

## Metóda na HSGC analýzu ľahko prechavých látok v mliečnych výrobkoch

VLADIMÍR PALO — MÁRIA KANÁTOVÁ — TOMÁŠ HRACHOVEC

**Súhrn.** V práci sa opisuje „headspace“ — plynová chromatografia (HSGC), pôvodne určená na stanovenie zvyškov rozpúšťadiel v obalových materiáloch [3] a na analýzu prechavých látok prítomných v mliečnych výrobkoch.

Získané výsledky (citlivosť, výťažnosť a reprodukovateľnosť metódy) dokazujú, že metódu okrem jej pôvodného určenia možno v modifikovanej forme použiť aj na rýchle stanovenie jednotlivých ľahko prechavých látok v mlieku a mliečnych výrobkoch, prípadne aj v iných požívatinách.

V mliekárenskej praxi je rozšírená analýza prechavých látok v mliečnych výrobkoch metódou „headspace“—plynová chromatografia (HSGC). V danom prípade ide zvyčajne o GC analýzu prechavých látok nachádzajúcich sa v uzavretom priestore nad vzorkou. Teoretické základy uvedenej metódy a viaceré jej modifikácie a aplikačné možnosti (využívané aj v mliekárstve) sú obsiahnuté v [1, 2, 4—8].

HSGC prechavých látok sa neustále zdokonaľuje a rozširujú sa jej aplikačné možnosti.

Gagliardi a spol. [3] vyvinuli HSGC metódu na stanovenie prechavých látok v obalových materiáloch. Výstrižok testovaného obalového materiálu sa dá do temperovateľnej a vzduchotesne uzavretej komôrky upevnenej na injektor plynového chromatografu. Záhrevom sa z obalového materiálu uvoľnia prechavé látky do priestoru komôrky. Tieto sa potom z komôrky „vypláchnu“ nosným plynom priamo na analytickú kolónu a analyzujú plynovou chromatografiou. Táto metóda sa na našich pracoviskách úspešne využívala pri štúdiu vplyvu obalových materiálov na zmenu vlastností baleného mlieka a mliečnych výrobkov [9—12]. V tejto súvislosti bolo potrebné sledovať okrem prechavých

---

Doc. Ing. Vladimír Palo, CSc., Ing. Mária Kanátová, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Jánska 1, 812 37 Bratislava.

Ing. Tomáš Hrachovec, Hygienická stanica hl. mesta SSR, Šmidkeho 8, 825 50 Bratislava.

látok obalového materiálu aj ich zastúpenie v balených mliečnych výrobkoch. Vzhľadom na nevyhnutnosť porovnávať získané výsledky bolo potrebné použiť rovnakú analytickú metódu na stanovenie prechavých látok tak v obalových materiáloch, ako aj v zabalených mliečnych výrobkoch. Tento problém sa riešil tak, že sa pôvodná metóda [3] po čiastočnej úprave použila aj na analýzu prechavých látok v mliečnych výrobkoch.

Cieľom tejto práce je overiť možnosti využitia HS GC metódy pôvodne určenej na analýzu zvyškov rozpúšťadiel v obalových materiáloch [3] a na analýzu ľahko prechavých látok nachádzajúcich sa v mliečnych výrobkoch.

### Experimentálna časť

V práci sa použila temperovateľná odparovacia komôrka, určená jej výrobcom (Carlo Erba, Miláno) na stanovenie prechavých látok — zvyškov rozpúšťadiel — v obalových materiáloch, upevnenou na injektor plynového chromatografu.

Obrázky 1—3 zobrazujú celkovú situáciu pri aplikácii temperovateľnej (odparovacej) komôrky.

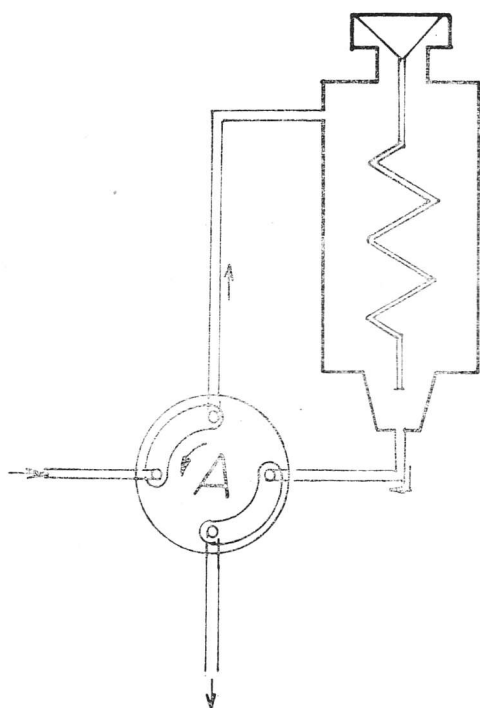
Podľa obrázku 2 sa do komôrkovej výparnej časti vložila namiesto vzorky obalového materiálu sklená skúmavka ( $3,0 \times 0,5$  cm), do ktorej sa dala vzorka mlieka alebo mliečneho výrobku. Po uzavretí komôrky a jej vytemperovaní sa zo vzorky uvoľnené ľahko prechavé látky vypláchli nosným plynom priamo na chromatografickú kolónu a analyzovali sa plynovou chromatografiou.

Pracovné podmienky uvádza tabuľka 1.

Koncentrácia ľahko prechavých látok uvoľnených z mliečnych výrobkov (mlieko, jogurt, syr) sa vyhodnocovala z výšky chromatografického záznamu a použitím vnútorného štandardu — acetonitrilu. Metóda sa testovala na reprodukovateľnosť, výťažnosť a citlivosť.

### Výsledky a diskusia

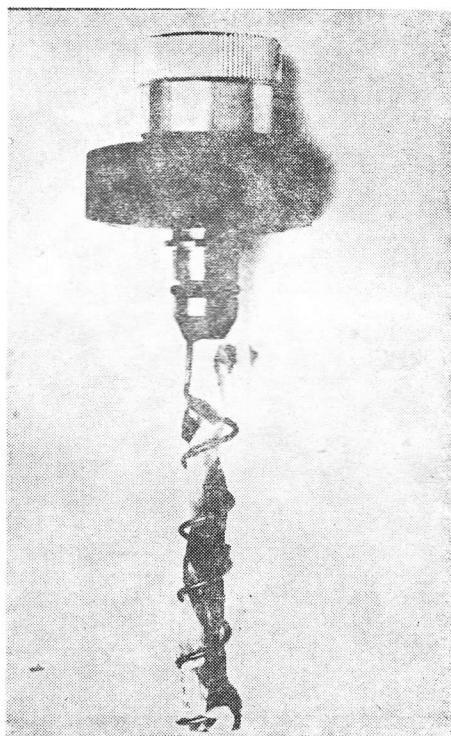
Pracovné podmienky uvedené v tabuľke 1 (čas, teplota odparovania, optimálny návažok vzorky, čas dávkovania) sa experimentálne odskúšali na mlieku, jogurte a syroch. Vhodnosť metódy na analýzu ľahko prechavých látok v mliečnych výrobkoch rozdielnej konzistencie sa overovala na reprodukovateľnosť, výťažnosť a citlivosť.



Obr. 1. Schéma temperovateľnej (odparovacej) komôrky.

Fig. 1. Scheme of a heating (distillation) chamber.

Obr. 2. Detail komôrky znázorňujúci možnosť zachytenia obalového ma-



teriálu, prípadne skúmavky so vzorkou [3].

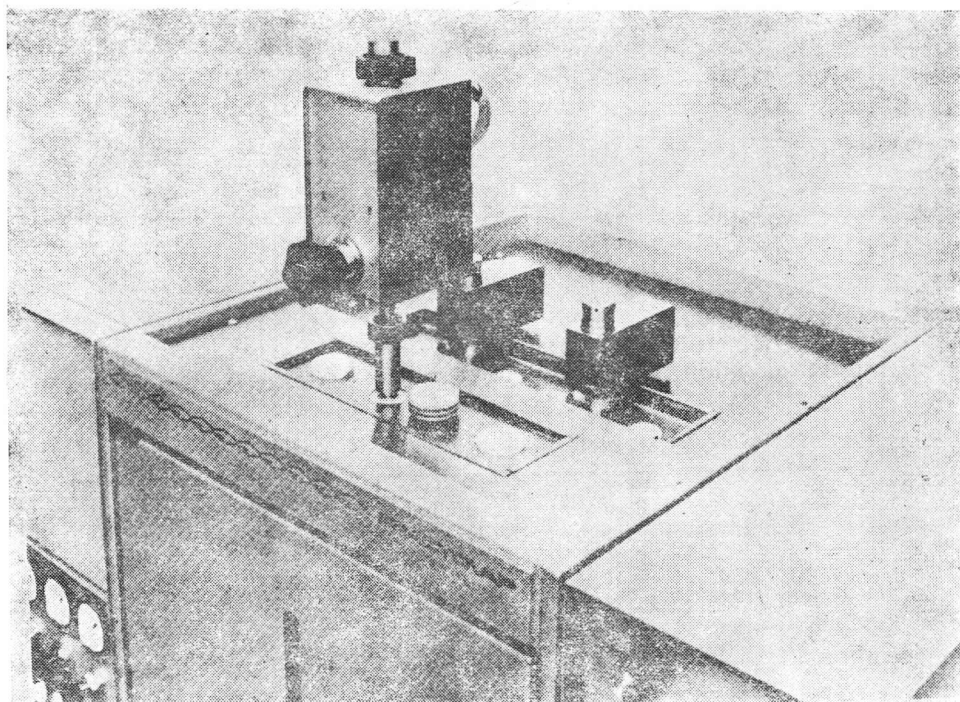
Fig. 2. A detail of the chamber, showing the possibility of attaching the casing material or the test-tube with a sample [3].

Tabuľka 1. Pracovné podmienky HSGC analýzy ľahko prchavých látok v mliečených výrobkoch s použitím temperovateľnej (odparovacej) komôrky

Table 1. Operating conditions for the HSGC analysis of easily volatile substances in milk products by using a heating (distillation) chamber

Prístroj:	Fractovap mod. 220 s FID (Carlo Erba, Miláno) <sup>(1)</sup>
Kolóna:	sklená 0,25 × 180 cm, plnená s 10 % PEG 1500 + 1 % THED na Chromosorb W (80/100 mesh) <sup>(2)</sup>
Nosný plyn:	dusík ( $7,82 \times 10^{-4}$ Pa) <sup>(3)</sup>
Teplota kolóny:	86 °C <sup>(4)</sup>
Teplota komôrky:	80 °C <sup>(5)</sup>
Čas odparovania vzorky v komôrke:	20 min <sup>(6)</sup>
Doba dávkovania:	30 s <sup>(7)</sup>
Návažok vzorky:	0,3—0,5 g <sup>(8)</sup>

<sup>1</sup>Device: Fractovap model 220 with FID (Carlo Erba, Milan), <sup>2</sup>Column: of glass, 0.25 × 180 cm, filled with 10% PEG 1500 + 1% THED on Chromosorb W (80/100 mesh), <sup>3</sup>Carrier gas: nitrogen ( $7.82 \times 10^{-4}$  Pa), <sup>4</sup>Column temperature: 86 °C, <sup>5</sup>Chamber temperature: 80°C, <sup>6</sup>Distillation time of the sample in the chamber: 20 min, <sup>7</sup>Time of dosing: 30 s, <sup>8</sup>Weight of the sample: 0.3—0.5 g.



Obr. 3. Celkový pohľad na komôrku upevnenú na plynový chromatograf [3].  
 Fig. 3. An overall view of the chamber attached to the gas chromatograph [3].

teľnosť, výťažnosť a citlivosť. Na to sa použili výsledky získané analýzou 10 vzoriek mlieka, jogurtu a syra Niva.

Reprodukovateľnosť metódy uvádza tabuľka 2.

Pri syre sa testovala jeho zmes s morským pieskom (1 : 1) a jeho 40 % vodný roztok. Na základe výsledkov uvedených v tabuľke 2 možno konštatovať, že opísaná metóda dáva dobrú reprodukovateľnosť získaných výsledkov, a to tak pri analýze tekutých, ako aj kašovitých mliečnych výrobkov.

V prípade analýzy tuhých výrobkov — syrov, to možno tvrdiť iba pri použití vodného roztoku syra. Výťažnosť metódy sa študovala osobitne pre mlieko, jogurt a syr. Aplikovala sa pritom metóda vnútorného štandardu. Výťažnosť sa študovala pre 4 rozdielne koncentrácie acetaldehydu, acetónu a etanolu. Vnútorný štandard, acetonitril, sa pridal ku všetkým vzorkám pred ich analýzou v týchto množstvách: 1,52 mg na 100 g mlieka, 1,52 mg na 50 g jogurtu, 1,52 mg na 100 g 40 % vodného roztoku syra.

Výsledky výťažnosti metódy uvádza tabuľka 3.

Z výsledkov vidieť, že výťažnosť stúpala vzhľadom na menšiu prchavosť testovanej zlúčeniny — najvyššia bola pri etanole, najmenšia pri acetaldehyde.

o 40 % vodný

50 g jogurtu,

sin prehavost  
acetaldehyde.

Tabuľka 2. Reprodukovateľnosť metódy hodnotená z výšky vrcholu GC záznamu ľahko prehavých látok mlieka, jogurtu a syra ( $n = 10$ )  
Table 2. Reproducibility of the method evaluated by considering the height of the maxima of easily volatile substances, recorded by GC in milk, yogurt and cheese ( $n = 10$ )

[illegible]

Tabuľka 3. Výťažnosť metódy  
Table 3. Jieldability of the method

Mliečny výrobok <sup>1</sup>	Zlúčenina <sup>5</sup>								
	Acetaldehyd <sup>6</sup>			Aceton <sup>7</sup>			Etanol <sup>8</sup>		
	Pridané <sup>9</sup> [mg]	Zistené <sup>10</sup> [mg]	Výťaž- nosť <sup>11</sup> [%]	Pridané <sup>9</sup> [mg]	Zistené <sup>10</sup> [mg]	Výťaž- nosť <sup>11</sup> [%]	Pridané <sup>9</sup> [mg]	Zistené <sup>10</sup> [mg]	Výťaž- nosť <sup>11</sup> [%]
Mlieko <sup>2</sup>	0,261	0,166	63,6	0,337	0,281	76,4	0,422	0,378	89,7
	0,348	0,226	65,2	0,450	0,378	84,2	0,663	0,620	97,2
	0,522	0,378	72,4	0,562	0,484	86,1	0,949	0,887	93,5
	0,696	0,514	73,9	0,787	0,681	86,6	1,266	1,225	96,9
Jogurt <sup>3</sup>	0,126	0,910	72,2	0,450	0,363	80,1	0,605	0,599	99,0
	0,348	0,244	70,1	0,563	0,469	83,3	0,949	0,917	96,7
	0,522	0,333	63,8	0,675	0,551	81,7	1,110	1,044	94,1
	0,696	0,514	73,9	0,787	0,681	86,6	1,266	1,225	96,9

Tabuľka 4. Medza dôkazu niektorých prechavých látok v mlieku, jogurte a syre analyzovaných metódou HSGC  
 Table 4. Possibility limit of determining some volatile substances in milk, yogurt and cheese analysed by the HSGC method

Koncentrácia <sup>4</sup> [ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ]						
Mlieko <sup>5</sup>						
Acetaldehyd <sup>1</sup>	0,60	0,38	0,30	0,22	0,15	—
Acetón <sup>2</sup>	1,82	0,91	0,45	0,25	—	—
Etanol <sup>3</sup>	11,19	4,50	1,20	0,50	—	—
Jogurt <sup>6</sup>						
Acetaldehyd <sup>1</sup>	6,64	3,77	5,75	2,26	0,90	0,15
Acetón <sup>2</sup>	1,06	0,75	0,45	0,21	—	—
Etanol <sup>3</sup>	8,90	2,87	0,76	0,53	—	—
Syr <sup>7</sup>						
Acetaldehyd <sup>1</sup>	0,30	0,21	0,16	—	—	—
Acetón <sup>2</sup>	0,76	0,40	0,23	—	—	—
Etanol <sup>3</sup>	3,78	1,52	0,78	0,52	—	—

<sup>1</sup>Acetaldehyde, <sup>2</sup> Acetone, <sup>3</sup>Ethanol, <sup>4</sup>Concentration, <sup>5</sup>Milk, <sup>6</sup>Yogurt, <sup>7</sup>Cheese.

Pri porovnávaní výsledkov vzhľadom na druh analyzovaného mliečného výrobku vidieť, že pri syre sa zistila najnižšia výťažnosť. Súvisí to pravdepodobne s prípravou — dokonalou homogenizáciou vzorky syra.

Za medzu dôkazu sa pokladá najmenšie množstvo stanovenej zložky, ktorá sa dá použitou metódou určiť. Táto hodnota sa uvádza ako absolútna v hmotnostných množstvách stanovenej zložky alebo ako relatívna, t. j. v  $\mu\text{g}$  zložky na 1 g vzorky.

Pri stanovení medze dôkazu niektorých prechavých látok v mliečnych výrobkoch rôznej konzistencie sa postupovalo obdobne ako pri stanovení výťažnosti metódy, ale s tým rozdielom, že sa do vzoriek mlieka, jogurtu a syrového vodného roztoku pridávali acetaldehyd, acetón a etanol so znižujúcou sa koncentráciou až do takej minimálnej hodnoty, ktorá sa dala použitou metódou ešte kvantitatívne určiť. Výsledky uvádza tabuľka 4. Vyplýva z nich, že medza dôkazu pre testované ľahko prechavé látky stúpa od acetaldehydu k etanolu. Môže sa to vysvetliť rozdielnou prechavosťou týchto látok — medza dôkazu stúpa znižovaním ich prechavosti. Výsledky poukazujú na to, že uvedená metóda je najcitlivejšia pre acetaldehyd.

Zhrnutím výsledkov získaných z overovania citlivosti, výťažnosti a reprodukovateľnosti uvedenej metódy vyplýva, že v danom prípade ide o metódu vhodnú okrem jej pôvodného určenia — na analýzu prechavých látok v obalových materiáloch — aj na kvantitatívnu analýzu ľahko prechavých látok v mlieku a mliečnych výrobkoch, prípadne aj v iných požívatinách.

### Literatúra

1. DICKES, G. J. — NICHOLAS, P. V.: Gas Chromatography in Food Analysis. London, Butterworths 1976, s. 393.
2. DROZD, J. — NOVÁK, J.: J. Chromatogr., 165, 1979, s. 141.
3. GAGLIARDI, P. — MAPELLI, G. — POY, F.: Scienza Technol. Alimenti, 4, 1974, s. 161.
4. HACHEMBERG, H. — SCHMIDT, A. P.: Gas Chromatographic Head Space Analysis. London, Heyden a. Son 1977, s. 125.
5. PALO, V.: Aplikácia plynovej chromatografie v mliekárstve. Habilitačná práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1976.
6. PALO, V.: Aromatické látky mlieka. Habilitačná prednáška. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1979.
7. PALO, V.: Použitie headspace analýzy v mliekárstve. Bull. potrav. Výskumu, XXXIII (III), 1984, č. (pripravené do tlače).
8. PALO, V. — KÁTRA, J.: In: Zborník prednášok IV. sympózia o aromatických látkach v požívatinách. Bratislava, Potravinárska sekcia SVSPPL pri SAV 1979, s. 24.
9. PALO, V. a kol.: Oplyvnenie niektorých vlastností mlieka a mliečnych výrobkov PE fóliou a jej komponentmi. Výskumná správa. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1980.
10. PALO, V. a kol.: Štúdium prechavých a iných látok v obalových materiáloch. Výskumná správa. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1981.
11. PALO, V. a kol.: Štúdium vhodnosti PE fólie na balenie konzumného mlieka. Výskumná správa. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1983.
12. PALO, V. — ŠICHTA, J. — HRACHOVEC, T. — BENKO, M.: Prechavé látky v obalových materiáloch používaných v mliekárstve. Prům. Potravín, 35, 1984 (v tlači).

### Метод НСРС для анализа легколетучих веществ в молочных продуктах

#### Резюме

В работе описывается „headspace“ — газовая хроматография, первоначально предназначенная для определения остатков растворителей в упаковочных материалах (3) и для анализа летучих веществ, присутствующих в молочных продуктах.

Полученные результаты (чувствительность, выход и воспроизводимость метода) доказывают, что метод, наряду с его первоначальным предназначением, может быть использован в модифицированной форме и для быстрого определения отдельных легколетучих веществ в молоке и молочных продуктах, или же в других продуктах питания.



## Method for HSGC analysis of easily volatile substances in milk and milk products

### Summary

In this contribution „headspace“ gas chromatography (HSGC) is described that was originally designed to determine remains of solvents in casing materials [3] and to analyse volatile substances present in milk products.

Results gained by using this method (as well as its sensitivity, recovery and reproducibility) have shown that besides its original destination it can also be used in a modified form, to determine within a short time the individual easily volatile substances present in milk and milk products, eventually in other foodstuffs.