

Charakterizácia arómy nealkoholických nápojov mikroextrakciou a plynovou chromatografiou

663.86.854

Ing. JÁN HRIVNÁK, CSc., Ing. JÁN ILAVSKÝ Stavebná fakulta SVŠT, Bratislava — Ing. JANA TAKÁČOVÁ, Stredoslovenské konzervárne a liehovary, n. p., Liptovský Mikuláš

Prednesené na VII. sympóziu „Aromatické látky v poživatinách“, Banská Bystrica, 19.—20. februára 1985

Kľúčové slova: nealkoholické nápoje, aróma, mikroextrakcie, plynová chromatografie, izolácie, organické látky, izolácia

ÚVOD

Surovinové zdroje, úprava nápojov, kvalita a neustály vzrast ich výroby naznačujú, že potreba dokonalejšie kontroly nealkoholických nápojov z hľadiska dodržiavania ich kvality je veľmi naliehavá [1].

Jednou z charakteristických vlastností, spoločnou pre všetky nápoje, je aróma. V súčasnom období ako najvhodnejšia metóda na hodnotenie arómy je kapilárna plynová chromatografia. Priama chromatografická analýza nápoja na kapilárnych kolónach je problematická a môže spôsobiť rad ťažkostí (upchanie kolóny nesplyniteľnými zložkami ako sú cukry a soli). Analýza ovzdušia nad nápojom (bez zakonzentrovania) je zase málo citlivá najmä pre vyššie vrúce zložky, ktoré sú pomerne málo zastúpené v ovzduší nad nápojom. Preto látky tvoriace arómu je potrebné pred chromatografickým stanovením napred z nápoja izolovať.

Prchavé organické látky je možné z nápoja izolovať z plynnej fázy najčastejšie prebublávaním nápoja inertným plynom a zachytením vytesnených látok na vhodnom adsorbente (systém kvapalina—plyn—adsorbent), ďalej priamym kontaktom adsorbenta s nápojom (systém kvapalina—adsorbent) a extrakciou nápoja vhodným rozpúšťadlom (systém kvapalina—kvapalina).

Medzi najrozšírenejšie metódy izolácie organických látok z vodných roztokov patrí extrakcia a v poslednom období aj mikroextrakcia, t. j. extrakcia malým objemom extrahovadla. V tomto príspevku uvádzame možnosť využitia mikroextrakcie pri charakterizácii arómy nealkoholických nápojov.

Experimentálna časť

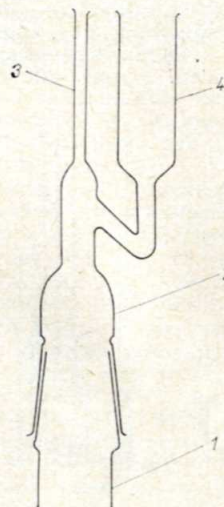
Použili sme plynový chromatograf Fractovap model 2350 (C. Erba, Milano) s plameňovým ionizačným detektorom. Extrakt nápoja v pentáne sme chromatografovali na sklenej kapilárnej kolóne dĺžky 45 m a vnútorného priemeru 0,30 mm, zmočenej silikónovou kvapalnou fázou OV-101. Teplota kolóny pri dávkovaní bola 40 °C, potom lineárne programovaná do 210 °C pri 4 °C/min. Teplota injekčného bloku a detektora bola 225 °C. Dávkovali sme 1,5 µl extraktu bezdeličovou injekčnou technikou.

Výsledky a diskusia

Pri extrakčných technikách izolácie a koncentrácie organických látok z vodných roztokov prichádzajú do úvahy dva faktory, a to množstvo extrahovadla a výťažnosť extrakcie. Čím väčšie množstvo extrahovadla sa použije, tým väčšia je výťažnosť, avšak koncentrácia analyzovaných zložiek v extrakte klesá. Extrakt je potom potrebné zahusťiť. Zahusťovaním extraktu zase dochádza ku stratám prchavejších zložiek a súčasne stúpa koncentrácia nečistôt pôvodne prítomných v extrahovadle. Akumulácia nečistôt, ako aj straty počas zahusťovania naznačujú, že je praktickejšie použiť menšie množstvo extrahovadla. Mnohé organické zlúčeniny je možné izolovať z vody mikroextrakciou. Pri mikroextrakcii sa používajú len malé objemy extrahovadla, takže nie je potrebné také extrémne zahusťovanie ako pri bežne používaných extrakciách. Problémom však zostáva voľba vhodného rozpúšťadla. Experimentálne sa ukázalo, že pri veľmi malých objemoch rozpúšťadla je rozhodujúca jeho rozpustnosť vo vode. Vo vode rozpustená časť extrahovadla má solubilizačný účinok, ktorý sa prejavuje tým viac, čím sú koncentrácie orga-

nických látok nižšie. Rozdeľovacie koeficienty platné pri vyšších koncentráciách majú iný priebeh pri veľmi zriedených roztokoch. Z hľadiska rozpustnosti majú najväčšie prednosti vyššie alkány, ktoré sú vo vode najmenej rozpustné. Nevýhodou vyšších alkánov je ich pomerne nízka čistota (problémy s prípravou) a možnosť strát pri extrakcii prchavejších zložiek. V súhlase s týmito úvahami je pentán pokladaný za najvhodnejšie extrahovadlo.

Ak sú vo vodných roztokoch suspendované látky, je potrebné tieto pred extrakciou odfiltrovať, inak môže nastať zakalenie rozpúšťadla, príp. nedokonalé rozvrstvenie kvapalín po extrakcii. Pre kvantitatívnu analýzu je výhodné použiť metódu vnútorného štandardu. Vnútorných štandardov môže byť i viac, po celej dĺžke chromatografického záznamu. Ako vnútorné štandardy sa často používajú 1-chlóralkány a pridávajú sa priamo do extrahovadla [2].



Obr. 1. Separátor tenkej vrstvy extrahovadla

Pri extrakcii je veľmi dôležitá dokonalá premiešanie vody s extrahovadlom. Z techník, ktoré sa vyskúšali (mechanické pretrepávanie, miešanie, ultrazvukové a nízkofrekvenčné vibrácie) sa najlepšie osvedčilo intenzívne ručné trepanie počas 3–5 minút. Keď je extrahovadlo ľahšie ako voda a na extrakciu sa použije oddelovací lievik, malé množstvo extrahovadla vytvorí na povrchu hladiny tenký film, ktorý je možno len ťažko oddeliť od extrahovanej kvapaliny. Pri vypúšťaní extrahovanej kvapaliny z oddelovacieho lievika sú straty na extrahovadle zapríčinené tým, že časť extrahovadla pokryje stenu lievika a časť sa odparí do priestoru lievika. Pri konečnom vypustení extrahovadla cez stopku oddelovacieho lievika je do extrahovadla obvyčajne strhávané aj malé množstvo vody, ktoré sa musí potom z extrahovadla odstrániť. Navyše, ak sa vyžaduje analýza aj prchavých látok, je potrebné rátať so stratami týchto látok už počas vypúšťania extrahovadla z lievika, pričom určitá časť extrahovadla ostáva na stenách stopky lievika.

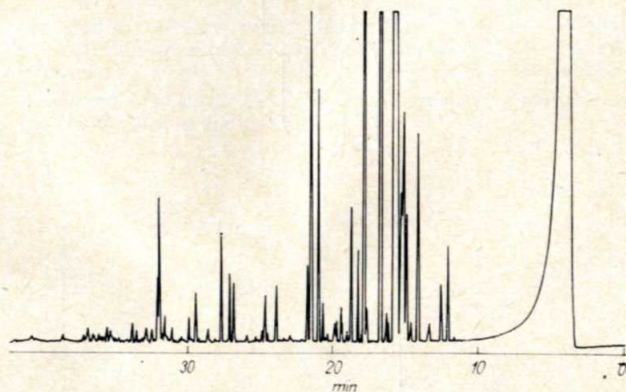
Spôsob separácie tenkej vrstvy extrahovadla rieši použitie separátora [3]. Mikroextrakcia prebieha v banke, ktorej na hrdlo 1 (obr. 1) po extrakcii a rozvrstve-

ní kvapalín sa nasadí separátor opatrený tenkou rúrou 3 pre extrahovadlo a šikmo pripojenou bočnou rúrou 4 pre vstup inertnej alebo extrahovanej kvapaliny. Táto po priliatí do extrakčnej banky vytlačí extrahovadlo do priestoru tenkej rúry 3. Stena tenkej rúry 3 nie je znečistená extrahovanou kvapalinou, je suchá a preto nie je nebezpečie mechanického strhávania kvapôčok vody do extrahovadla. Nie sú problémy so zdĺhavým plnením ani vyprázdňovaním ako napr. pri bankách so zúženým hrdlom. Extrahovadlo v rúre je ľahko prístupné a napr. pomocou injekčnej striekačky je možné priamo dávkovať do plynového chromatografu, príp. inak spracovávať. Týmto spôsobom napr. nie sú problémy pri extrakcii 1 l vodných roztokov s 0,2–0,5 ml pentánu (pri + 5 °C).

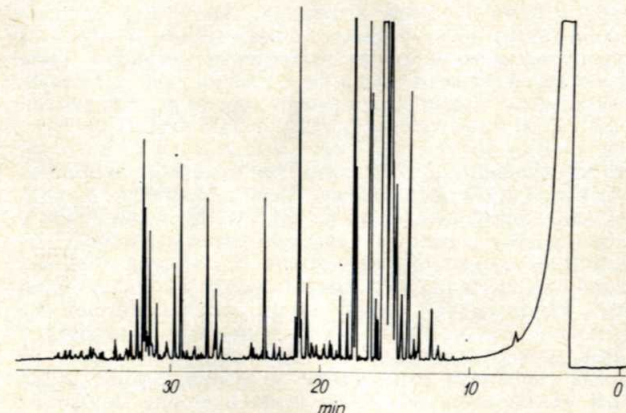
Mikroextrakčné techniky sa už viac rokov úspešne používajú na analýzu organických látok vo vodách [4–8]. Je to hlavne preto, že pri mikroextrakcii sa používajú malé množstvá extrahovadiel, čo je ekonomicky výhodné a tiež pre pomerne krátku dobu analýzy. Nevyžaduje sa totiž zdĺhavé zakoncentrovanie extraktu, čím čiastočne odpadnú aj problémy so zakoncentrovaním prípadných nečistôt v extrahovadle. Straty na prchavejších zložkách sú tiež pomerne menšie. I keď výťažnosti extrakcie sú pomerne nízke (okolo 20 až 40 %), sú reprodukovateľné a môžu sa použiť pre rutinnú kvantitatívnu analýzu.

Ako extrahovadlá sa väčšinou používajú nízkovrúce nasýtené uhľovodíky (pentán, hexán a pod.), prípadne ich halogénderiváty. Obecné možno povedať, že čím je štruktúra extrahovaných látok podobnejšia štruktúre extrahovadla, tým väčšie výťažnosti možno očakávať pre jednotlivé zložky a naopak.

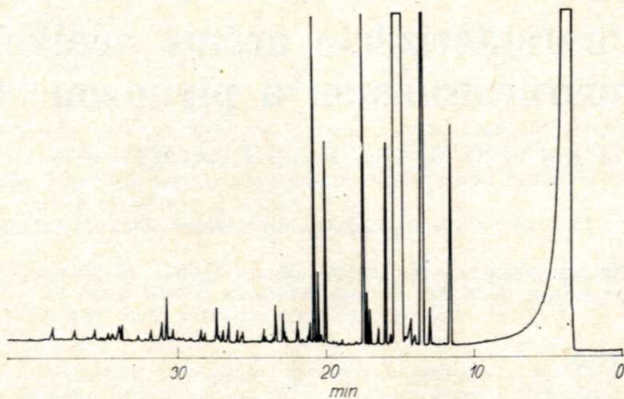
Vyššie opísanou mikroextrakčnou technikou sme extrahovali 250 ml nealkoholického nápoja (pri + 5 °C) pentánom (0,5 ml) a extrakt sme priamo (bez zahusťovania) chromatografovali. Plyný oxid uhličitý sme od-



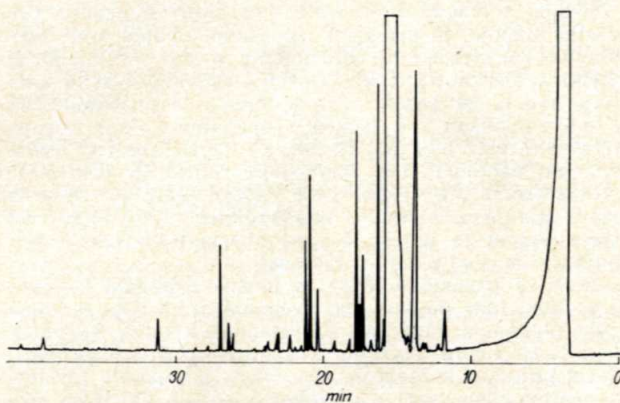
Obr. 2. Chromatogram pentánového extraktu nápoja Pepsi-Cola



Obr. 3. Chromatogram pentánového extraktu nápoja Kofola



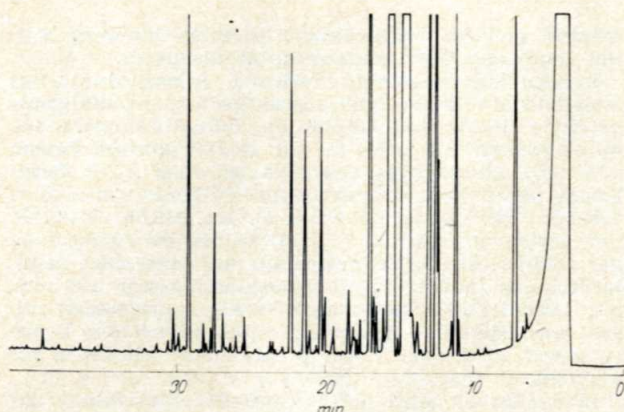
Obr. 4. Chromatogram pentánového extraktu pomarančového džúsu



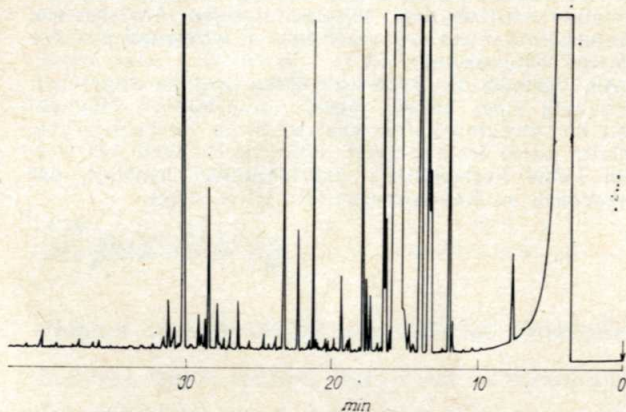
Obr. 5. Chromatogram pentánového extraktu citrónového džúsu

stránili neutralizáciou vzorky na pH 7,5 roztokom hydroxidu sodného. Na obr. 2 je chromatogram pentánového extraktu nápoja Pepsi-Cola a na obr. 3 nápoja Kofola. Porovnaním oboch chromatogramov je vidieť, že sa pomerne málo líšia. Zmenu chutnosti pri senzorickom hodnotení oboch nápojov môže zapríčiniť rad faktorov, okrem iného aj kvalita vody, ktorá sa na ich prípravu použila. Na obr. 4 je chromatogram pentánového extraktu pomarančového džúsu a na obr. 5 citrónového džúsu. Z obr. 2–5 je vidieť, že na chromatogramoch je niekoľko desiatok elučných vln, ktoré sú charakteristické pre arómu daného nápoja. Použitie mikroextrakcie môže byť významné predovšetkým pri kontrole kvality nealkoholického nápoja, a to či ide o produkt na báze prirodzených surovín alebo syntetických, prípadne ich kombinácií. Ďalšou možnosťou aplikácie mikroextrakcie je kontrola akosti nápojov priamo vo výrobe, pri štúdiu stability, zmene zapríčinenej svetlom, teplom alebo skladovaním. Takto je potom možné pripraviť nápoje, ktoré sa vyznačujú stabilnou kvalitou a môžu so označiť ako štandardné výrobky.

Ako už bolo spomenuté, výťažnosť mikroextrakcie závisí od štruktúry extrahovaných zlúčenín. Výťažnosti pri mikroextrakcii nie sú tak vysoké ako pri klasických extrakciách. Pretože ako extrahovadlá sa používajú nepolárne rozpúšťadlá, mikroextrakcia pre polárne zlúčeniny nie je vhodná. Akonáhle však v molekule vzrastajú nepolárne alebo menej polárne skupiny (alkyl, éterické, esterické a i.), môžeme očakávať vyššie výťažnosti aj zlúčenín s polárnymi skupinami (napr. OH, COOH a pod.). Prax totiž ukazuje, že práve tieto látky najviac prispievajú k aróme nápojov. Je to možné demonštrovať na príklade nižších a vyšších alkoholov, príp. kyselín. Napríklad zatiaľ čo výťažnosti nižších alkoholov sú prakticky zanedbateľné (a na arómu tieto málo prispievajú), vyššie alkoholy sú už pomerne dobre extrahovateľné. Podobne je to aj pri masných kyselinách.



Obr. 6. Chromatogram pentánového roztoku pomarančového koncentrátu



Obr. 7. Chromatogram pentánového extraktu vody s obsahom pomarančového koncentrátu

Informáciu o výťažnosti zložiek tvoriacich arómu môže poskytnúť chromatogram na obr. 6 a 7. Na obr. 6 je chromatogram pentánového roztoku pomarančového koncentrátu (1 mikroliter koncentrátu v 0,5 ml pentánu) a na obr. 7 chromatogram pentánového extraktu vody, v ktorej bol rozpustený pomarančový koncentrát (do 250 ml H₂O sa pridal 1 mikroliter koncentráta a extrahovalo sa 0,5 ml pentánu). Porovnaním chromatogramov na obr. 6 a 7 je vidieť, že kvalitatívne sú takmer zhodné, len vzájomne zastúpenie elučných vln je rozdielne, čo je zapríčinené nerovnakou výťažnosťou jednotlivých zložiek.

Použitie mikroextrakcie pri charakterizácii arómy nealkoholických látok má rad výhod. Pri mikroextrakcii sa dosahuje vysoký koncentračný faktor, ktorý umožňuje registrovať i nanogramové koncentrácie, ďalej extrakt nie je potrebné zakonzentrovávať (nie sú straty na prchavejších zložkách), mikroextrakcia je ekonomicky výhodná (z 1 litra rozpúšťadla je možné urobiť 2 až 3 tisíc analýz), doba na izoláciu je pomerne krátka (3–5 min) v porovnaní s inými metódami a nevyžadujú sa nákladné zariadenia (napr. mikročerpádlá) ako pri iných metódach.

Lektoroval dr. Jiří Malaska

Literatúra

- [1] FARKAŠ, J., HRIVNÁK, J.: Kvas. prům. 22, 1976, s. 63
- [2] GROB, K., GROB, K. Jr., GROB, G.: J. Chromatogr. 106, 1975, s. 299
- [3] HRIVNÁK, J.: Československý patent (AO č. 215 680), 1982
- [4] RHOADES, J. W., NULTON, C. P.: J. Environ. Sci. Health A 15, 1980, s. 467
- [5] MURRAY, D. A.: J. Chromatogr. 177, 1979, s. 135
- [6] BLANCHET, P. F.: J. Chromatogr. A 9, 1979, s. 123
- [7] FEYERABEND, C., RUSSEL, M. A. H.: J. Pharm. Pharmacol. 31, 1979, s. 73
- [8] JANDA, V., KRIJIT, K., HRIVNÁK, J.: Vodní hospod. B 5, 1984, s. 118

Hrivnák, J. - Ilavský, J. - Takáčová, J.: Charakterizácia arómy nealkoholických nápojov mikroextrakciou a plynovou chromatografiou. Kvas. prům. 32, 1986, č. 1, S. 17–20.

V úvodnej časti sa diskutujú spôsoby izolácie organických látok z nealkoholických nápojov a možnosti ich stanovenia kapilárnou plynovou chromatografiou.

V experimentálnej časti ako izolačná technika sa použila mikroextrakcia a následná kapilárna plynová chromatografia extraktu. Extrahovalo sa 250 ml nápoja ochladeného na + 5 °C pentánom (0,5 ml). Na separáciu tenkej vrstvy extrahovadla sa použilo špeciálne zariadenie podľa A. O. č. 215 680. Extrakt (1,5 µl) sa priamo analyzoval bezdeličovou injekčnou technikou na skelnej kapilárnej kolóne dĺžky 45 m a vnút. priemeru 0,30 mm, impregnovanej silikónovou kavaľnou fázou OV-101. Teplota kolóny pri dávkovaní bola 40 °C, potom lineárne programovaná do 210 °C pri 4 °C/min.

V práci je uvedená schéma zariadenia na separáciu tenkej vrstvy extrahovadla a sú diskutované výsledky chromatogramov nápojov Pepsi-Cola, Kofola, pomarančového a citrónového džúsu. Možnosť kvantifikácie výsledkov je diskutovaná na príklade priamej analýzy pomarančového koncentráta a po jeho izolácii z vodného roztoku.

Výhodou mikroextrakcie je dosiahnutie vysokého koncentračného faktora, ďalej možnosť priamej analýzy extraktu bez zakonzentrovania, pomerne krátka doba izolácie, nevyžadujú sa nákladné zariadenia a vzhľadom k potrebe malého množstva extrahovadla je mikroextrakcia aj ekonomicky výhodná.

Гривняк, Я., Илавский, Я., Такачова, Я.: Характеристика аромата безалкогольных напитков путем микроэкстрагирования и газовой хроматографии. Кvas. прум. 32, 1986, № 1, стр. 17–20.

В ведении статьи обсуждаются способы изолирования органических веществ из безалкогольных напитков и возможности их определения при помощи капиллярной газовой хроматографии.

В экспериментальной части в качестве метода изолирования было применено микроэкстрагирование и последующая капиллярная хроматография экстракта. Экстрагировалось 250 мл напитка, охлажденного до + 5 °C/пентаном (0,5 мл). Для сепарации тонкого слоя экстракционного реактива была применена специальная аппаратура по А. О. № 215 680. Экстракт (1,5 µл) прямо анализировали неразделительным инъецированием на стеклянной капиллярной колонке длиной 45 м и с внутренним диаметром 0,30 мм, насыщенной силиконовой жидкой фазой OV-101. Температура колонки при дозировании составляла 40 °C, потом линейно программированная до 210 °C при 4 °C/мин.

В работе приведена схема установки для сепарации тонкого слоя экстракционного реактива и обсуждаемые результаты хроматограмм напитков Пепси-кола, Кофолы, апельсинового и лимонного соков. Возможность квантификации результатов рассматривается на примере прямого анализа апельсинового концентрата и после его изолирования из водного раствора.

Выгодой микроэкстрагирования является достижение высокого концентрационного фактора, далее возможность прямого анализа экстракта без его концентрирования, относительно короткое время изолирования; оно не требует дорогие установки и ввиду небольшого расхода экстракционного реактива микроэкстрагирование также экономически выгодно.

Hrivnák, J. - Ilavský, J. - Takáčová, J.: Aroma Characterization of Non-Alcoholic Beverages Using Microextraction and GC. Kvas. prům. 32, 1986, No. 1, pp. 17–20.

In the first part the methods of isolation of organic compounds from non-alcoholic beverages including the possibilities of their estimation by the GC with the capillary column are discussed. In the experimental part microextraction for the isolation was used. The extract was analysed using the GC in the capillary column. 250 ml of the beverage cooled to + 5 °C was extracted by pentane (0,5 ml). The separation of the thin layer of

the extraction agent was performed in the special apparatus according to Czechoslovak Patent No. 215 680. The extract (1,5 μ l) was directly analyzed using injection technique in a glass capillary column with a length of 45 m and with an inner diameter of 0.3 mm. The column was treated with the silicon phase OV-101. The temperature of the column during a sampling was 40 °C then was increased according to the program to 210 °C at a rate of 4 °C per minute. Further, a schema of the apparatus for a separation of the thin layer of the extraction agent is shown. The result in the form of chromatograms of beverages Pepsi-Cola, Kofola, orange juice and lemon juice are discussed. The possible quantitative analysis of the results is discussed on an example of the direct analysis of orange concentrate and after its isolation from a water solution. The advantages of microextraction are as follows: an achievement of a high concentration, a possibility of the direct analysis of the extract without its further concentration, a relatively short time of isolation, a simple apparatus and an economic suitability of microextraction due to a low consumption of the extraction agent.

Hrivňák, J. - Ilavský, J. - Takáčová, J.: Charakterisierung des Aromas von alkoholfreien Getränken durch Mikroextraktion und Gaschromatographie. Kvas. prům. 32, 1986, Nr. 1, S. 17—20.

In dem Einführungsteil werden die Verfahren zur Isolation organischer Substanzen aus alkoholfreien Ge-

tränken und die Möglichkeiten ihrer Bestimmung mittels kapillarer Gaschromatographie diskutiert.

In dem experimentalen Teil der Arbeit wurde als Isolationstechnik die Mikroextraktion und nachfolgende kapillare Gaschromatographie des Extrakts angewendet. Es wurde ca 250 ml des auf + 5 °C mittels Pentan (0,5 ml.) abgekühlten Getränks extrahiert. Zur Separation der dünnen Extraktionsmittelschicht wurde eine spezielle Einrichtung nach A. O. Nr. 215 680 benutzt. Der gewonnene Extrakt (1,5 μ l) wurde bei Anwendung der trennerlosen Injektionstechnik auf einer Glas-Kapillar-Kolonne (Länge 45 m, Innendurchmesser 0,30 mm, mit Silicon-Flüssigkeitsphase OV-101 impregniert) direkt analysiert. Die Kolonne-Temperatur bei der Dosierung war 40 °C, dann linear programmiert bis 210 °C bei 4 °C/min.

In der Arbeit wird das Schema der Einrichtung zur Separation der dünnen Extraktionsmittelschicht angeführt und die Ergebnisse der Chromatogramme der Getränke Pepsi-Cola, Kofola, Orangen- und Zitronenjuice diskutiert. Die Möglichkeit der Quantifikation der Ergebnisse wird an dem Beispiel direkten Analyse von Orangenkonzentrat und nach seiner Isolierung aus der Wasserlösung diskutiert.

Als Vorteile der Mikroextraktion werden angeführt: Erzielung eines hohen Konzentrationsfaktors, Möglichkeit der direkten Extraktanalyse ohne Konzentrierung, relativ kurze Isolationszeit, Wirtschaftlichkeit (es werden keine kostspieligen Einrichtungen benötigt, der Verbrauch an Extraktionsmitteln ist niedrig).