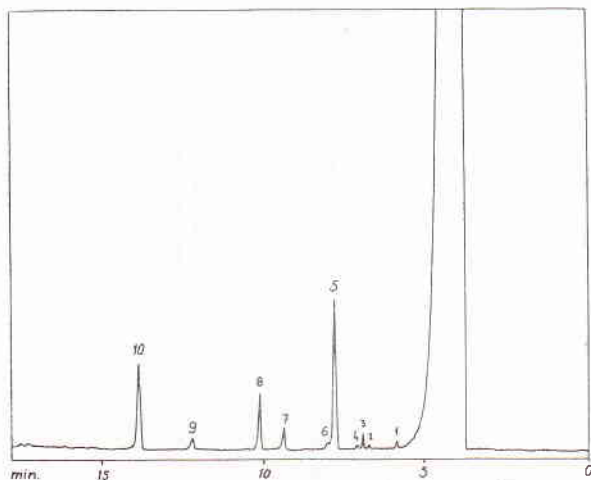


Obr. 5. Chromatogram vzorky Golden Delicious zo dňa 18.12.1969. Elučné vlny: (1) s. butanol, (2) i-butanol, (3) n-butylacetát, (5) n-butanol, (4, 6–10) zatiaľ neidentifikované. Kolóna: Triton X-305, kapilárna 30 m, vnút. \varnothing 0,25 mm, programovanie teploty od 70–140 °C pri 4 °C/min.

Na štúdium dozrievania jabĺk počas skladovania sme použili extrakčnú metódu. Na obr. 5 až 7 sú chromatogramy vzoriek jabĺk Golden Delicious v rôznych štádiách dozrievania. Z chromatogramov na obr. 5 až 7 vidieť,



Obr. 6. Chromatogram vzorky Golden Delicious zo dňa 19. 1. 1970. Elučné vlny a kolóna: ako obr. 5

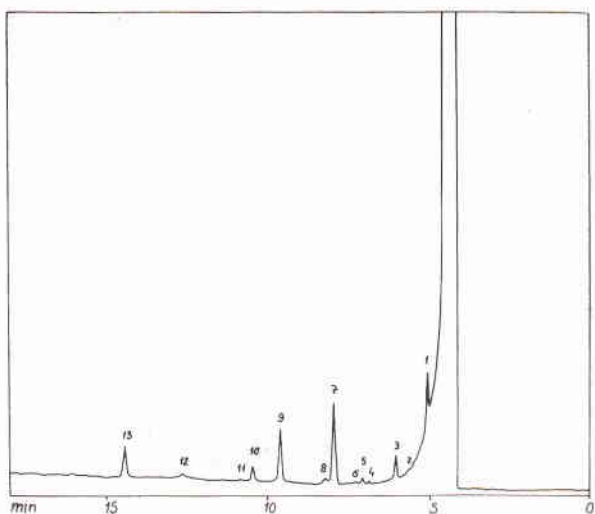


Obr. 7. Chromatogram vzorky Golden Delicious zo dňa 24. 3. 1970. Elučné vlny a kolóna: ako obr. 5

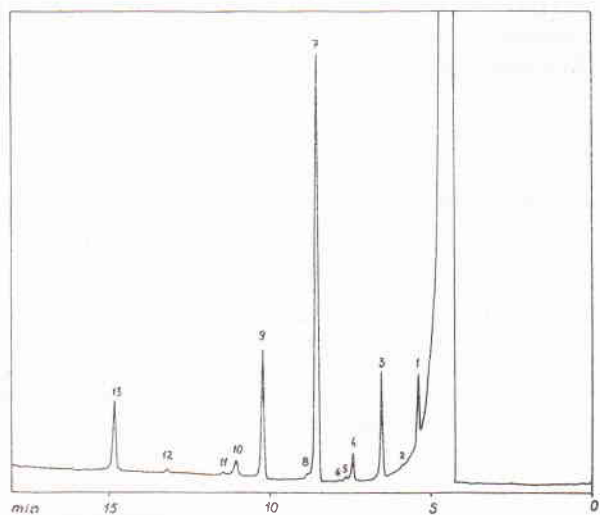
že mení sa nielen počet elučných vln, ale aj ich vzájomné zastúpenie. Ku koncu dozrievania stúpa počet prchavých zložiek.

Na obr. 8 až 10 sú chromatogramy vzoriek jablák Jonathan v rôznych štádiách dozrievania.

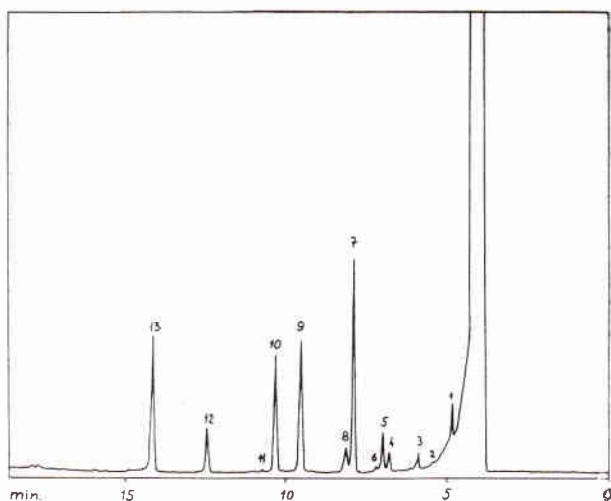
Podobne sme analyzovali aj vzorky jablák Ontário a Starking a zistili sme rozdiel v chromatogramoch jablák v závislosti od sorty a doby dozrievania.



Obr. 8. Chromatogram vzorky Jonathan zo dňa 18. 12. 1969. Elučné vlny: (1) etanol, (2) n-propylacetát, (3) s. butanol, (4) i-butanol, (5) n-butylacetát, (7) n-butanol, (6, 8—13) zatiaľ neidentifikované. Kolóna: ako obr. 5



Obr. 9. Chromatogram vzorky Jonathan zo dňa 29. 1. 1970. Elučné vlny: ako obr. 8. Kolóna: ako obr. 8



Obr. 10. Chromatogram vzorky Jonathan zo dňa 21. 3. 1970. Elučné vlny a kolóna ako obr. 8

S ú h r n

Sledovalo sa zloženie aromatických látok jabĺk plynovou chromatografiou. Použil sa prístroj Perkin-Elmer model F 11 a plynový chromatograf mod. G 3 (Carlo Erba, Miláno) s plamennoionizačným detektorom a dusíkom ako nosným plynom. Zistil sa rozdiel v zložení aromatických látok jabĺk v závislosti od sorty a času dozrievania.

L i t e r a t ú r a

1. W. H. Mo Fadden, R. Teranishi, J. Corse, D. R. Black, T. R. Mon, J. Chromatog. 18, 10 (1965).
2. R. E. Kepner, H. Maarse, J. Strating, And. Chem. 36, 77 (1964).
3. R. Bassetle, S. Ozeris, C. H. Whitnah, And. Chem. 34, 1540 (1962).
4. R. Bassetle, S. Ozeris, And. Chem. 35, 1091 (1963).
5. L. Gasco, R. Barrera, F. de la Cruz, J. Chromatog. Sci. 7, 228 (1969).

Применение газовой хроматографии в изучении качества хранившихся яблок

Резюме

Наблюдался состав ароматических веществ яблок с помощью газовой хроматографии. Был применен прибор Перкин-Элмер модель Ф 11 и газовой хроматограф (Карло Эрба, Милано) и пламенной ионизационный детектор с несущим газом — азотом. Была определена разница в составе ароматических веществ яблок в зависимости от сорта и времени созревания.

Application of gas chromatography at the study of the quality of stored apples

Summary

It was researched the composition of aromatics in apples by means of gas chromatography. For this purposes it has been used the Perkin-Elmer instrument model F 11 and a gas chromatograph model G 3 (Carlo Erba, Milano) with a flame ionization detector with nitrogen as bearer gas. It was find out a different composition of aromatics in apples in dependence of sort and maturing time.