



DEBRECENI EGYETEM

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Prof. Dr. Csapó János
egyetemi tanár

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográfia célja: hasonló kémiai szerkezetű vegyületek térbeli elválasztása és mennyiségi, valamint minőségi jellemzése a retenciós idő és a csúcsterület (magasság) – koncentráció összefüggés alapján.

Elválasztástechnika – komponensek térbeli elkülönítése

Réteg kromatográfia: 1930-tól.

Gázkromatográfia: 1959-től.

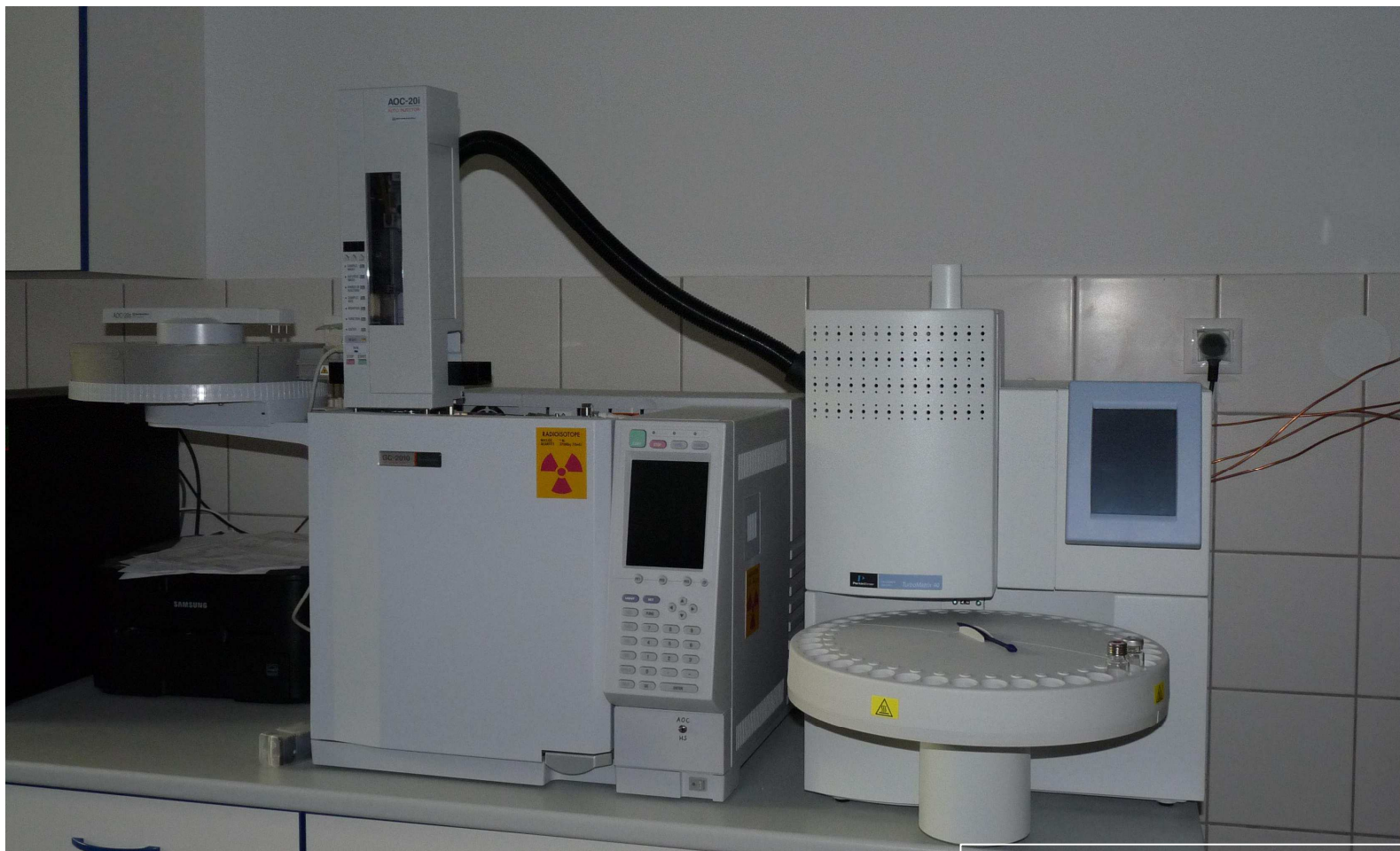
Ioncserés oszlopkromatográfia, folyadékkromatográfia 1960-tól.

Modern gázkromatográfia: 1970-től. Hatékony töltetek, kapilláris oszlopok, érzékeny detektorok.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Egy Shimadzu GC 2010 gázkromatográf



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



Egy Shimadzu GCMS-QP 2010 Plus gázkromatográf

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A vizsgálandó komponens és az állófázis között fellépő kölcsönhatások

Ionos (Ioncserés).

Dipólus - Dipólus (Normál fázisú).

Intermolekuláris erők, amelyek poláris molekulák pozitív és negatív dipólus momentumai között alakulnak ki.

Dipólus - Indukált Dipólus (Normál fázisú).

Dipólus momentummal nem rendelkező molekulákban poláris molekulák ideiglenesen dipólus momentumot indukálhatnak az elektronok szimmetrikus elrendeződését megbontva.

Hidrofób (Fordított fázisú).

Sztereospecifikus (Királis).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Poláris (specifikus, de nem ionos) kölcsönhatás a vegyületek és az állófázis poláris csoportjai között (SiOH, -NH₂, -CN, Diol), ami retencióhoz vezet.

Különböző adszorpciós affinitású molekulák különböző retencióval jelentkeznek (minél polárisabb egy vegyület, annál nagyobb retenció ideje lesz).

Több poláris funkciós csoportot tartalmazó vegyületek többet tartózkodnak az állófázison.

A helyzeti izomerek elválasztására is lehetőség van.

Állófázisok:

Szilikagél, alumínium-oxid, királis állófázis, módosított szilikagél, szén alapú, egyéb (pl. zeolit alapú) állófázisok.

Az állófázisokkal szemben támasztott követelmények:

Energetikailag homogén, egyenletes eloszlású pórusszerkezet (mikropórus mentes).

Mechanikai stabilitás (bírnak a magas hőmérsékletet).



Szilikagél alapú állófázisok (a leggyakrabban alkalmazott)

Módosított szilikagél

A módosítás célja a szilikagél polaritásának megváltoztatása.

A módosítás alapján lehetnek:

Monomer (klór-szilánokkal módosított).

Átmeneti (bifunkciós klór-szilánokkal módosított).

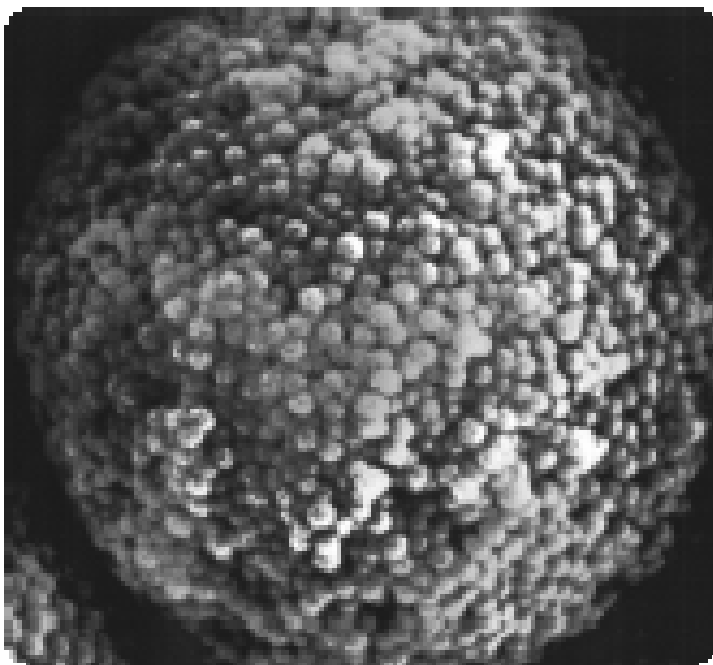
Polimer módosítás (trifunkciós klór-szilánokkal módosított).

(A folyadékkromatográfiában van nagy jelentőségük).

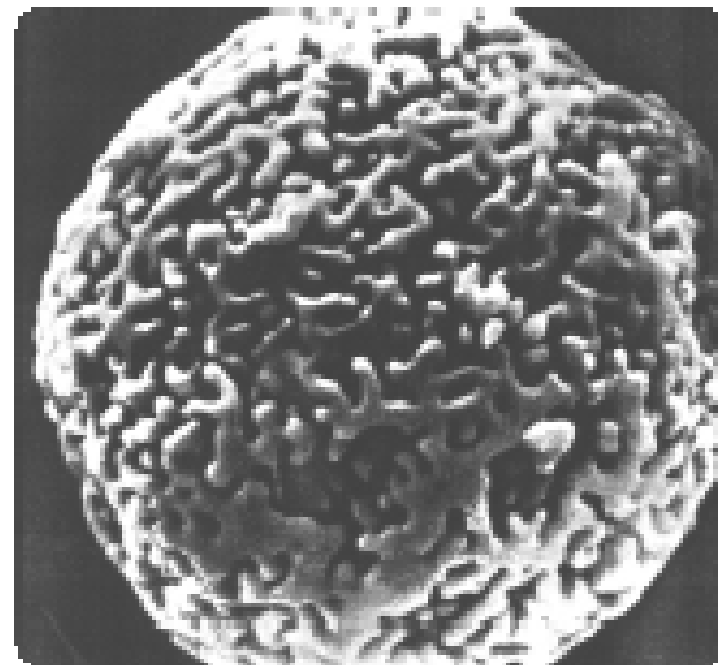


ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Különböző szilikagél fajták elektronmikroszkópos képe



Kemény szilikagél



Lágy szilikagél

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

A kromatográfiás eljárások során működő erők

Adszorpció

A kromatográfiás módszerek adszorpciós és megoszlási folyamatokkal járnak együtt.

A heterogén rendszerek határfelületén működő erők → egyik fázis felületén a vele érintkező másik fázis molekuláit kisebb-nagyobb mértékben képesek megkötni.

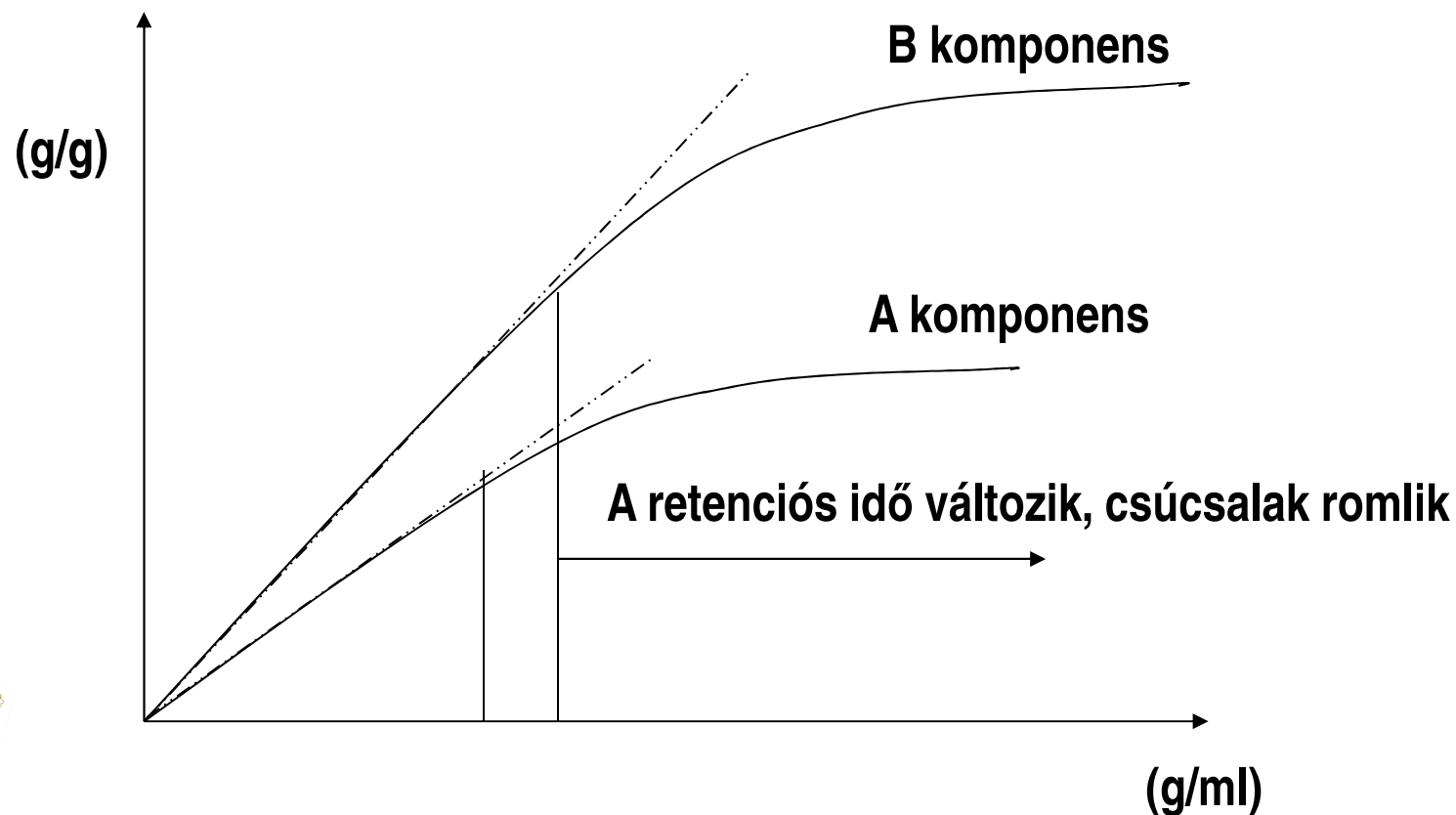
A fázis felületén a komponens koncentrációja nagyobb, mint a folyékony fázisban → a jelenség az **adszorpció**, az anyag, amelynek felülete a másik fázis molekuláit megköti az **adszorbens**, a felületen megkötött anyag az **adszorptívum**.

Az adszorpció: az adszorbens felületén lévő molekulák és az adszorptívum molekulái között erők hatnak → az adszorptívum molekuláinak egy részét az adszorbens felületére vonzzák.

Adszorpciókor: az erők az adszorptívum molekuláinak hőmozgása ellenében munkát végeznek, ami az **adszorpciós hő** alakjában szabadul fel.



Adszorpciós izoterma egy A és B anyagra



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az adszorbeált molekuláknak az adszorbens felületéről való eltávolítása, a **deszorpció**, lehűléssel jár → az adszorpció exoterm, a deszorpció endoterm folyamat.

Az adszorpció **dinamikus jelenség** → az adszorbeált felületi réteg és az adszorbeálatlan molekulák között kicserélődés megy végbe.



Az adszorptívum molekulái a hőmozgás következtében részben deszorbeálódnak.



Az adszorbeálatlan molekulák az adszorpciós erők hatására megkötődnek.



Az **adszorpciós egyensúly**: az időegységenként megkötött molekulák száma azonos a felületről leváló molekulák számával.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az adszorpciós folyamatok az egymással érintkező fázisok halmazállapota szerint:

szilárd adszorbens – gáz-halmazállapotú adszorptívum

szilárd adszorbens – folyékony adszorptívum

folyékony adszorbens – gáz-halmazállapotú adszorptívum

folyékony adszorbens – folyékony adszorptívum



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Adszorpció szilárd–gáz határfelületen

Adszorbensek gázhalmazállapotú anyagok adszorbeálására:

Faszén,

aktív szénfajták (csont-, vér-, cukor-, benzoésav-, mogyoró- és dióhéjszén),

alumínium-hidroxid,

természetes derítőszer.

Az adszorbeált gáz mennyisége annál nagyobb, minél nagyobb az adszorptívum koncentrációja, minél nagyobb a gáz nyomása.

Az adszorbeált gázmennyiség annál kisebb, minél magasabb a rendszer hőmérséklete.

A rendszer kellő hőmérsékletre való hevítésével az adszorpció megszüntethető.



Adszorpciós izoterma

Adott hőmérsékleten az adszorptívum nyomása és az adszorbeált mennyiség közötti összefüggést mutatja:

Kis nyomásokon a nyomás fokozásának hatására az adszorbeált gázmennyiség rohamosan növekedik → lineáris összefüggés.

Nagyobb nyomásértékeken a görbék az abszcissa felé hajlanak, később majdnem párhuzamosak lesznek vele → a gáznyomással az adszorbeált mennyiség nem nő tovább.

Nagy nyomásokon az adszorbens felülete **telítődik adszorptívummal.**

Egy adszorbens különböző összetételű légnemű anyagokat különböző mértékben adszorbeál:

Nagyobb molekulatömegű anyagok jobban adszorbeálódnak.

Minél magasabb egy légnemű anyag normális forráspontja, annál könnyebben kötődik meg szilárd testek felületén.



Adszorpció szilárd-folyadék határfelületen

Nagy fajlagos felületű szilárd testek egyes folyadékokat és oldott anyagokat is adszorbeálnak.

A tiszta folyadék adszorpciója → **lioszorpció**.

Az adszorbens felületén folyadékmolekulák kötődnek meg → **lioszférának** nevezett adszorpciós réteget hoznak létre.

Ha az adszorbeált réteg vízmolekulákból áll → **hidroszféra**, hidrátburok.

A folyadékadszorpció a szilárd és folyékony fázis anyagi természetétől függ:

A folyadékok amelyek **nedvesítik az adszorbens felületét jól**,

amelyek **nem nedvesítik rosszul, vagy egyáltalán nem adszorbeálódnak** a szilárd fázison.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A folyadékok nedvesítőképessége a határfelületi feszültségtől függ → minél nagyobb a határfelületi feszültség, annál kevésbé nedvesedik az adszorbens.

Szenek és a víz közötti adszorpció hidrofób, apoláris (apoláros) jellegű.

Szilikagél és a víz között kicsi a határfelületi feszültség, **a szilikagél kiválóan nedvesedik**, vízzel érintkezve vastag hidrátburok jön létre.

Az adszorbenst **rosszul nedvesítő** oldószerek esetén az oldott anyagok adszorbeálódnak.

Az adszorpció **izotermákkal** jellemezhető.

Az oldott anyagok **adszorpciójának mértéke fordítottan arányos a rendszer hőmérsékletével, egyenesen arányos a koncentrációval.**

Az adszorbens telítődik, ha felületét monomolekuláris adszorptívumréteg fedi be.

Az adszorpció **reverzibilis** folyamat.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Ha az oldószer a szilárd fázist **jól nedvesíti:**

Alkalmatlan vízben oldott anyagok adszorpciójára.

Az oldószer nagymérvű adszorpciója miatt az adszorbens felületéről az oldott anyagok teljesen kiszorulnak.



Negatív adszorpció.

Az adszorbens és az adszorbeált anyag molekulái között a határfelületi erőkön kívül kémiai kölcsönhatás is kialakul.



Kemoszorpció (nem reverzibilis).



A kromatográfiás módszerek csoportosítása

A kromatográfiás módszerek csoportosíthatók az **elválasztási mechanizmus, az álló fázis alakja és a fázisok halmazállapota szerint.**

Az elválasztás mechanizmusa alapján:

Az elegy komponensei milyen erő hatására kötődnek fokozatosan az álló fázishoz:

- adszorpciós erők,
- megoszlás,
- ionok kicserélődési képessége,
- molekulaszűrőn való áthatolóképesség,
- biokémiai affinitás.

Többféle erőhatás is jelentkezhet egyszerre:

- adszorpció mellett ioncsere,
- gél-szűrés mellett adszorpció.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az álló fázis alakja alapján:

háromdimenziós oszlopkromatográfia,
kétdimenziós (réteg- és papír-) kromatográfia.

A fázisok halmazállapota szerint:

gáz–szilárd (angol rövidítése GSC),
folyadék–szilárd (LSC),
gáz–folyadék (GLC),
folyadék–folyadék (LLC).

Adszorpciós kromatográfia

A szétválasztandó elegy egyes komponensei a nyugvó adszorbens felületén megkötődnek.

A továbbvándorló mozgófázistól a kevésbé erősen adszorbeálódó oldott anyagoktól elkülönülnek.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Három lehetséges fajtája van:

Elúciós módszer,
frontális kromatográfia,
kiszorításos módszer.

Elúciós kromatográfia

Műveleti fázisok:

Az oldat betáplálása és az oldott anyag adszorbeálódása: **zónaképzés.**

A tiszta oldószer vagy oldószerkelet betáplálása, a zónát alkotó anyagok sávokra való különítése: **kifejlesztés,**

A sávok kioldása az adszorbensből: **elúció.**

Zónaképzés:

Az oldott anyagok egymástól függetlenül adszorbeálódnak.

Három összetevő esetén a zónák első részében mindhárom anyag jelen van, később kettő, és végül egy összetevő zónája figyelhető meg.

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Kifejlesztés:

Az adszorbeált zónában található komponensek szétválasztását célozza:

Az oszlopra megfelelő oldószert öntünk,
a tiszta oldószer a zónában az adszorbeált anyag egy részét deszorbeálja,
az erősebben adszorbeálódott anyag lassabban halad előre,
a kevert zónából egymástól mindig jobban **elkülönülő sávok alakulnak ki.**



A teljes elválás után **egy-egy tiszta anyagot tartalmaznak.**

Az oldat áthaladása közben az adszorpció és a deszorpció folyamata automatikusan ismétlődik → egyes komponensek adszorbeáló képességüktől függően elkülönülnek egymástól.

A komponensek szétválasztásának sikere függ az adott rendszeren belül az egyes komponensek adszorpciós tulajdonságaitól, milyen típusú **izotermák jellemzik.**

Eredményes kifejlesztés után a zóna anyagai teljesen elkülönülnek egymástól →
minden sáv csak egy oldott anyagot tartalmaz.

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Adszorbensek

Nagy fajlagos felületű, szemcsés szerkezetű vagy porszerű hidrofil, illetve hidrofób jellegű anyagok.

Minőségüket meghatározza:

- szelektivitás,
- kapacitás,
- aktivitás.

Szelektív: képes az analízisben felhasznált anyagkeverékek egyes komponenseinek elkülönített adszorpciójára.

Az adszorbens **kapacitása:** a tömegegysége által adszorbeált mennyiség.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Adszorpció szilárd – gáz-halmazállapotú határfelületen

Gáz halmazállapotú anyagok adszorbeálására:

faszenet, aktív szénfajtákat (csont-, vér-, cukor-, benzoésav-, mogyoró-, és dióhéjszén), alumínium-hidroxidot és természetes derítőszereket alkalmazunk.

Az adszorbeált gáz mennyisége annál nagyobb, **minél nagyobb az adszorptívum koncentrációja, gázoknál, minél nagyobb a gáz nyomása. Az adszorbeált gázmennyiség annál kisebb, minél magasabb a rendszer hőmérséklete** → a rendszer kellő hőmérsékletre való hevítésével **az adszorpció megszüntethető** → alkalmas az adszorpcióra alkalmatlan adszorbensek felújítására.

Egy rendszer adszorpciós viszonyai az adszorpciós izotermával jellemezhető:

Diagram abszcisszáján a gázfázis nyomása,
ordinátáján az egységnyi tömegű adszorbens által megkötött normál állapotú gáz térfogata (fajlagos adszorpció).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Adszorpciós izoterma:

Adott hőmérsékleten az adszorptívum nyomása és az adszorbeált mennyiség közötti összefüggést mutatja.

Kis nyomásokon a nyomás fokozásának hatására az adszorbeált gázmennyiség rohamosan növekedik → **lineáris a nyomás és a megkötött mennyiség közötti összefüggés.**

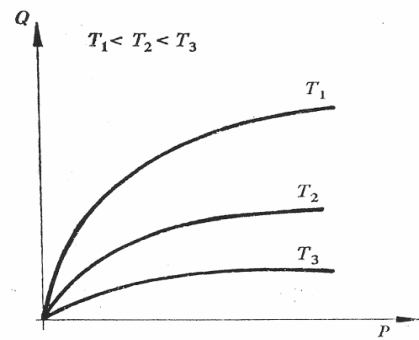
Nagyobb nyomásértékeken a görbék az abszcissa felé hajlanak, később majdnem párhuzamosak lesznek vele → a gáznyomással az adszorbeált mennyiség nem nő tovább.

Nagy nyomásokon **az adszorbens felülete telítődik adszorptívummal** → az adszorbeált molekulák az adszorbens felületét molekula vastagságú monomolekuláris réteggel teljesen bevonják.

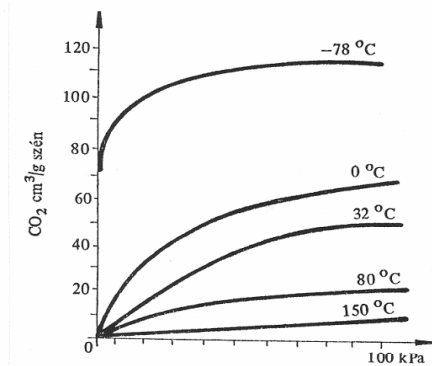


ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

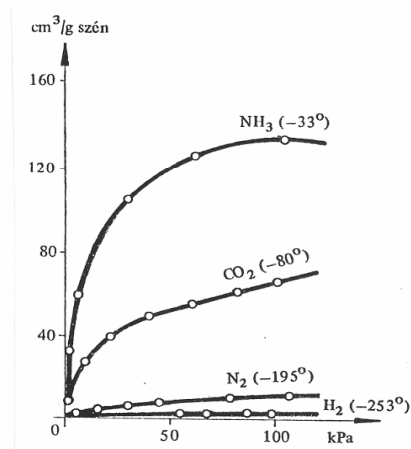
Gázadszorpciós izotermák



A szén-dioxid faszenes adszorpciója



A különböző gázok faszenes adszorpciója



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Egy adszorbens különböző összetételű légnemű anyagokat különböző mértékben adszorbeál:

Nagyobb molekulatömegű anyagok jobban adszorbeálódnak.

Minél magasabb egy légnemű anyag normális forráspontja, annál könnyebben kötődik meg szilárd testek felületén.

A **folyadékadszorpció** a szilárd és folyékony fázis anyagi természetétől függ:

A folyadékok amelyek nedvesítik az adszorbens felületét jól,

amelyek nem nedvesítik rosszul, vagy egyáltalán nem adszorbeálódnak a szilárd fázison.

A folyadékok **nedvesítőképesége** a **határfelületi feszültségtől** függ → minél nagyobb a határfelületi feszültség, annál kevésbé nedvesedik az adszorbens.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Szenek és a víz között:

Az adszorbens hidrofób, apoláris (apoláros) jellegű. A víz nem nedvesíti a szenet.

Az oldott anyagok adszorbeálódnak jól a szilárd test felületén.

Az adszorbenst rosszul nedvesítő oldószerekben oldott anyagok adszorpciója izotermákkal jellemezhető.



Az oldott anyagok adszorpciójának mértéke fordítottan arányos a rendszer hőmérsékletével, egyenesen arányos az oldat koncentrációjával.

Nagy molekulatömegű anyagok jobban adszorbeálódnak.

Az oldószer kisebb-nagyobb mértékben adszorbeálódik az adszorbens felületén, kiszorítja az oldott anyag molekuláit.

Az adszorbens telítődik, ha felületét monomolekuláris adszorptívumréteg fedi be.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Szilikagél és a víz között:

Kicsi a határfelületi feszültség, a szilikagél kiválóan nedvesedik, vízzel érintkezve vastag hidrátburok jön létre.



A szilikagél hidrofil, illetve poláris (poláros) adszorbens.

Az adszorbensek felületére mind az oldott anyag, mind az oldószer adszorbeálódhat:

Oldatban az **adszorpciós viszony** függ:

az oldószer és az adszorbens között milyen a határfelületi feszültség,
az oldószer nedvesíti-e az adszorbens felületét.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az oldatokban lejátszódó adszorpció **reverzibilis folyamat:**

Az adszorpció egyensúly beállása után → hígítjuk az oldatot → részleges deszorpció következik be → csökken az adszorbens felületén megkötött anyag mennyisége.

Ha az oldószer a szilárd fázist jól nedvesíti:

Alkalmatlan vízben oldott anyagok adszorpciójára.

Az oldószer nagymérvű adszorpciója miatt az adszorbens felületéről az oldott anyagok teljesen kiszorulnak.



Negatív adszorpció.

Az adszorbens és az adszorbeált anyag molekulái között:

A határfelületi erőkön kívül kémiai kölcsönhatás is kialakul.



Kemoszorpció (nem reverzibilis).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Aktivitás:

Az adszorbens visszatartó képessége, retenciós sajátsága, amely a kötőképesség erősségét jellemzi.

A **nagyon aktív adszorbensekből** adszorbeált anyagokat nehéz visszanyerni, a kromatogram kifejlesztése is nehéz.

A **kevésbé aktív adszorbensen** nem következik be szeparáció.

Az adszorbensek aktivitása kémiai szerkezetüktől és felületük morfológiájától függ.

Ideális adszorbens szelektivitása és szelektív adszorpciós kapacitása nagy, aktivitása közepes.

Szemcsenagyság:

Az elválasztás sikerét nagymértékben befolyásolja.

Kisebb részecskék esetén gyorsabban áll be az egyensúly, kevésbé zavar a diffúzió hatása.

Túl finom részecskék esetén nagyon megnő az oszlop ellenállása a mozgó fázis áramlásával szemben.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Legmegfelelőbb szemcsenagyság 2–15 μm .

Fontos követelmény, hogy az adszorbensek ne reagáljanak az oldószerekkel, a kromatografálandó elegy alkotóival.

Az adszorbensek a vízhez való viszonyuk alapján:

Hidrofil (poláris) \rightarrow nagy az affinitásuk a vízhez.

Hidrofób (apoláris) \rightarrow nagyon kicsi az affinitásuk a vízhez.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Megoszlás

Valamely anyag egyidejűleg, két egymással érintkező, de nem elegyedő oldószerben oldódik:



az egyensúly beálltával, a két oldatban észlelt koncentráció viszonya állandó, független a koncentráció abszolút értékétől.

Ha az egyik oldószerben az oldott anyag koncentrációja c_1 , a vele egyensúlyban lévő másik oldószerben c_2 , akkor a megoszlási hányados (K):

$$K = \frac{c_1}{c_2}$$

függetlenül a c_1 , illetve a c_2 abszolút értékétől.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A megoszlási hányados:

Híg oldatokban csak a résztvevők anyagi minőségétől és a hőmérséklettől függ, független a koncentrációtól.

A megoszlási törvény érvényes,

Ha az adott anyag molekuláris állapota mindkét oldószerben ugyanaz, sem disszociációs, sem az asszociációs viszonyok nem változnak.

A molekuláris állapot változása módosítja az összefüggést:

Ha második oldószerben az oldott anyag molekulái két új molekulára disszociálnak a megoszlási hányados:

$$K = \frac{c_1}{c_2^2}$$

Ha n molekula asszociál, akkor

$$K = \frac{c_1}{\sqrt[n]{c_2}}$$



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Megoszlási kromatográfia

Egymással nem elegyedő vagy csak korlátozottan elegyedő folyadékokban az anyagok, oldékonyságuktól függően, különböző mértékben oldódnak.

Alkalmas több összetevőből álló elegyek komponenseinek szétválasztására.

A megoszlást előidéző oldószerek egyikének szabad mozgását adszorpcióval megakadályozzuk, a másik oldószert áramoltatjuk át ezen az adszorbensen.

A rendszerben sorozatos megoszlási folyamatok játszódnak le.

Az elválasztandó elegy összetevői egyenként, különválva hagyják el a kromatografáló rendszert.



A megoszlási kromatográfia elmélete

Az alkalmazott adszorbens a szilárd hordozó, a rajta megkötött folyadék az álló fázis, a másik oldószer a mozgó fázis.

Az elválasztandó elegy összetevői e két fázis között oszlanak meg.

A szilárd hordozó lehet oszlopba töltött porszerű adszorbens, szűrőpapírlap, vagy -csík.

Ez alapján lehet:

Megoszlási oszlopkromatográfia,
papírkromatográfia.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Eluálószer

Az adszorbens felületén az oldószer molekulái és az adszorptívum molekulái versengenek a megkötődésért.

Az a komponens adszorbeálódik jobban, amelyiknek nagyobb az affinitása az adszorbenshez.

Az adszorbenseket az adszorpciós sorrendbe állítva kapjuk az **eluotrop sort**.

Az eluotrop sor utolsó tagjai a legjobb eluensek.

Az első tagok vagy ezek keverékei a kromatográfiás szétválasztáshoz alkalmas zónaképző oldószer, futtatószer.

Apoláris adszorbenseknél az eluotrop sor fordítva érvényes.



Oszlopkromatográfia

Eszközei:

Üvegből készült csövek,
beforrasztott porózus üvegre rétegezzük az adszorbenst,
a vizsgálandó minták komponensei az áramló gáz (mozgófázis) hatására az oszlopon elkülönülnek,
az áramlást a nyomás növelésével lehet (kell) elősegíteni.

Fémről vagy műanyagból készült kapillárisok.

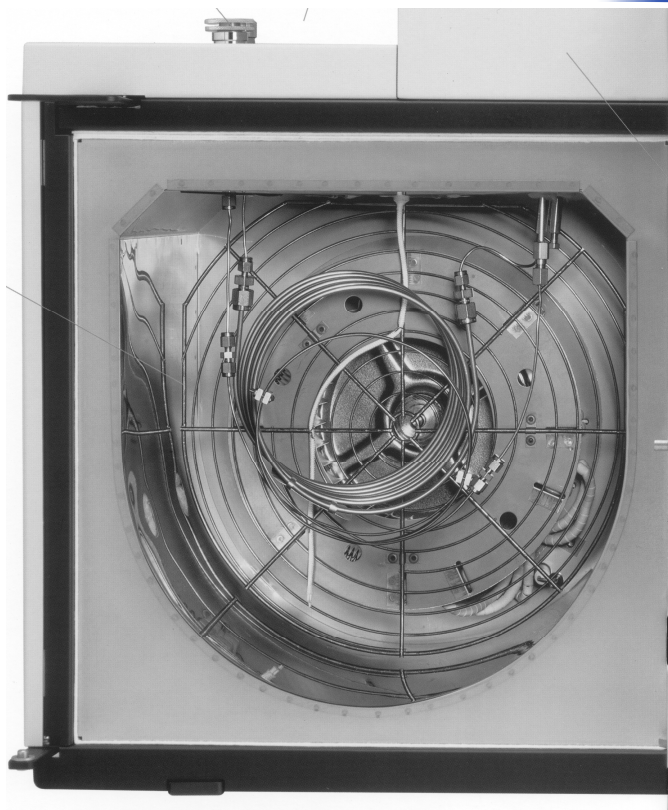
A kromatográfias oszlopok töltése: száraz és nedves eljárással.

Száraz töltéskor az adszorbenst lassanként, rétegezve szórjuk az oszlopba, az oszlopot tömörítjük.

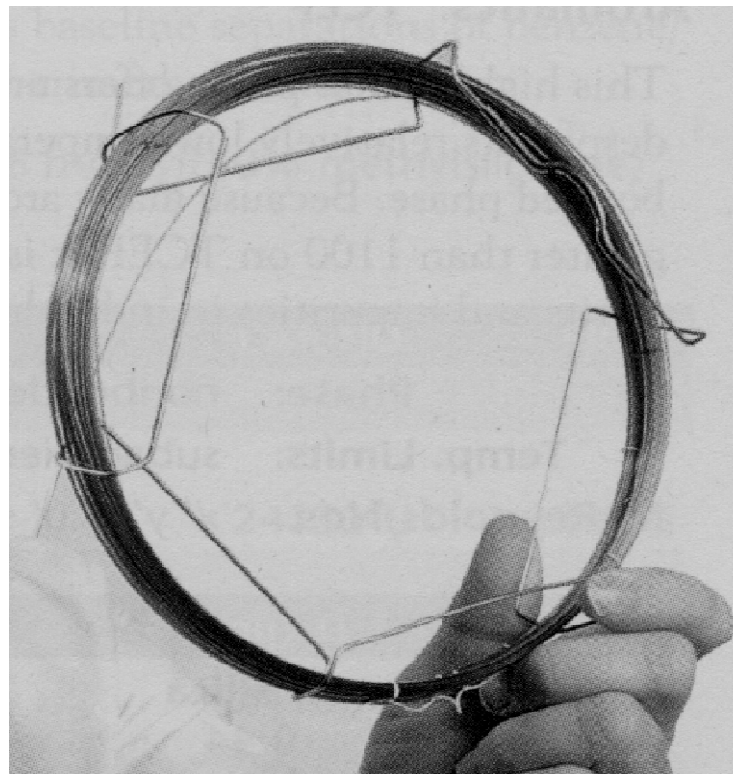
Nedves töltéskor az oszlopot félig megtöltjük oldószerrel, az adszorbenst ugyanezzel az oldószerrel feliszapolva töltjük az oszlopba.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



**Egy gázkromatográf oszloptere,
benne egy töltött kolonna**



Egy kb. 100 méteres kapilláris kolonna



Gázkromatográfia

A mozgó fázis nem folyadék-, hanem gázhalmazállapotú.

A vizsgálati anyag komponensei két különböző fázis közötti megoszlásán vagy adszorpcióján alapul.

Két fő típus:

Az adszorpciós gázkromatográfia, ahol az álló fázis szilárd (GSC),
megoszlásos gázkromatográfia, ahol az álló fázis folyékony halmazállapotú (GLC).

A szétválasztás elve:

Adszorpció: az adszorbeáló közeg a kolonna szilárd töltetének felülete.

Megoszlás: a szilárd hordozó nehezen illó folyadékokból álló nagy felületű filmjében játszódik le.

A gyakorlatban az **elúciós eljárással** dolgozunk.



A gázkromatográfia elmélete

Az adszorpció, illetve **megoszlási egyensúly dinamikus jellege** következtében különféle gázok molekulái adott hőmérsékleten és adott gázkoncentráció esetén különböző átlagidőtartamig tartózkodnak a szilárd vagy folyékony adszorbens felületén.

A gázmolekulák szerkezetüktől függően különböző időtartam után deszorbeálódnak.

Ha az adszorbenssel töltött kromatográfias oszlopon gázelegyet áramoltatunk át, **a csőből először a leggyengébben adszorbeálódó komponens lép ki**, majd a növekvő erősségű adszorpció sorrendjében a többi komponens.

Az egyes komponenseknek különböző a tartózkodási idejük a kromatográfias oszlopban → különböző idő (retenciós idő) elteltével jelennek meg az oszlop végén.

A **retenciós időt** az oszlop hőmérséklete, az oszlop töltetaktivitása, a készülék méretei, a vivőgáz sebessége befolyásolja.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográf működése

A kromatográfiás oszlopban állandó sebességgel semleges gázáramot, vivőgázt vezetünk.

A vivőgáz áramba mérjük és adagoljuk be a vizsgálandó anyagot gáz- vagy elgőzöltetett folyadékminta alakjában.

A vizsgálandó elegy a vivőgázzal a kolonnába jut.

Komponensei a vivőgáz eluáló hatására, kötőképességüktől függően, különböző sebességgel haladnak előre.

Megfelelő töltet és elegendő hosszú oszlop esetén a minta teljesen szétválik, alkotórészei egymás után jelennek meg a vivőgázban.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A kolonnából kilépő vivőgázt detektoron vezetjük át, ami az egyes komponensek megjelenésekor az alkotórészek mennyiségével arányos jelet ad.

A detektorban kapott jel regisztráló berendezés segítségével grafikusán ábrázolható.

A szétválasztásra jellemző kromatogramot kapunk.

A gázkromatogramon látható csúcsok helyéből a komponensek minőségi azonosításához kapunk segítséget.

A csúcsmagasság és a haranggörbe alatti terület alapján mennyiségi értékelést végezhetünk.

Mennyiségi meghatározást csak lineáris tartományban lehet végezni.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográf részei:

Vivőgázrendszer.

Mintaadagoló berendezés.

Kromatografáló oszlop (kolonna).

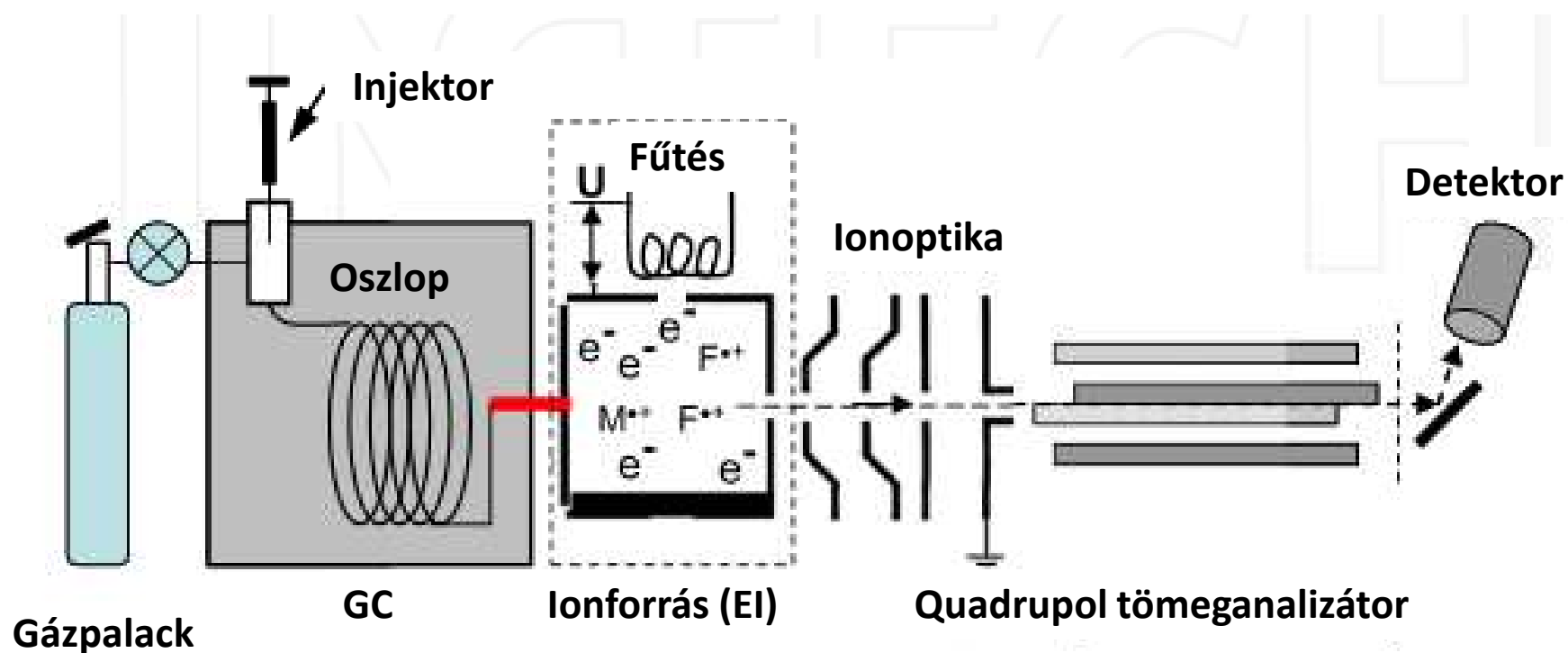
Kromatográfiás érzékelőberendezés (detektor).

Regisztrálóberendezés.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Gázkromatográf elektron ionizációs ionforrással, ionoptikával, quadropol tömeganalizátorral és detektorral

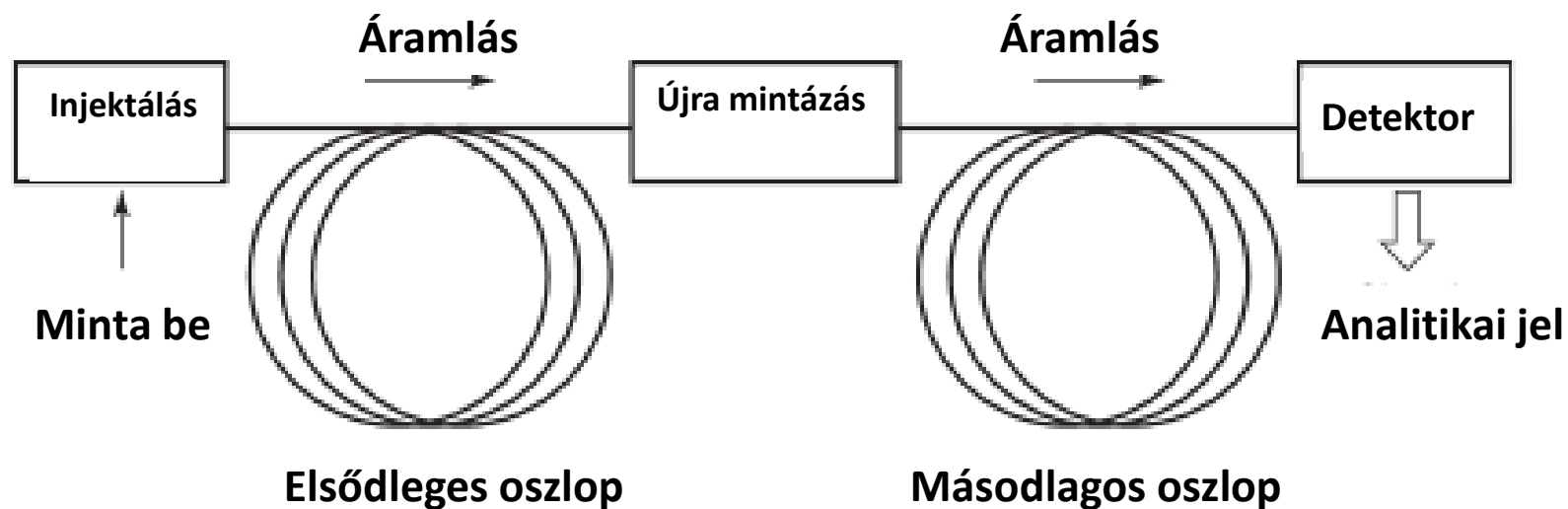


Advanced Gas Chromatography – Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications. Edited by Mustafa Ali Mohd, 2012.

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

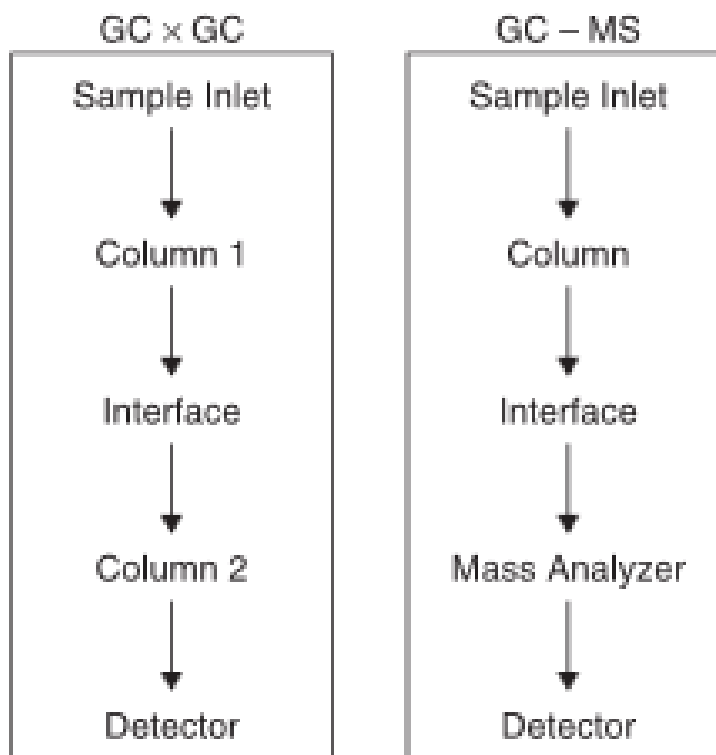
ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A GC-GC kromatográf felépítése



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A GC-GC és a GC-MS összehasonlítása



Advanced Gas Chromatography – Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications. Edited by Mustafa Ali Mohd, 2012.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A vivőgázrendszer

A vivőgáz sem a vizsgálati anyaggal, sem az oszlop töltetével nem lép kémiai kölcsönhatásba.

Leggyakrabban nitrogént, hidrogént, héliumot, argont, szén-dioxidot, néha levegőt vagy oxigént használunk.

Nagy hővezető képességű vivőgáz: H_2 , He.

A vivőgázt leggyakrabban palackból, nyomáscsökkentő szelepen keresztül alkalmazzuk.

Tartozék egy **gáztisztító feltét**.

A vivőgáz áramlási sebességének állandó értéken tartása alapvető a gázkromatográfiás elemzés szempontjából.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A vivőgáz áramlási viszonyainak ellenőrzése műszerekkel:

A nyomás mérésére **manométer** használható.

Áramlásmérők:

Szakaszosan használható **szappanhártyás sebességmérő** → kalibrált üvegcső a gázáram hatására szappanhab képződik.

A hab előrehaladását stopperórával mérve a gáz minőségétől függetlenül a térfogati sebességet kapjuk.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Nagy hővezető képességű vivőgáz: a hidrogén és a hélium.

Hidrogén: Kis viszkozitás miatt kicsi az oszlop nyomásesése, nagyobb az elillanási veszély, fennáll a robbanás lehetősége.

Hélium: Előnye, hogy nem tűzveszélyes, de rendkívül drága.

Nagy tisztaságú nitrogén: Használata igen elterjedt. Nagyobb molekulatömege miatt jobb az elválasztás. Előnye: Olcsó, egyszerűen tisztítható, kezelése biztonságos.

Argon: Kémiai semlegessége és nagy tisztasága miatt rendkívül kedvező.

Szén-dioxid: A preparatív gázkromatográfiában alkalmazzuk.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A mintaadagoló

A vizsgálandó anyagot gáz, folyadék vagy szilárd halmazállapotban tápláljuk a készülékbe.

A kromatografáló oszlopba a mintának légneműen kell bejutnia.

Az adagoló és az oszlop közé előmelegítőt kell iktatni, ahol a minta elpárologtatható.

Hőmérséklete 30–50 °C-kal magasabb mint az oszlopé.

Az adagolt minta:

Minél kisebb legyen.

A gáznemű minták térfogata 0,1–5 cm³, a folyékony és szilárd minták tömege pedig 2–20 µg.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gáznemű minták adagolására **injekciós fecskendő**, bemérőpipetta, (higanyos gázbüretta) használható.

A folyékony minták adagolása:

Különleges fecskendőkkel → a dugattyút mikrométer-csavar mozgatja.

Túvel egy szilikongumiból készült réteget (szeptum) kell átszúrni.

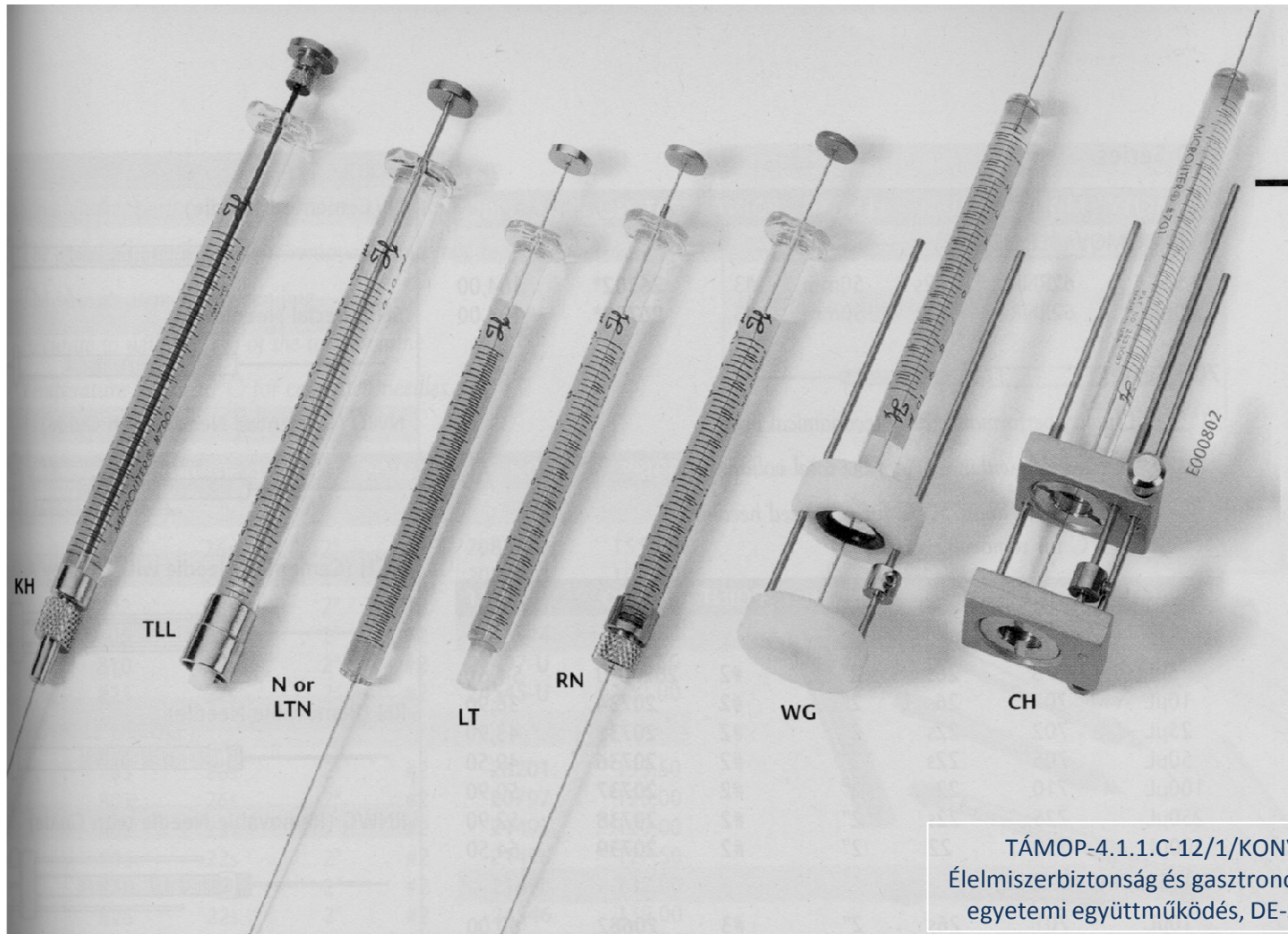
A vizsgálati anyagot a gázkromatográf **kellően felmelegített adagolóterébe** kell fecskendezni.

Sorozatvizsgálatok céljaira különböző rendszerű **automatikus mintaadagolókat** szerkesztettek.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Mikropipetták injektáláshoz



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az **injektálás célja**, hogy a mérendő mintát a lehető legvékonyabb sávban vigyük fel az analitikai oszlopra.

Minél keskenyebb a sáv az elválasztás megkezdésekor, annál élesebb és keskenyebb sávokat kapunk az analízis során.

Az optimális injektálás növeli az elválasztást és az érzékenységet.

Az injektálás optimalizálása elsődleges fontosságú a precíz és pontos analízis eredmények eléréséhez.

A **split** és a **splitless** injektálás a legelterjedtebb a kapilláris gázkromatográfiában.

A leginkább félreértettek is, mert ugyanaz a technika alkalmas mindkét injektálásra.

Elektronikusan kontrollált mágnes szelep változtatja a gázáramlást, ami meghatározza az injektor funkcióját.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A **Split injektálás** egy olyan módszer, melynek során a minta nagyobb része nem kerül be az oszlopba.

A mintának csak kis része (egy tized, egy ezred) kerül az oszlopba analízisre.

A módszert 0,1%-nál töményebb anyagok analízisére alkalmazzák.

Csak állandó hőmérsékleten lehet alkalmazni.

Gyors injektálást tesz lehetővé, melynek során a szennyeződés veszélye csekély.

A **Splitless injektálás** során a minta 85-100%-a keresztülmegy az oszlopon.

Híg minták (<0.1%) analízise során használják.

Az injektálási sebesség lassú, és nem szükséges az állandó hőmérséklet.

Nagyon fontos az oldószer minősége, a mágnes szelepek jó működése és a módszer optimalizálása.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A **közvetlenül az oszlopba történő injektálás** során (On Column Injection) a minta teljes mennyisége az oszlopba kerül.

Az injektálás során a minta az oszlopba, vagy közvetlenül az oszlop fölé kerül.

Ezt a módszert alkalmazzák nyomelemzéskor, hőlabilis anyagok analízisekor (pesticidek, kábítószer), ha a minta komponenseinek forráspontja nagyobb tartományba esik, és nagyobb molekula tömegű anyagok analízise esetében.

Nagyobb mennyiségek injektálása elsősorban környezeti analíziseknél növeli az érzékenységet.

100 µl-es fecskendőt is használhatnak, a minta mennyisége 50-100 µl közötti.

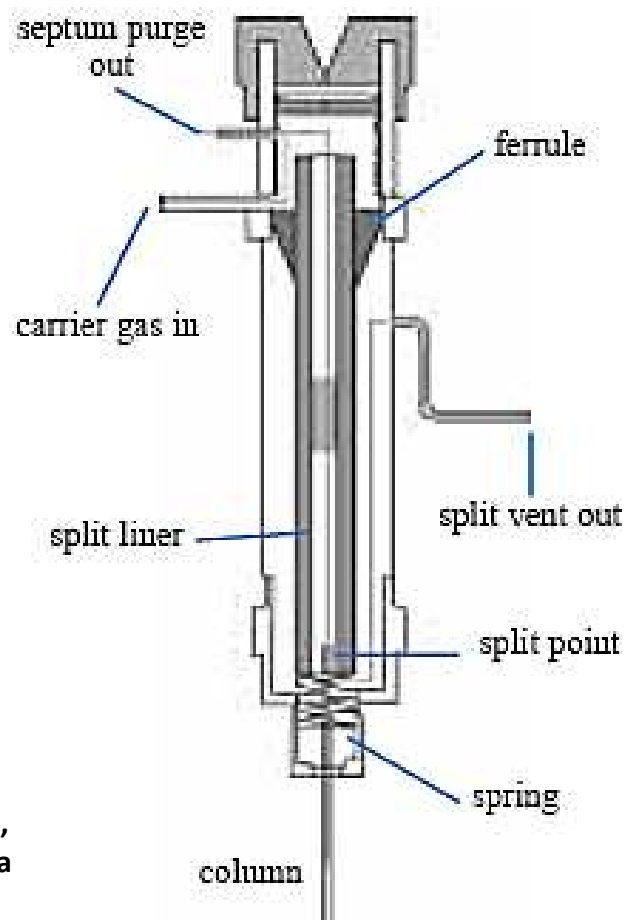
Nagyon lassú injektálást követel meg az oldószer forráspontja alatti hőmérsékleten, melynek során az oldószer nagy része eltávozik növelve ezzel az érzékenységet.

Az oldószer távozása után a az injektor hőmérsékletét 20 °C-kal az oszlophőmérsélet fölé emelik.

Minden mintára pontos hőmérséklet programot kell kidolgozni.

Split/splitless injektor

Injektáláskor a minta elpárolog a forró injektorban. A felesleget a split szelepen lefúvatjuk, hogy elkerüljük a túlterhelés és a hosszan elnyúló oldószercsúcsot.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Kromatografáló oszlopok

Töltött kolonnák:

Üvegcsőből, alumíniumból, rézből, saválló acélból.

Töltetes kolonnák 2–4 mm belső átmérőjű oszlopok.

Alakjuk egyenes, U, W, spirál vagy lapos spirál.

A leghosszabb oszlopok csak spirál alakúak.

Kapilláris kolonnák:

Alumínium-, réz-, saválló acél-, üveg- vagy műanyag- (poliamid, nylon) cső.

Magasabb hőmérsékleten a saválló acélcső a legmegfelelőbb.

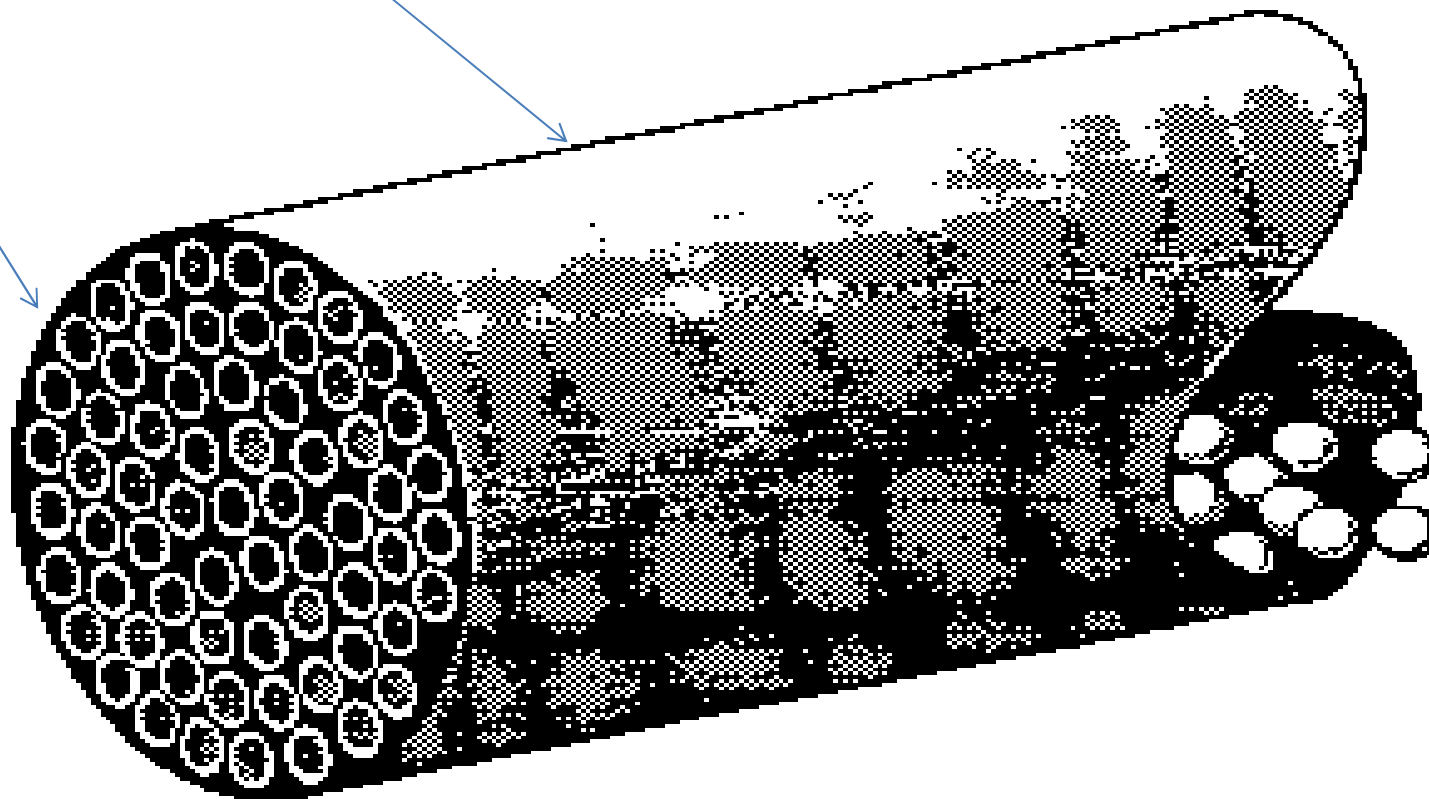
Az üvegcső falát maratják, a fémcsövek belső felületére vékony, szilárd hordozóréteget visznek fel. Belső átmérőjük 0,2–1 mm közötti, hosszuk 10–100 m, kivételes esetben több száz méter.



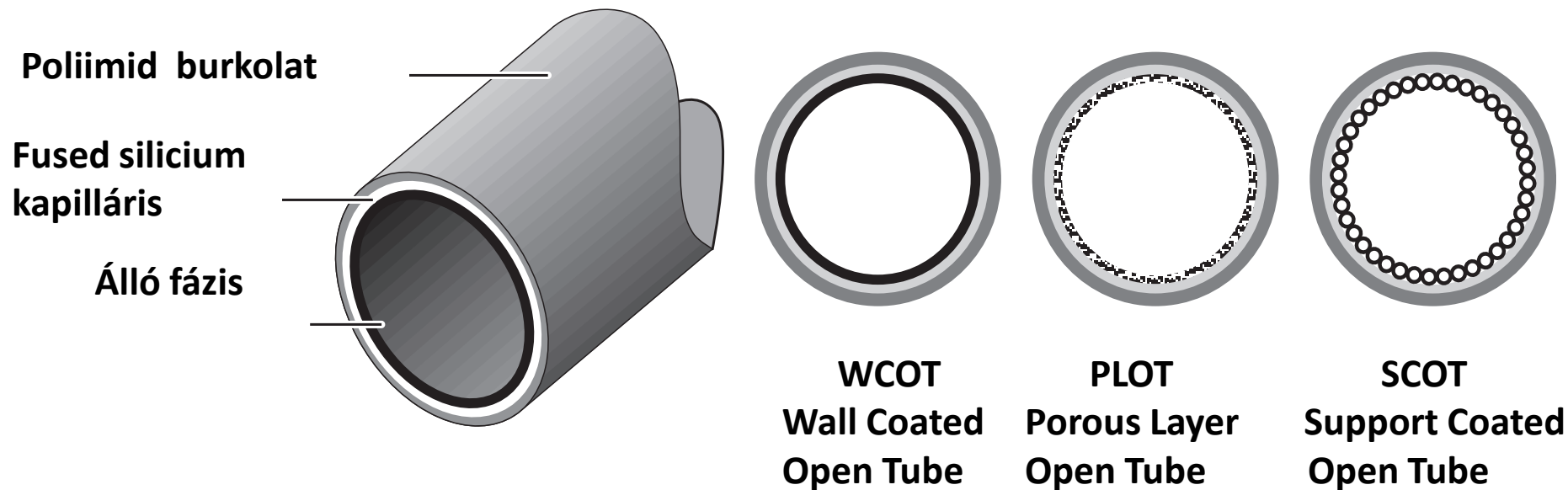
Töltött GC oszlop

Saválló acél, alumínium, műanyag vagy üveg cső

Töltet



Különbéle típusú kapilláris oszlopok



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A kapilláris kolonnák **előnye:**

- az elválasztóképességük jobb,
- az analízishez szükséges idő lerövidíthető,
- a mérés alacsonyabb hőmérsékleten is elvégezhető.

A kapilláris kolonnák **hátránya:**

- kis kapacitásúak,
- a szokásos mintamennyiségnek tizedrészét tudják feldolgozni,
- speciális gázelosztót kell beépíteni.

A kolonnák belépőnyílása a mintaadagolóhoz, kilépő vége pedig a detektorhoz csatlakozik.

Egy gázkromatográfiás készülékbe többféle különböző típusú töltettel ellátott kolonna is beépíthető.

A különböző kolonnákat lehet sorba vagy párhuzamosan kapcsolni.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A kromatografáló oszlop töltése

Az adszorpciós gázkromatográfiában:

Felületaktív, rendszerint szemcsés anyagok, nagy fajlagos felületűek és kémiaailag indifferentek.

Apoláros töltőanyag például az aktív szén.

Különböző molekulaméretű gáz, különböző szénhidrogének szétválasztására alkalmas.

Poláris adszorbens például a szilikagél, alumínium-oxid, különféle alumínium-szilikátok.

A molekula aszimmetriája, polaritása által meghatározott belső energiának megfelelően választják szét a gázokat.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A megoszlási gázkromatográfiában (folyadék–gáz rendszer):

A kapilláris kromatográfiás oszlopok hordozóanyag nélkül tartalmazzák **az álló folyadékfázist, mely a cső belső felületéhez tapad.**

A töltött oszlopokban szemcsés hordozóanyag van, melyet a megfelelő folyadékkal nedvesítünk.

A folyadék az álló fázis, amelyben a szétválasztás lejátszódik.

A nedvesítőfolyadék:

A kromatografálás hőmérsékletén folyékonnak kell lennie.

Kémiaailag közömbös, tartósan megmaradjon a hordozó felületén, illékonysága lehetőleg minél kisebb, oldóképessége minél nagyobb legyen.

A különböző szilikonolajok különösen széles hőmérséklet tartományban használhatók.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az álló fázis:

Hordozója bármilyen szemcsés anyag lehet, mely mechanikailag elég szilárd és kopásálló, nagy fajlagos felületű és pórusos szerkezetű.

Leggyakrabban 0,10–0,25 mm-es szemcsézettségű hordozóval dolgozunk.

A folyékony álló fázis felvitele illékony szerves oldószeres oldatból történik állandó keverés, majd elgőzöltetés, esetleg vákuumos elpárologtatás segítségével.

A kialakuló folyadékfilm vastagsága 0,1–0,5 μm .



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográfiában általánosan alkalmazott állófázisok, tulajdonságaik és alkalmazásuk

Nempoláros **dimetil-polisziloxán (gumi)**: alkalmas fenolok, szénhidrogének, aminok, kéntartalmú komponensek, peszticidok és poliklórozott bifenilek analízisére.

Nempoláros **dimetil-polisziloxán (folyadék)**: alkalmas aminosav származékok és esszenciális olajok analízisére.

Közepesen poláros **fenil(5%)-dimetil(95%)-polisziloxán**: alkalmas zsírsavak, zsírsav-metilészterek, alkaloidok, gyógyszerek és kábítószer analízisére.

Közepesen poláros **cianopropilfenil(14%)metil-polisziloxán**: alkalmas kábítószer, szteroidok és peszticidok analízisére.

Közepesen poláros **fenil(50%)metil(50%)metilpolisziloxán**: alkalmas kábítószer, szteroidok, peszticidok és glikolok analízisére.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Közepesen poláros **cianopropilmetil(50%)fenil(50%)metilpolisziloxán**: alkalmas zsírsavak, zsírsav metilészterek és alditol acetátok analízisére.

Közepesen poláros **trifluoropropil(50%) polisziloxán**: alkalmas halogénezett és aromás vegyületek analízisére.

Poláros **polietilén glikol (módosított)**: alkalmas savak, alkoholok, aldehidek, akrilátok, nitritek és ketonok analízisére.

Poláros **polietilén glikol**: alkalmas szabad savak, alkoholok, észterek, esszenciális olajok, glikolok és oldószer maradványok analízisére.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A termosztát

A rendszert 25 °C-tól 400 °C-ig temperálhatjuk.

A kiválasztott hőmérsékletet $\pm 0,5$ °C pontossággal be kell tartani.

Termosztálni kell az oszlopot, a mintaadagoló berendezést, a detektort.

A mai készülékek légtermosztáttal, vagy fémtömb-termosztáttal működnek.

Korszerű készülékekben a hőmérsékletet a vizsgálat alatt meghatározott program szerint lehet változtatni.

A programozott fűtés légtermosztátokkal valósítható meg.

A hőmérséklet-változtatás általában 0,2–20 °C/perc sebességgel végezhető.

A programozott fűtés kromatogram javító hatású.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Detektorok

Kimutatási határ (LOD - limit of detection).

3:1 jel/zaj arány tiszta referencia anyaggal.

Mérési alsóhatár (LLOQ - lower limit of quantitation).

Mátrixban validált legkisebb kalibrációs pont.

Mérési felsőhatár (ULOQ - upper limit of quantitation).

Mátrixban validált legnagyobb kalibrációs pont.

Dinamikus tartomány (koncentráció változás jel változást idéz elő).

Lineáris tartomány (egységnyi koncentráció változás-állandó jel változást idéz elő).

Szelektivitás.

Érzékenység.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A detektorral az oszlopot elhagyó eluensben az elválasztott komponensek koncentrációja folyamatosan követhető.

A detektor zaja:

Adódhat a műszer elektronikájából,

a hőmérséklet és a hálózati feszültség ingadozásából,

az áramlássebesség-változásból.

Ismerni kell a detektor-alapvonal eltolódását.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A detektorok feladata a kolonnából kilépő vivőgázáramban megjelenő komponens folytonos, gyors és érzékeny észlelése.

A detektor valamilyen fizikai vagy kémiai tulajdonság megváltozását érzékeli a komponens megjelenésekor.

Villamos jelet ad → regisztrálható és értékelhető.

A négy legfontosabb detektortípus:

hővezetőképesség-mérő detektor,

lángionizációs detektor,

elektronbefogási detektor,

lángfotometriás detektor.

(Az MS detektorokkal külön előadás foglalkozik).



Hővezetőképesség-mérő detektor

Mérőcellája furatokkal ellátott fémgömb, amelyen a vivőgáz áramlik keresztül.

A furatokon wolframszál van kifesztve, amit elektromos árammal fűtenek.

A huzalok ellenállása a hőmérséklettel erősen változik.

Ha a vivőgázban komponens jelenik meg, a gázáram hővezetőképessége csökken.

A fűtött szál hőmérsékletének, ellenállásának növekedése jól mérhető.

Az egyik furaton a palackból származó tiszta, a másikon a kolonnából érkező, komponenseket tartalmazó vivőgáz áramlik.



Lángionizációs detektor (FID)

Egy utánkeveréses hidrogénégő.

Láng két elektród között alakul ki, amelyre 100–300 V feszültséget adnak.

A hidrogénláng 2000–2200 °C hőmérsékletén kismértékben a hidrogén is ionizálódik, ami állandó alapáramot ad.

Ha a kolonnából szerves anyag jut a detektorba → a hidrogénlángban elégséges ionok keletkeznek → a gáz vezetőképessége és ennek megfelelően az ionáram jelentősen megnő.

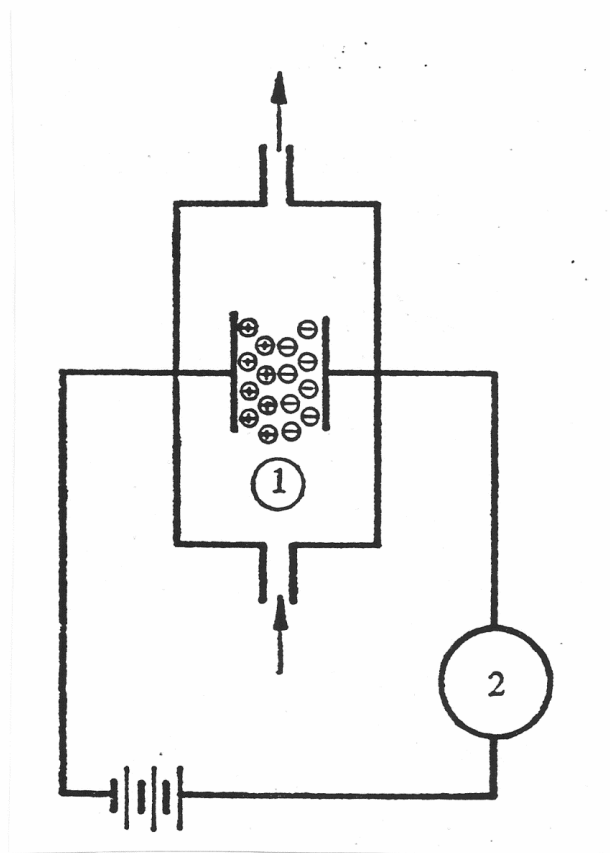
A lángot határoló két elektród között keletkező ionáram, megfelelő erősítés után, regisztrálható.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az ionizációs detektor működési elve

1. ionforrás, 2. árammérő.



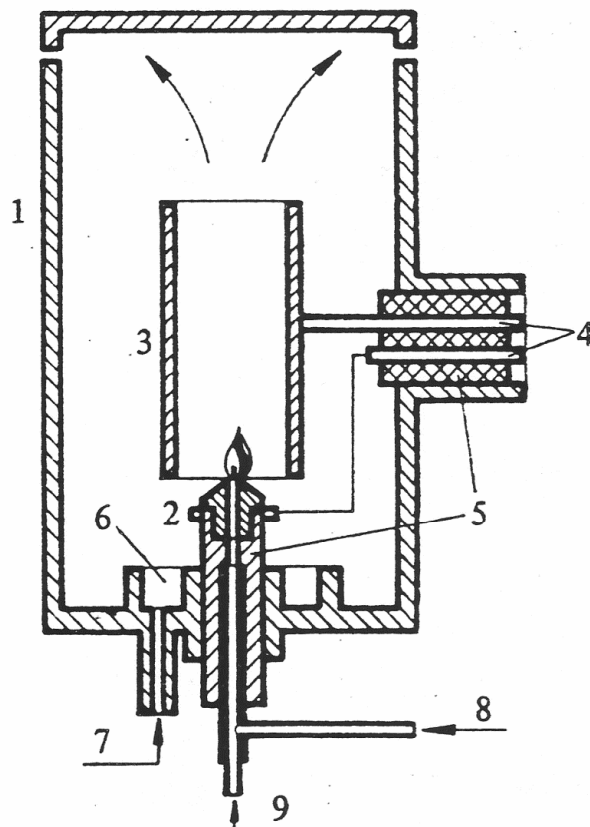
IP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
ízonság és gasztronómia vonatkozású
együtműködés, DE-SZTE-EKF-NYME



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A lángionizációs detektor felépítése

1. detektorház, 2. égő, 3. gyűjtőelektród, 4. elektródok kivezetése, 5. teflonszigetelés, 6. levegőelosztó, 7. levegő bevezetés ($300-600 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$), 8. hidrogén ($15-40 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$), 9. vívgáz kolonnából ($0-50 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$).



-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
társaság és gasztronómia vonatkozású
gyűttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME



Elektronbefogási detektor (ECD)

A detektorban lévő sugárforrás hatására a vivőgázban szabad elektronok és nagy tömegű pozitív ionok keletkeznek, melyek a megfelelő elektród felé vándorolnak.

Ha a detektorba anionná alakulásra alkalmas vegyület jut, az elektronokat negatív ionok képződése közben befogja.

Az ionáram csökken \rightarrow a detektor eredeti ionáram csökkenését jelzi.

Sugárforrásként általában β -sugárzó izotópokat (^{63}Ni vagy trícium) használnak.

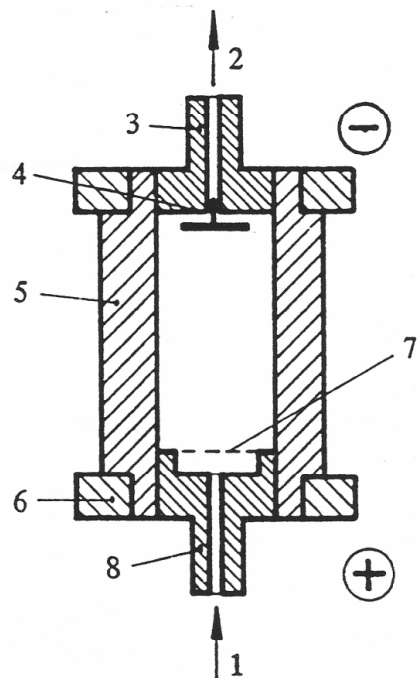
A sugárforrások aktivitása $4 \cdot 10^8$ – $70 \cdot 10^8$ Bq.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

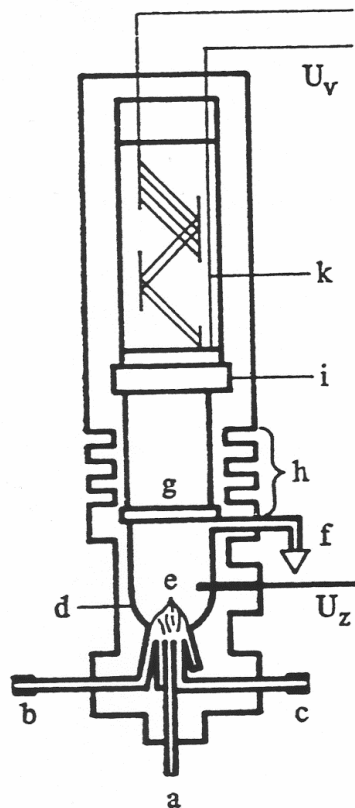
Elektronbefogási detektor

1. gázbelépés,
2. gázkilépés,
3. katód,
4. sugárforrás,
5. teflon,
6. fémköpeny,
7. áramláselosztó,
8. anód.



Lángfotometriás detektor

- a. vívgáz az oszlopról,
 - b. hidrogén,
 - c. levegő,
 - d. homorú tükör,
 - e. gyűrű alakú láng,
 - f. égéstermékek elvezetése,
 - g. kvarclemmez,
 - h. hűtőbordák,
 - i. interferenciaszűrő,
 - k. elektronsokszorozó
- U_z . gyújtófeszültség,
 U_v . üzemeltetési feszültség.



TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
niszterbiztonság és gasztronómia vonatkozású
yetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME



Lángfotometriás detektor (FPD)

A foszfor- és kéntartalmú vegyületek szelektív kimutatására alkalmas.

A lángban gerjesztett minta által kisugárzott fényből interferenciaszűrővel kiválasztja a foszforra (526 nm) vagy a kénre (394 nm) jellemző hullámhosszú sugarat.

Intenzitását fotometriás úton, elektronsokszorozó segítségével méri.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográfiában általánosan használt detektorok tulajdonságainak összefoglalása

Hővezetőképesség-mérő detektor: univerzális detektornak is hívják, mert a vizet is beleértve szinte mindent mér. Érzékenysége gyenge, kb. 400 pg, a kérdéses komponens hővezető képességének függvényében. A lineáris mérési tartomány könnyen átvált nem lineárisba.

Lángionizációs detektor: specifikussága csekély, mert szinte minden szerves anyagot lehet vele mérni. Érzékenysége nagyon jó, 10 és 100 pg között a legtöbb szerves anyag mérésére képes.

Elektronbefogási detektor: specifikus detektor halogénezett, nitrocsoportot vagy kettős kötést tartalmazó vegyületekre. Érzékenysége kiváló (0,05-1 pg), a jel linearitása gyenge.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

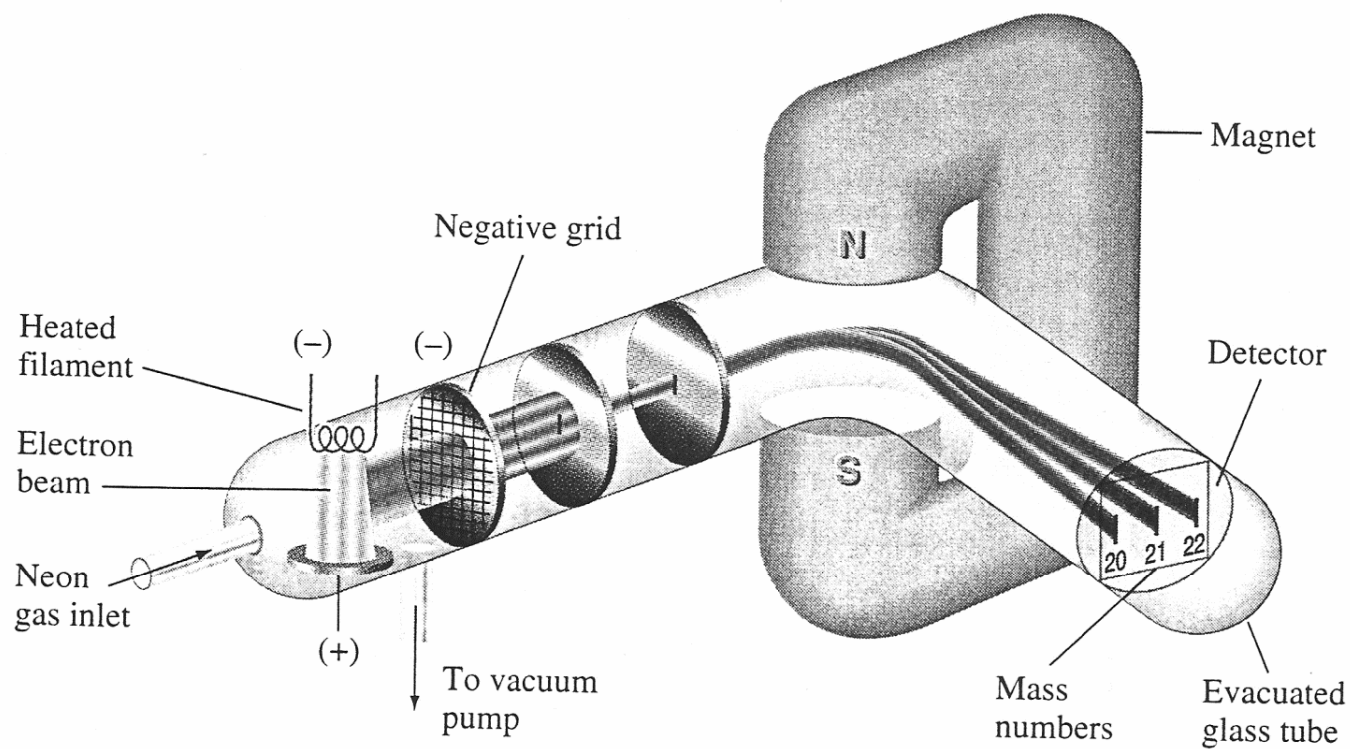
Lángfotometriás detektor: szűrő alkalmazásával specifikus kén- és foszfortartalmú vegyületekre. Az érzékenységi határ kénre 2 pg, foszforra 0,9 pg, mindkettőre kiváló.

Fotoionizációs detektor: specifikussága függ az ionizációs energia és az oldószerhez kötődés energiájának viszonyától. Érzékenysége kitűnő, a lámpa energiája és a vizsgált komponens függvényében 1-10 pg.

Tömegspektrométer (MS) detektor: Tárgyalására a következő előadássorozatban kerül sor.



Egy egyszerű tömegspektrométer és a neonizotópok szétválasztása



Regisztráló berendezések

Vonalíró elektronikus potenciométer.

Kétcsatornás regisztrálókat is készítenek → kétdetektoros értékelést tesznek lehetővé.

Automatikus integrátorok:

Összegzik a görbe alatti területet,
mérik a csúcs retenciós idejét,
az eredményeket regisztrálják.



A kromatogramok értékelése

A kromatogram egy diagram, melynél **az idő függvényében olvasható le a minta koncentrációjával arányos detektorjel.**

Ideális esetben minden komponens szimmetrikus haranggörbe vagy Gauss-görbe alakkal jellemző csúcs formájában lép ki az oszlopból.

Minden csúcs a komponens anyagi minőségének jellemzésére alkalmas, meghatározott idő eltelte után hagyja el az oszlopot.

A minta injektálása és az oszlop végén, a csúcsmaximum megjelenése között eltelt időt retenciós időnek nevezzük (t_R).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Jellemző a szomszédos csúcsok retenciós idejének különbsége.

Minél nagyobb ez a különbség, annál könnyebben választható el a két komponens.

Minden komponensre jellemző a sávszélesség.

Minél kisebb a sávszélesség, annál keskenyebbek a csúcsok, annál jobb az elválasztás.

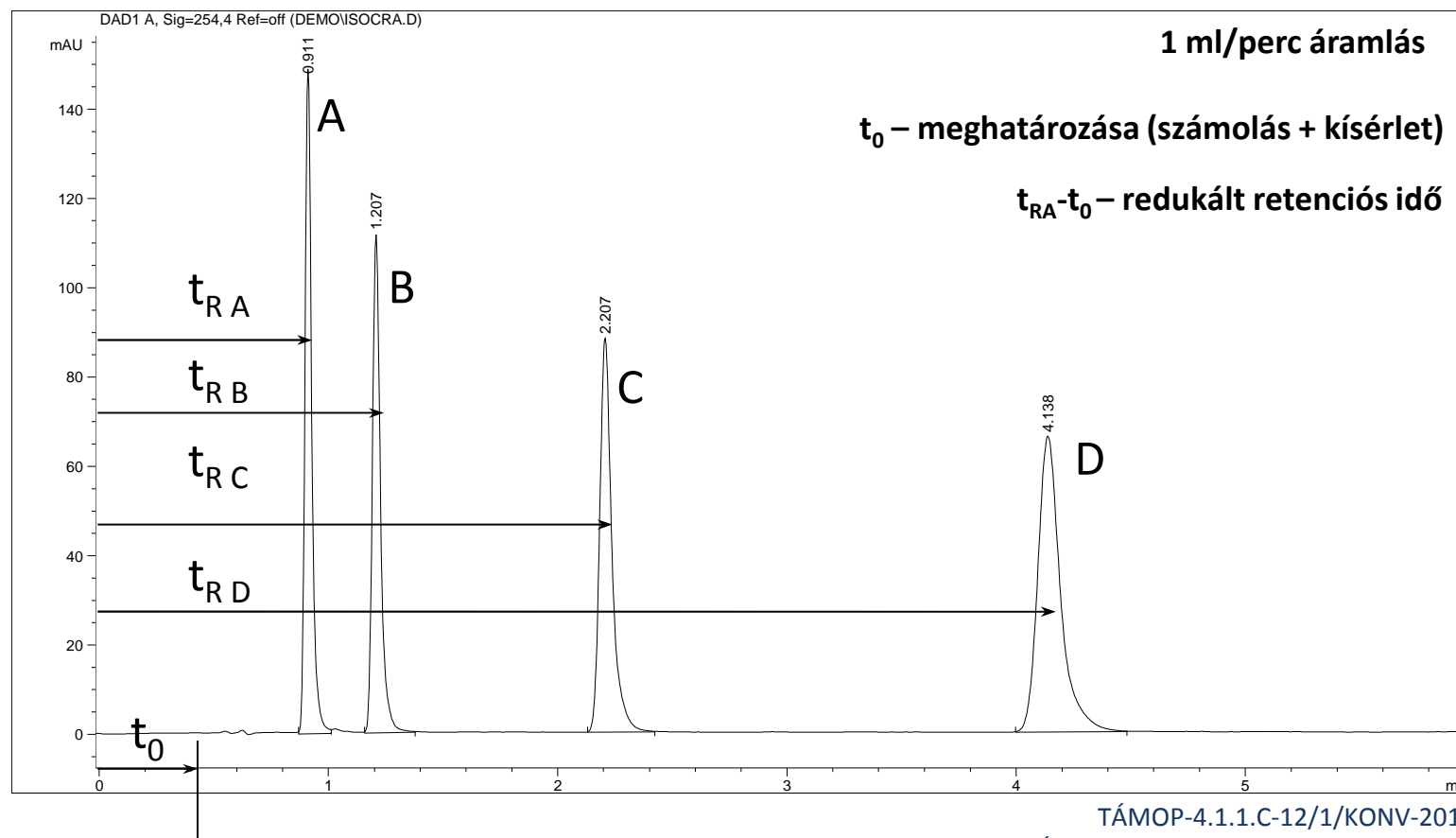
Mennyiségi értékelés a csúcsmagasság, illetve a csúcsterület mérésével lehetséges.

Csúcsmagasság mérése: csúcsmagasságnak az alapvonalról a csúcs legmagasabb pontjáig terjedő távolságot tekintjük.

Csúcsterület mérése: a csúcs magassága szorozva a csúcs félmagasságánál mért szélességgel

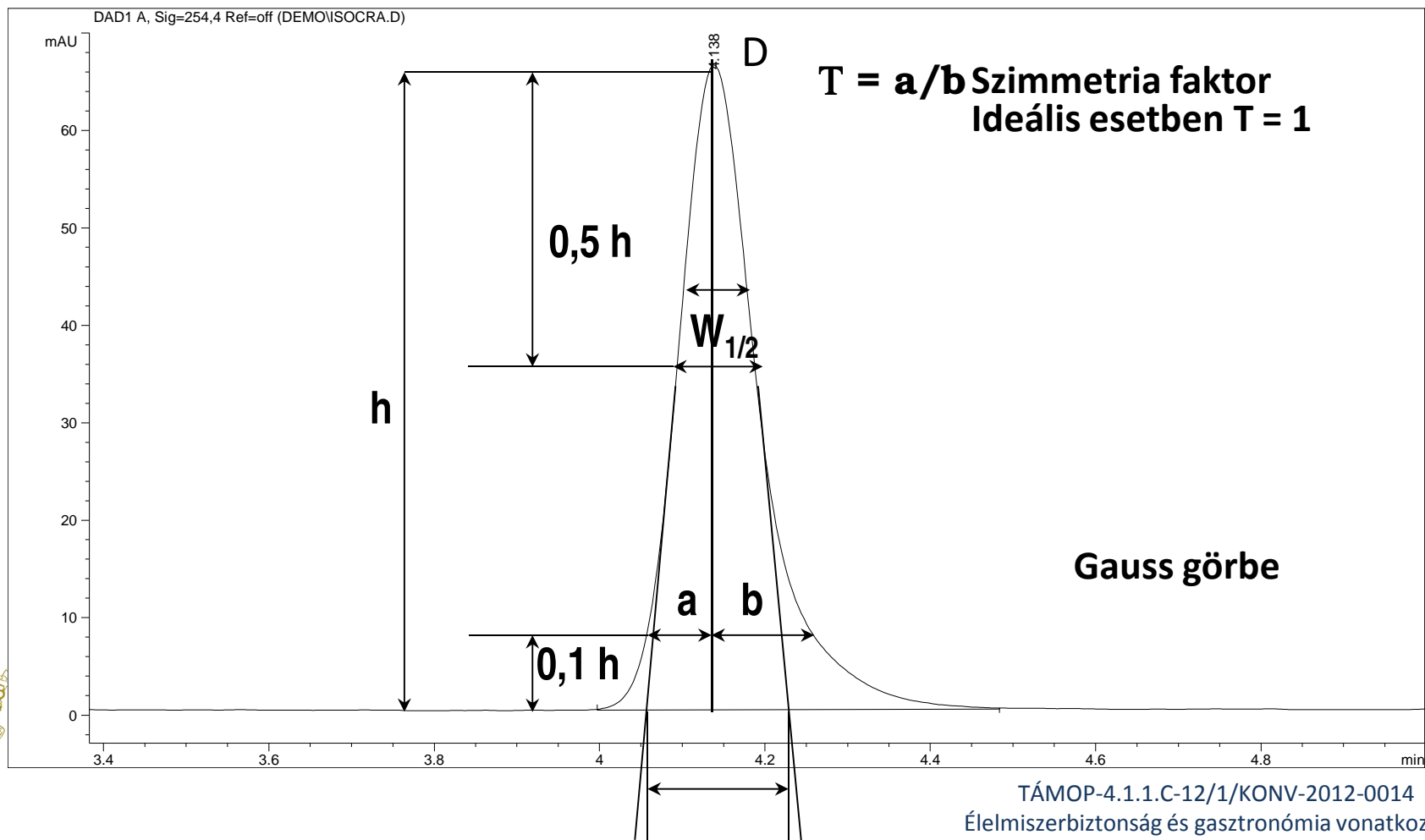


A retenciós idő alakulása az elválasztás során



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A szimmetria faktor definíciója



A gázkromatográfia alkalmazása élelmiszerek összetételének meghatározására



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográfia sokféle **illó, vagy illó származékká alakítható** élelmiszer összetevő meghatározására alkalmazható. Mérhetők vele pl.:

antioxidánsok,

tartósítószer,

szermaradványok,

íz- és aromaanyagok, és

minden illó- vagy illóvá tehető komponens (alkoholok, aldehidek, zsírsavak, észterek, aminosavak (illó aminosav származék formában)).

A gázkromatográfia **nehezen illó, vagy illó származékká nem alakítható és hőlabilis anyagok** (szénhidrátok, egyes vitaminok) **vizsgálatára nem alkalmas.**



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográfiában leggyakrabban alkalmazott származékképző anyagok élelmiszerek analízise során

A **szilil reagenseket** kiválóan lehet alkalmazni hidroxil csoportot tartalmazó vegyületek és aminokarbonsavak esetében, mint amilyenek pl. a cukrok, a szterolok és az aminosavak. **A reagensek:**

Trimetilkloroszilán/hexametildiszilazán.

BSA [N,O-bisz(trimetilszilil) acetamid].

BSTFA [N,O-bisz(trimetilszilil) trifluor acetamid].

t-BuDMCS (t-butildimetilkloroszilil/imidazol)

Illékony észtervegyületeket kialakító reagensek a karboxil csoporttal lépnek reakcióba, amelyet a zsírsavak, az aminok, az aminosavak, a trigliceridek, a gyanták, a foszfolipidek és a koleszterin észterek tartalmaznak.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A reagensek: Metanolos sósav, metanolos nátrium-metoxid,

N,N-Dimetilformamid dimetil acetál.

Bór trifluorid (vagy triklorid) és metanol.

Különleges származékképző szerek:

Az **ecetsav-anhidrid piridinnel** jól reagál az alkoholos és fenolos hidroxil csoportokkal, ezért alkalmas fenolok, aromás hidroxil csoportot tartalmazó vegyületek és alkoholok származékképzésére.

Az N-trifluoracetilimidizol/N-heptafluorobutirilimidizol ugyancsak a hidroxil- és aminovegyületekkel képez származékot.

Az alkilbórsav a poláros atomok melletti szomszédos atommal lép kapcsolatba.

Az O-alkilhidroxilamin olyan vegyületekkel képez származékot, amelyek hidroxil- és karboxil csoportot is tartalmaznak, mint amilyenek a ketoszteroidok és a prosztaglandinok.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Amit minden gázkromatográfiás analízisnél fel kell jegyezni:

A minta nevét és az injektált térfogatot.

Az injektor típusát és az injektálási körülményeket.

Az oszlop hosszát, átmérőjét, töltetét és gyártóját.

Töltött oszlopnál a töltet szemcseméretét,

kapilláris oszlopnál hosszát, átmérőjét és az álló fázis anyagát.

Az injektor, a termosztát és a detektor hőmérsékletét és a hőmérséklet programot.

A mozgó fázis típusát (gáz fajtája) és az áramlási sebességet.

A detektor típusát és az adatfeldolgozó rendszert.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A napraforgó olaj és a disznózsír zsírsav összetételének meghatározása

A módszer alkalmas napraforgóolaj, disznózsír és egyéb növényi és állati zsiradékok zsírsav-összetételének meghatározására.

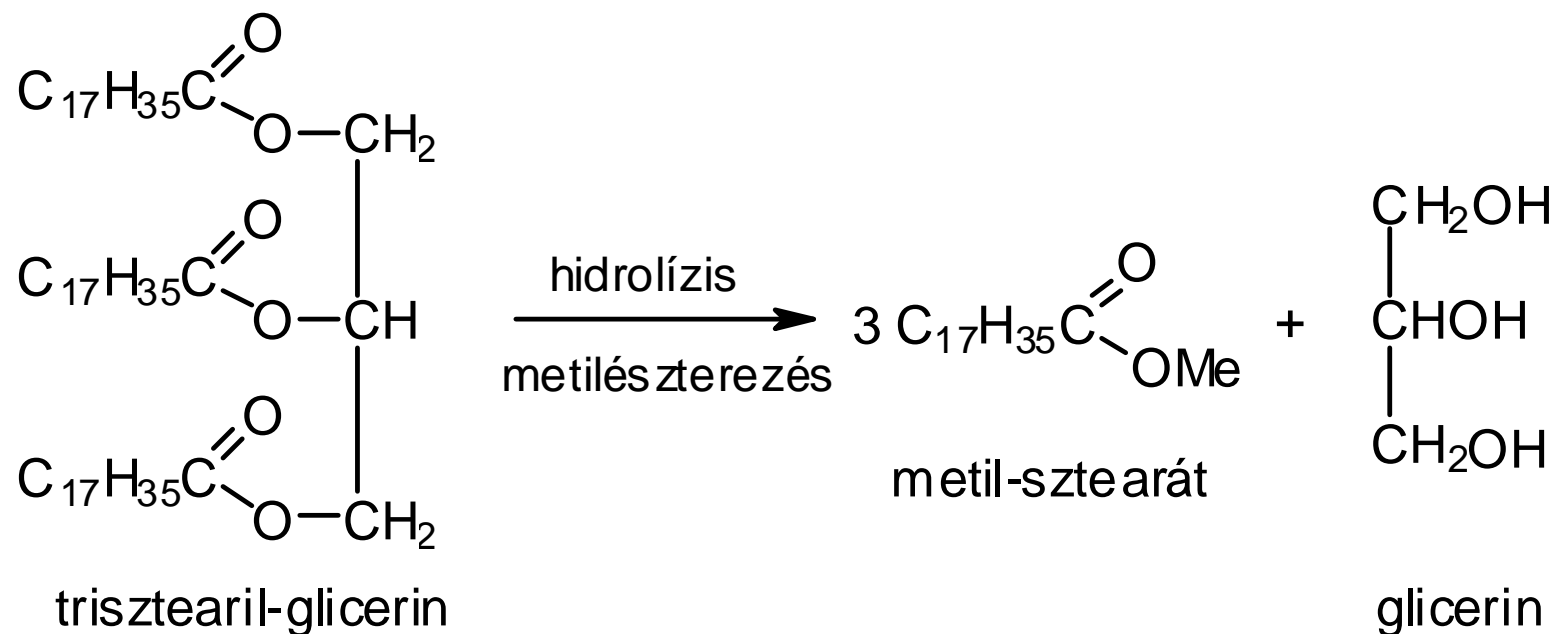
Gázkromatográfiai módszerrel elsősorban azok a komponensek vizsgálhatók, amelyek **illékonyak, vagy 300 °C-ig illékonyá tehetőek.**

A triacil-glicerinek (trigliceridek, zsírok és olajok) ennek a követelménynek nem felelnek meg, és alkalmatlanok erre a szabad, hosszú szénláncú zsírsavak is.

Ezekből, valamint a triacil-glicerinek észterkötéseinek hidrolízise után szabaddá váló zsírsavakból **zsírsav-metilésztereket szintetizálunk**, és a kapott vegyületet vizsgáljuk gázkromatográfián.



A triglicerid hidrolízise és észterezése



Nem illékony

Illékony



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A zsírsav-metilésztetek **cianopropil állófázisú kapillaris oszloppal** elválaszthatók, meghatározásukra láng-ionizációs detektor használható.

A kapott kromatográfiás csúcsok alatti területek a zsírsav-metilésztetek mennyiségével arányosak.

$$\text{Rel\%} = (T_{\text{zsírsav}} / \Sigma T_{\text{zsírsav}}) \cdot 100$$

ahol: **Rel%** = a zsírsav-metilészter relatív mennyisége,

$T_{\text{zsírsav}}$ = a zsírsav-metilészter kromatográfiás csúcsa alatti terület,

$\Sigma T_{\text{zsírsav}}$ = a zsírsav-metilésztetek kromatográfiás csúcsai alatti területek

összege.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



1. ábra Telített zsírsavak standardja I.

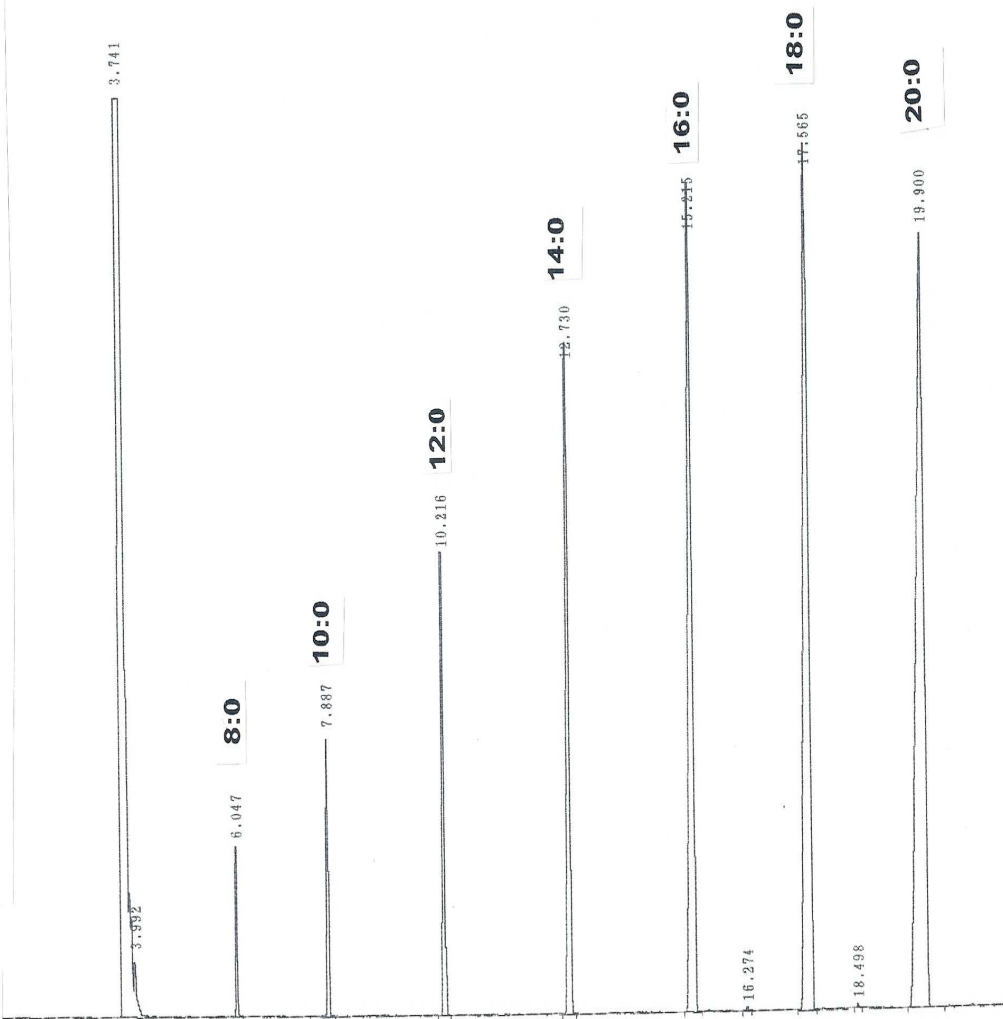


18:0	Sztearinsav
19:0	Nonadekanoilsav
20:0	Arachidinsav
21:0	Heneikozánsav
22:0	Behénsav

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

2. ábra

Telített zsírsavak standardja II.

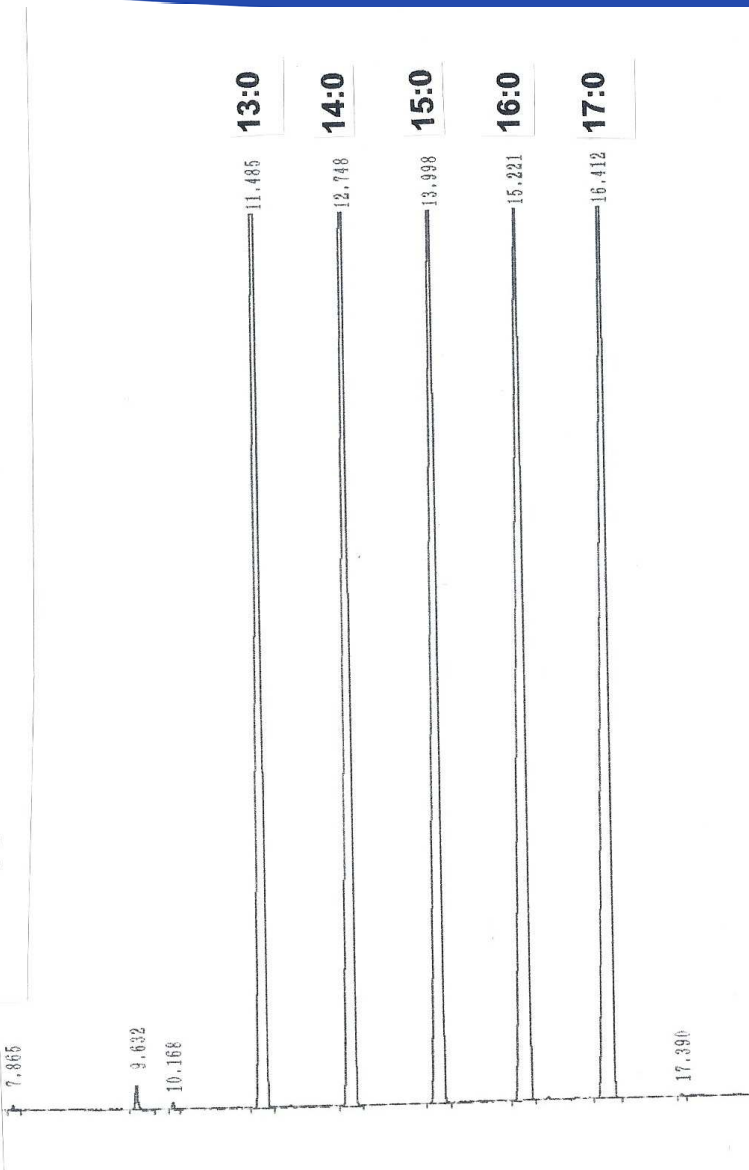


8:0	Kaprilsav
10:0	Kaprinsav
12:0	Laurinsav
14:0	Mirisztinsav
16:0	Palmitinsav
18:0	Sztearinsav
20:0	Arachidinsav

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



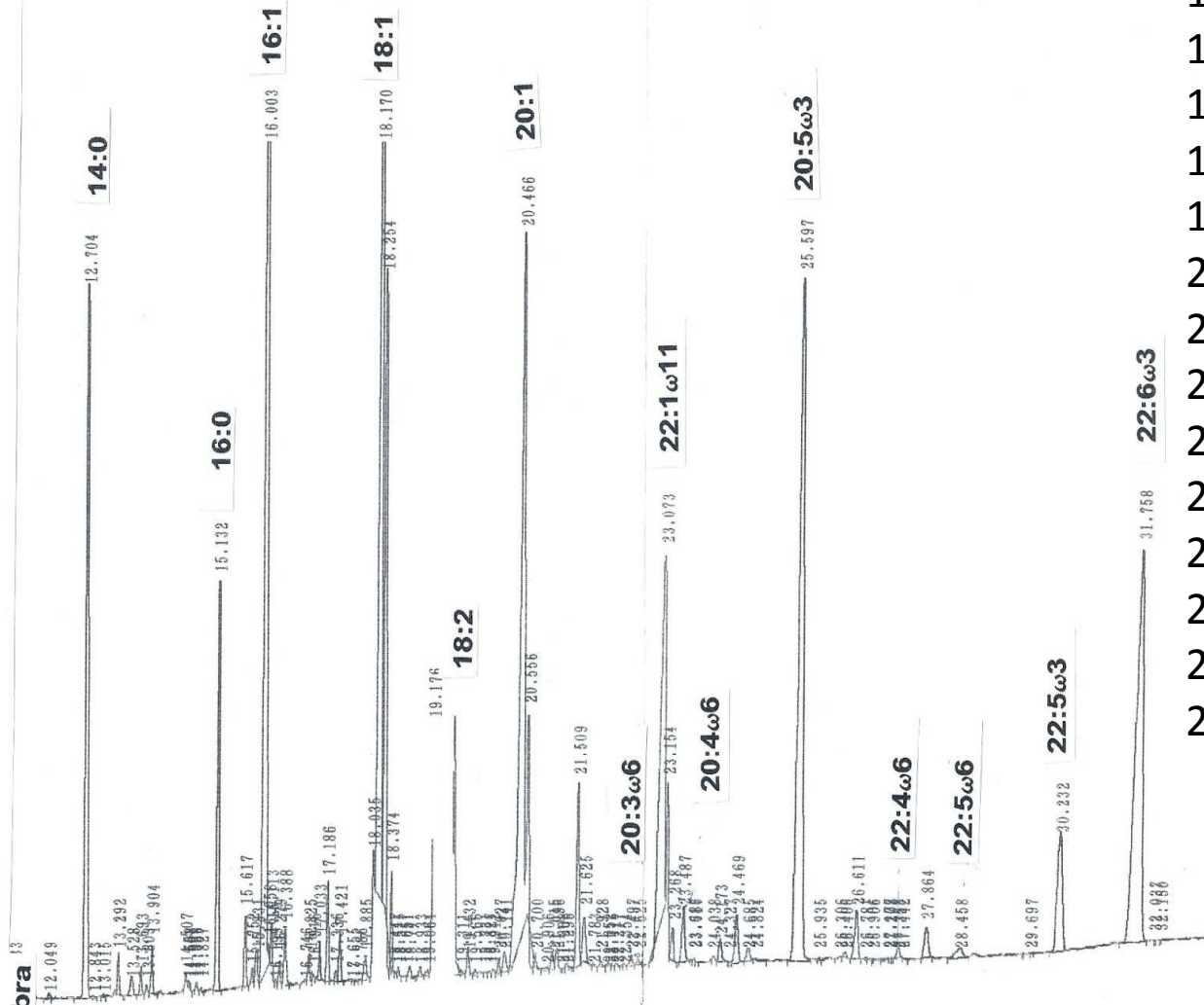
3. ábra Telített zsírsavak standardja III.



13:0	Tridekánsav
14:0	Mirisztinsav
15:0	Pentadekánsav
16:0	Palmitinsav
16:1	Palmitoleinsav
17:0	Margarinsav

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A többszörösen telítetlen zsírsavak meghatározása

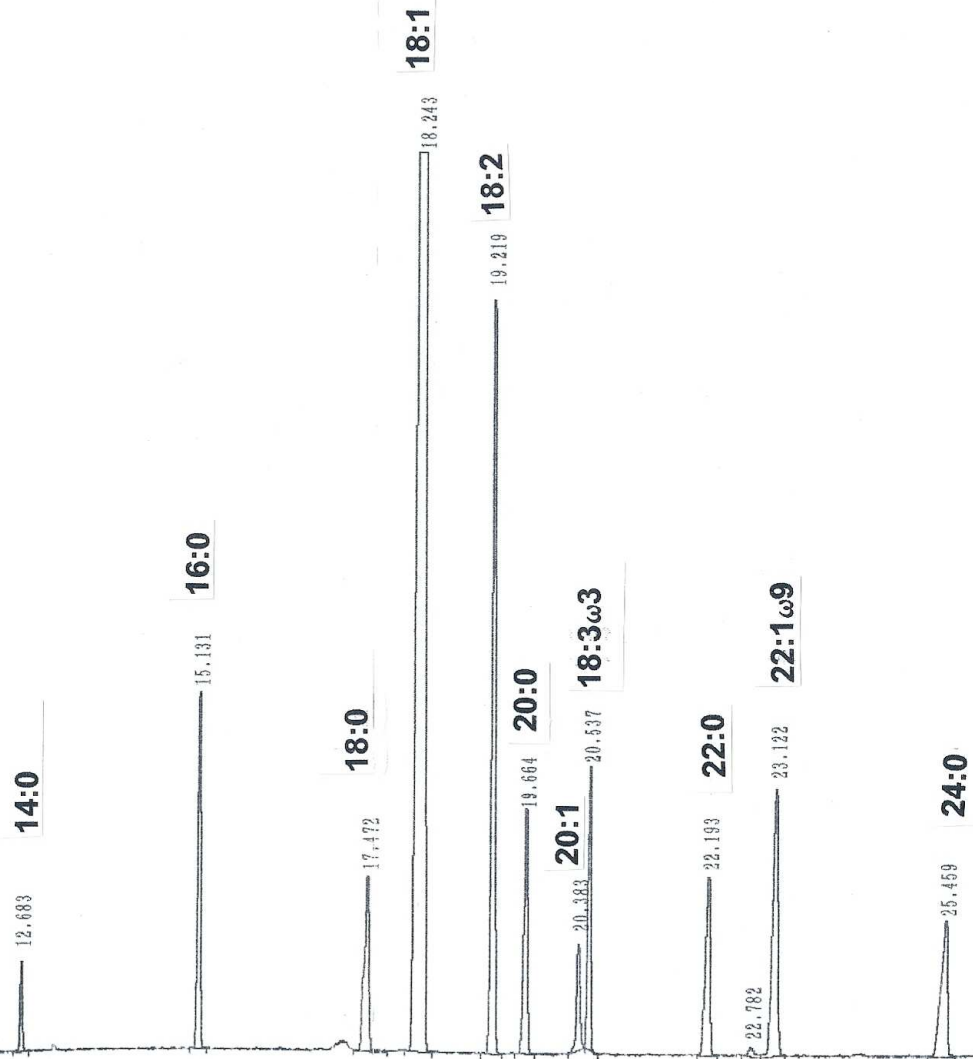


- 14:0 Mirisztinsav
- 16:0 Palmitinsav
- 16:1 Palmitoleinsav
- 18:1 Olajsav
- 18:2 Linolsav
- 20:1 Eikozénsav
- 20:3 ω 6 Eikozatriénsav
- 22:1 ω 11 Dokozaénsav
- 20:4 ω 6 Arachidonsav
- 20:5 ω 3 Eikozapentaénsav
- 22:4 ω 6 Dokozetetraénsav
- 22:5 ω 3 Dokozapentaénsav
- 22:5 ω 6 Dokozapentaénsav
- 22:6 ω 3 Dokozahexaénsav

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Telített és telítetlen zsírsavak standard kromatogramja

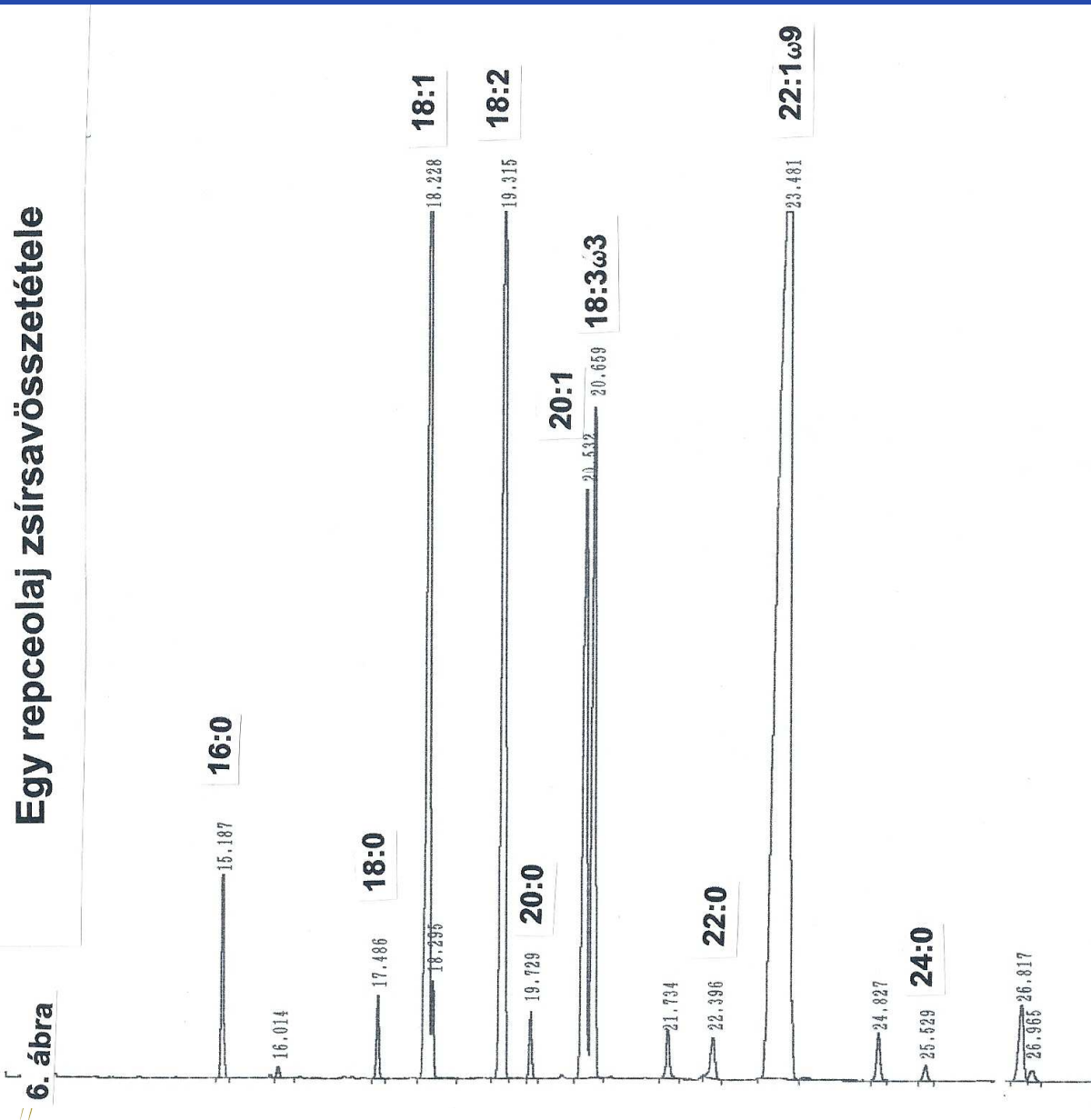
5. ábra



14:0	Mirisztinsav
16:0	Palmitinsav
18:0	Sztearinsav
18:1	Olajsav
18:2	Linolsav
20:0	Arachidinsav
20:1	Eikozénsav
18:3 ω 3	α -linolénsav
22:0	Behénsav
22:1 ω 9	Erukasav
24:0	Lignocerinsav

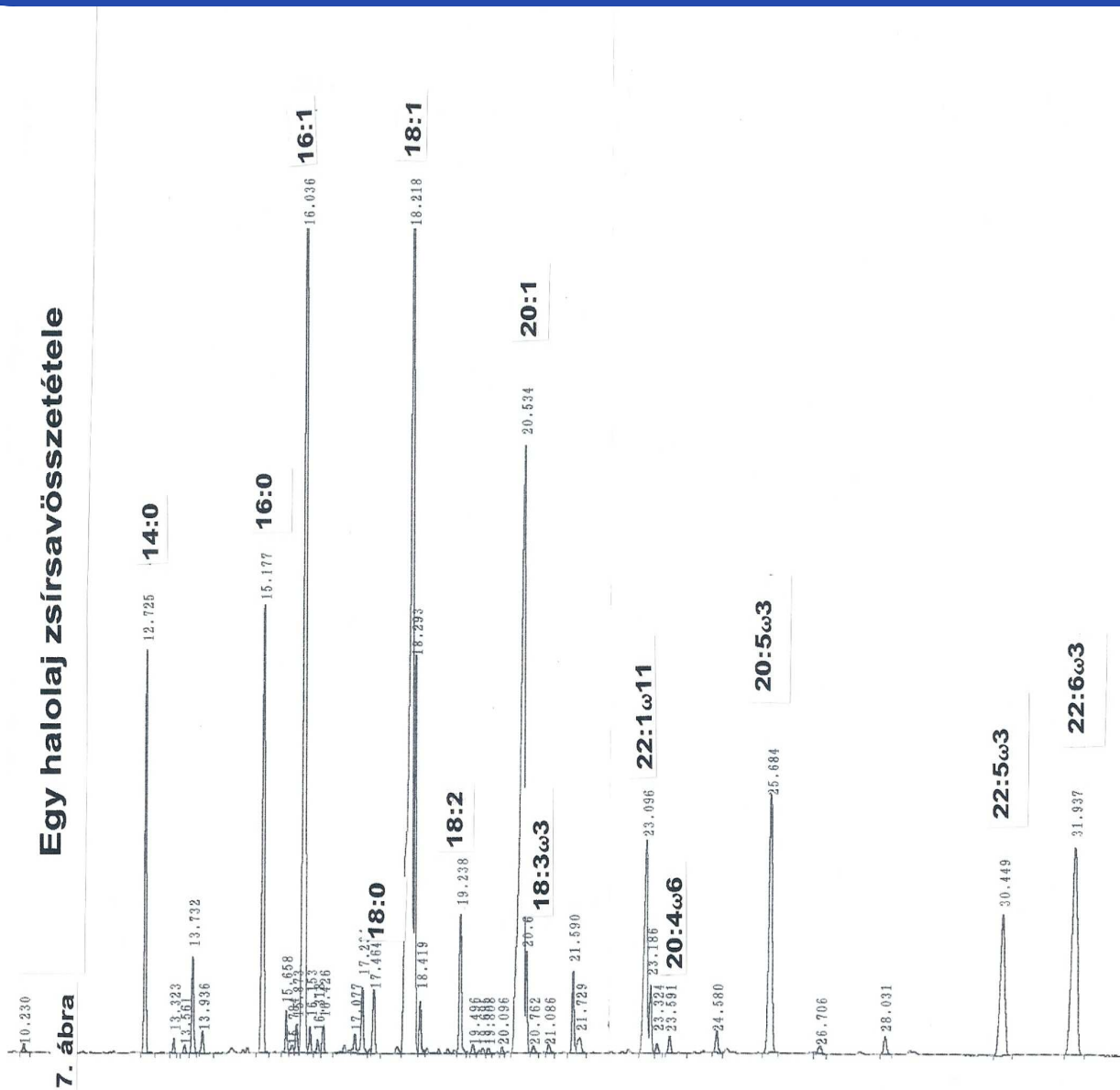
ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

6. ábra Egy repceolaj zsírsavösszetétele



16:0	Palmitinsav
18:0	Sztearinsav
18:1	Olajsav
18:2	Linolsav
20:0	Arachidinsav
18:3 ω 6	γ -linolénsav
20:1	Eikozénsav
22:0	Behénsav
22:1	Erukasav
24:0	Lignocerinsav

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



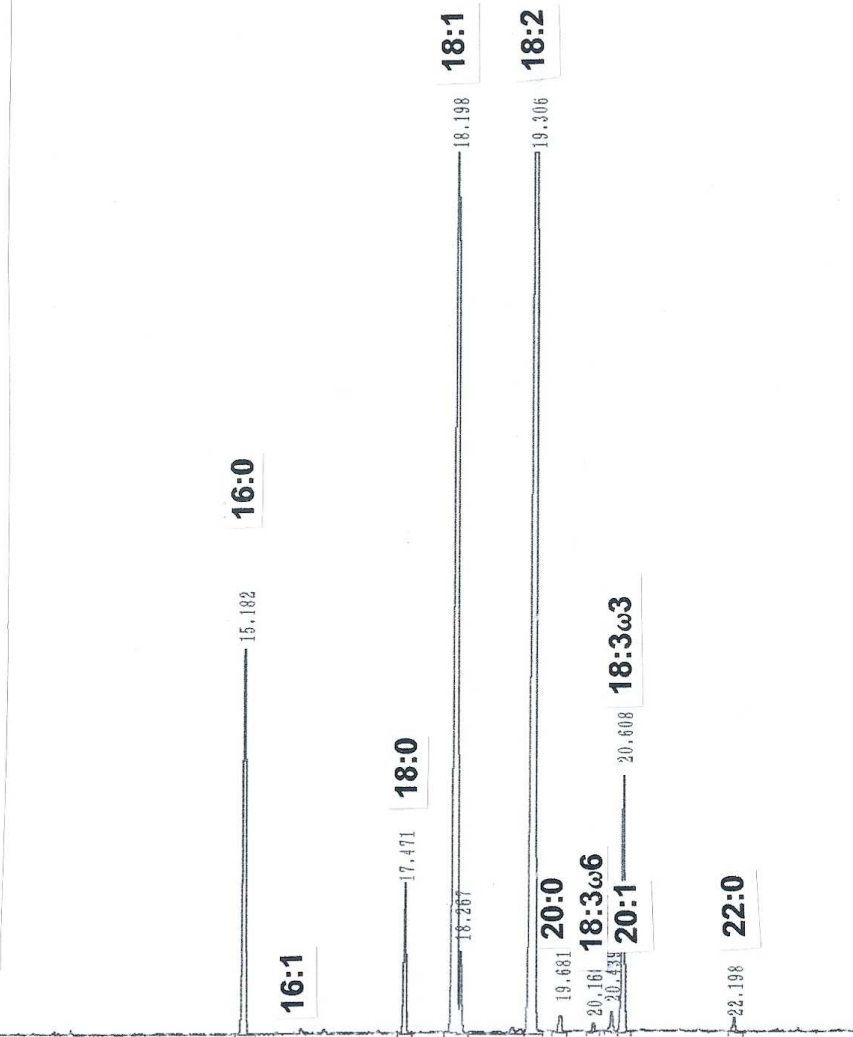
14:0	Mirisztinsav
16:0	Palmitinsav
16:1	Palmitoleinsav
18:0	Sztearinsav
18:1	Olajsav
18:2	Linolsav
18:3 ω 3	γ -linolénsav
20:1	Eikozénsav
22:1 ω 11	Erukasav
18:3 ω 3	α -linolénsav
20:4 ω 6	Arachidonsav
20:5 ω 3	Eikozapentaénsav
22:5 ω 3	Dokozapentaénsav
22:6 ω 3	Dokozahexaénsav

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
 Imiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
 gyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

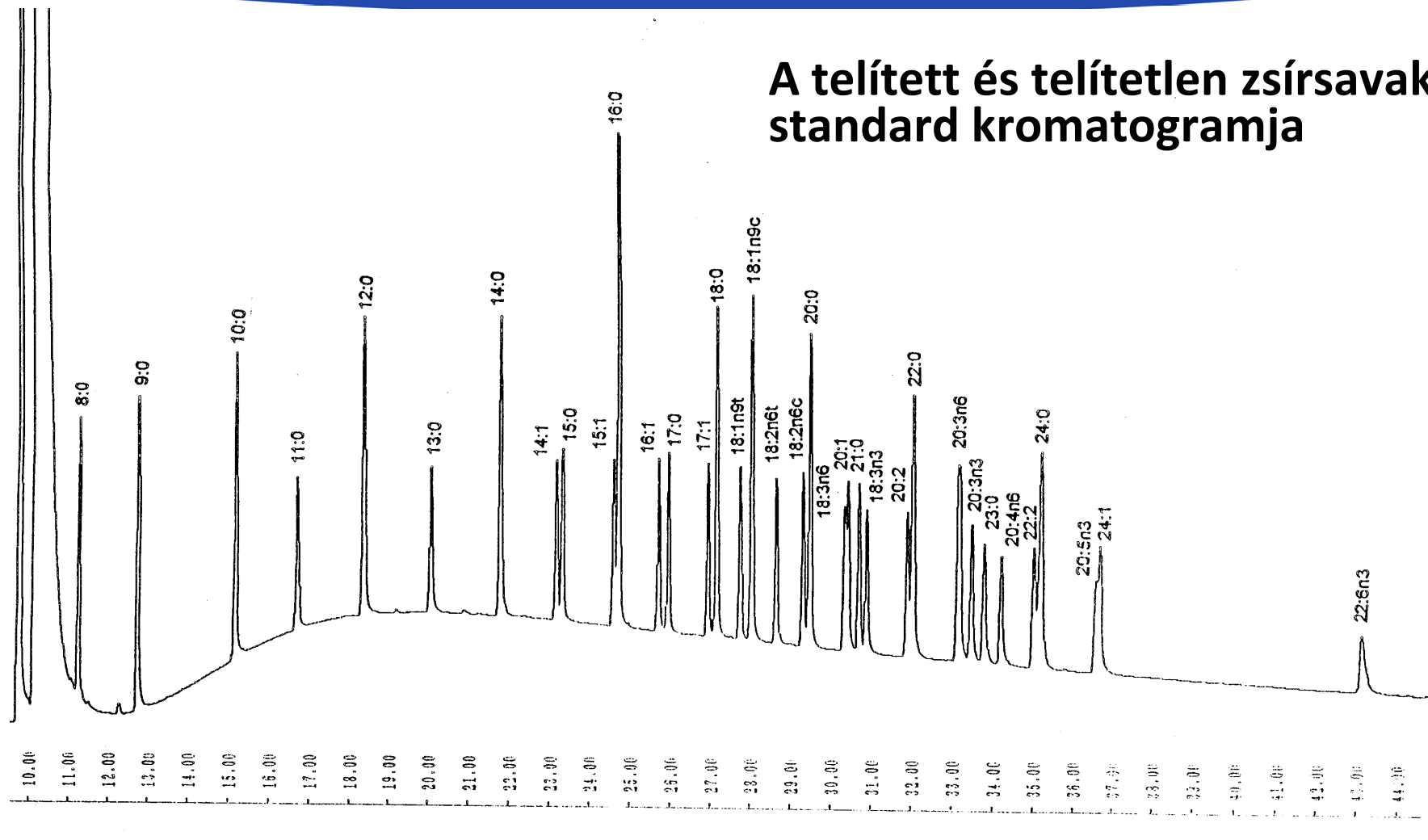
Egy szójaolaj zsírsavösszetétele

8. ábra



16:0	Palmitinsav
16:1	Palmitoleinsav
18:0	Sztearinsav
18:1	Olajsav
18:2	Linolsav
20:0	Arachidinsav
18:3 ω 6	γ -linolénsav
20:1	Eikozénsav
18:3 ω 3	α -linolénsav
22:0	Behénsav

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

8:0	Kaprilsav	18:2n6t	Linolelaidinsav
9:0	Pelargonsav	18:2n6c	Linolsav
10:0	Kaprinsav	20:0	Arachidinsav
11:0	Undekánsav	18:3n6	γ -linolénsav
12:0	Laurinsav	20:1	Eikozénsav
13:0	Tridekánsav	21:0	Heneikozánsav
14:0	Mirisztinsav	18:3n3	α -linolénsav
14:1	Mirisztoleinsav	20:2	Eikozadiénsav
15:0	Pentadekánsav	22:0	Behénsav
15:1	Pentadekénsav	20:3n6	Eikozatriénsav
16:0	Palmitinsav	20:3n3	Eikozatriénsav
16:1	Palmitoleinsav	23:0	Trikozánsav
17:0	Margarinsav	20:4n6	Arachidonsav
17:1	Heptadekénsav	22:2	Dokozadiénsav
18:0	Sztearinsav	24:0	Lignocerinsav
18:1n9t	Elaidinsav	20:5n3	Eikozapentaénsav
18:1n9c	Olajsav	24:1	Nervonsav
		22:6n3	Dokozahexaénsav

A telített és telítetlen zsírsavak megnevezése

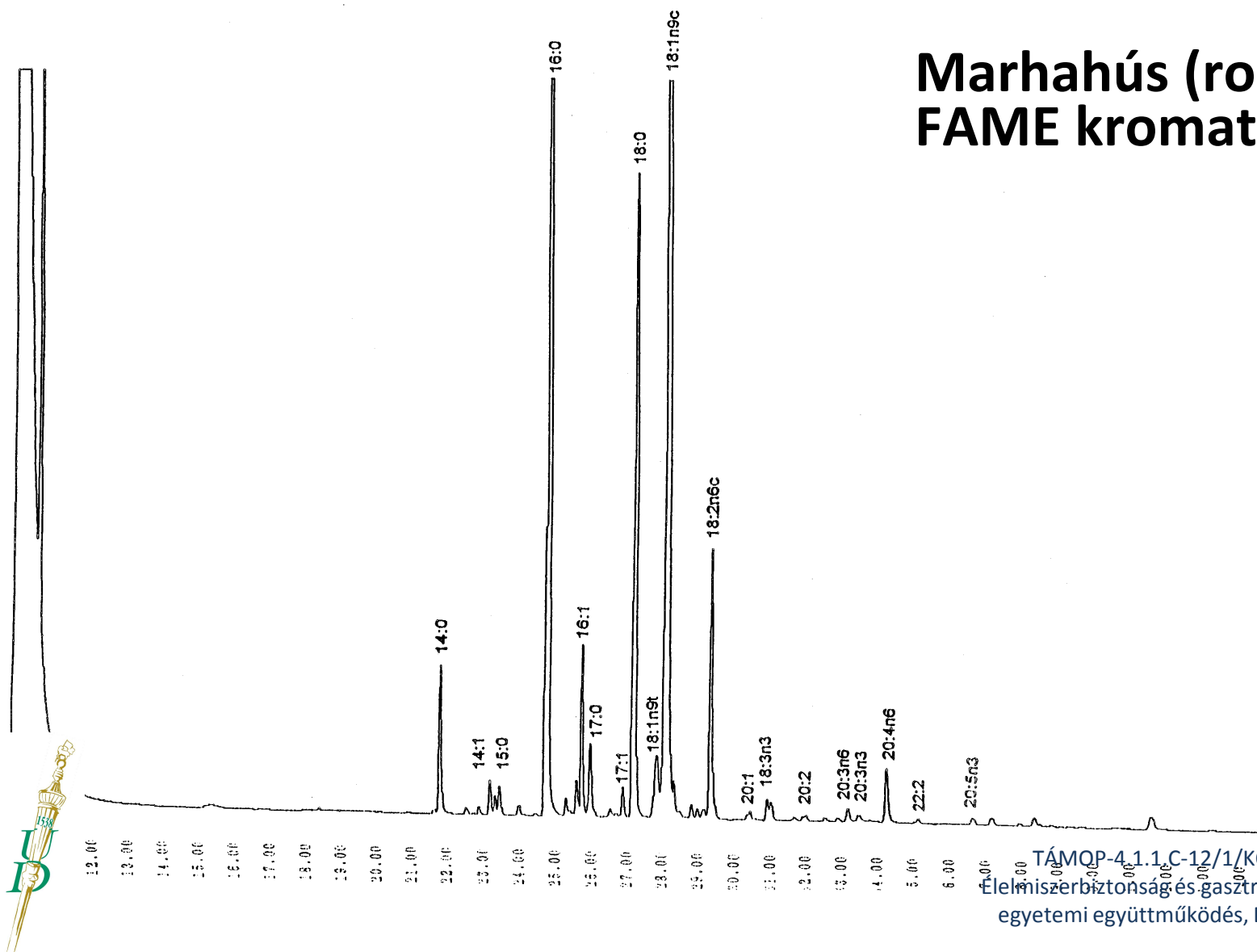


TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014

Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Marhahús (rostélyos) FAME kromatogram



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az illózsírsavak meghatározása

Illósavaknak hívjuk a **2–6 szénatomszámú monokarbonsavakat** (ecetsav, propionsav, vajsav, i-vajsav, valeriánsav, i-valeriánsav, kapronsav és i-kapronsav).

Ezek az "illósavak" vizes oldatukból melegítéssel könnyen elillannak, tehát kidesztillálhatók.

Illékonyságuknak köszönhetően szaguk is intenzív; az ecetsavé kis koncentrációban kellemes, de a többié kellemetlen.

Gyakorlati szempontból az **erjesztett élelmiszerek illósavtartalmának** a meghatározása a legjelentősebb.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az erjesztéssel történő tartósítás során a cukortartalom anaerob bomlás következtében tejsavvá alakul.

A folyamattal párhuzamosan végbemenő erjedések során ecetsav, propionsav, vajsav, valamint a fehérjebomlás következtében nagyobb molekulájú illózsírsavak is előfordulhatnak az élelmiszerekben.

Az erjesztéssel készített táplálékokban 1–1,5% körüli tejsav-koncentráció kívánatos.

A propionsav jelenléte nem káros, sőt hozzájárul az élelmiszer tartósításához.

A vajsav jelenléte önmagában nem káros, de ártalmas folyamatokra utal, és rontja az organoleptikus tulajdonságokat.

Izovajsav, illetve a nagyobb molekulájú illózsírsavak az aminosavbomlás eredményeként jelennek meg.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A illózsírsavak meghatározás gázkromatográfián:

100 g erjesztéssel tartósított élelmiszert mérünk egy 1000 cm³-es mérőlombikba, ráöntünk 900 cm³ desztillált vizet és 1 napot állni hagyjuk.

A szűrletből 4 cm³-t centrifugacsőbe mérünk, hozzáadunk 0,2 cm³ foszforsavat és 8000 g-n 10 percig centrifugáljuk.

A felülúszóból injektálunk 1 µl-t a gázkromatográfba.

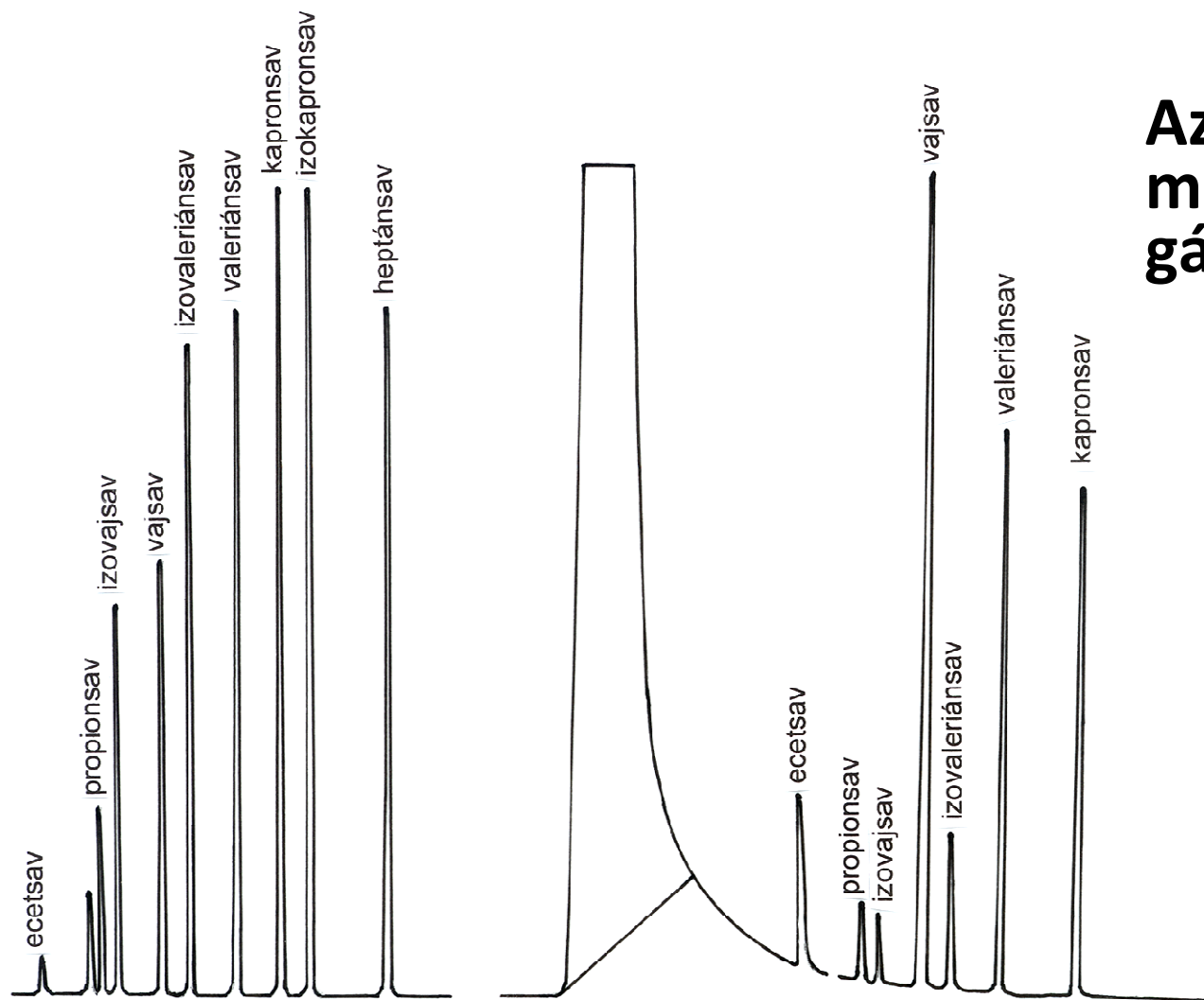
Az illózsírsavak analízise **polietilén-glikol állófázisú kapilláris oszloppal** történik lángionizációs detektálással.

Minden elemzés előtt, naponta injektálunk standardoldatot, amely az összes meghatározni kívánt komponenst ismert koncentrációban tartalmazza.

Megállapítjuk a retenciós időket, meghatározzuk a koncentráció számításához szükséges faktorokat.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



Az illózsírsavak meghatározása gázkromatográfiával



standard

savanyított élelmiszer

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

A konjugált linolsavak mennyiségének elemzése gázkromatográfiával.

A konjugált linolsavak jelentősége

Rákellenes hatás, antioxidáns hatás, immunerősítő, antiatherogén, testzsírcsökkentő.

A konjugált linolsavak előfordulása élelmiszerekben

Tej és tejtermékekben 0,2–2,0 g KLS/100 g tejszír.

Kérődző állatok húzában 0,5-1,0 g KLS/100g zsír.

Növényi olajokban 0,1-0,2 g KLS/100g zsír .

Margarinokban (gyakorlatilag nulla).

A konjugáltlinolsav-tartalom növelés lehetőségei tej és tejtermékekben

Szarvasmarhák: takarmányozás, tartásmód (legelő, napfény).

Savanyú tejtermékek: mikrobiális fermentáció.

Vaj/sajtok: hőkezelés, érlelési idő.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A minták zsírsav-összetételének vizsgálata: Észterezés metanolos NaOH-dal, BF_3 katalizátor jelenlétében.

A minták konjugáltlinolsav-tartalmának vizsgálata: Metilezés nátrium-metiláttal (NaOCH_3). **Másik módszer:** Metilezés nátrium-metilát (NaOCH_3) és bórtrifluorid (BF_3) katalizátorok kombinációjával.

Egy 15 cm^3 -es centrifuga csőbe bemértünk 100 mg sajtot, $2,5 \text{ cm}^3$ $0,5 \text{ M}$ metanolos nátrium-metilát-oldatot adtunk hozzá, jól összeráztuk, $80 \text{ }^\circ\text{C}$ -on, 10 percen át vízfürdőn tartottuk.

Ezt követően $25 \text{ }^\circ\text{C}$ -ra lehűtöttük, $2,5 \text{ cm}^3$ 10% -os metanolos bórtrifluorid oldatot adtunk hozzá, jól összeráztuk, és $80 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 3 percig melegítettük.

Lehűtöttük $25 \text{ }^\circ\text{C}$ -ra, és $500 \text{ }\mu\text{l}$ hexánt adtunk hozzá, 1 percig ráztuk, majd 1 cm^3 telített NaCl-oldatot adagoltunk, és ismét 1 percig ráztuk, végezetül 10 percig 2200 g-n centrifugáltuk.

A centrifugálást követően a felső hexános fázist vízmentes nátrim-szulfátot tartalmazó Eppendorf tubusba tettük, és ebből injektáltunk $1 \text{ }\mu\text{l-t}$ a gázkromatográfba.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Kromatografálás:

Készülék: Varian CP-3380 gázkromatográf.

Kolonna: 100 m x 0,25 mm kvarc kapilláris, CS-Sil 88 (FAME) állófázis.

Detektor: FID 270 °C.

Injektor: splitter 270 °C.

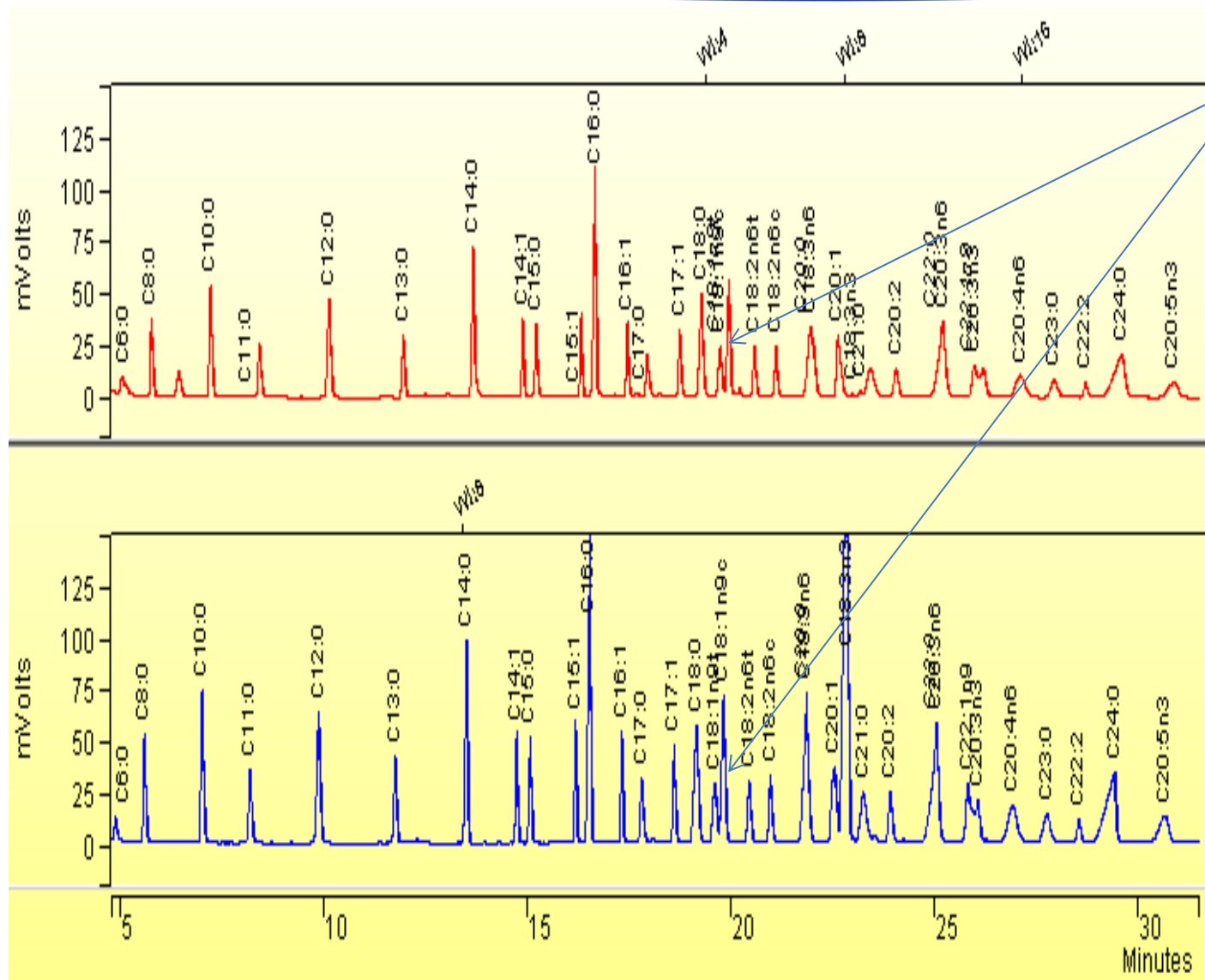
Vivőgáz: hidrogén, 235 kPa.

Hőmérséklet-program: kolonna 140 °C 10 percig, 10 °C/perc emelés 210 °C-ig,
izoterm 20 percig.

Injektált oldat térfogata: 1 µl.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



**A konjugált
linolsavak
mennyiségének
elemzése
gázkromatográfi-
ával.**

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Célkitűzéseink szerint vizsgáltuk:

Eltérő genotípusú szarvasmarhák tejzsírjának zsírsav-összetételét és KLS-tartalmát és ezen komponensek változását a laktáció során.

Különbéle kultúrák hatását a tejtermékek zsírsav-összetételére és KLS-tartalmára:

A szintenyészetek hatása a zsírsav-összetételre és a KLS-tartalomra.

A hozzáadott linolsav hatása a KLS-tartalomra.

A technológia hatását a tejtermékek zsírsav-összetételére és KLS-tartalmára:

Különbéle vajak és margarinok zsírsav-összetételének összehasonlítása.

A hő- és mikrohullámú kezelés hatása tejtermékek zsírsav-összetételére.

Sajtok zsírsav-összetételének változását a tárolási idő függvényében.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Eredmények, következtetések:

Eltérő genotípusú szarvasmarhák tejzsírjának zsírsav-összetétele, KLS-tartalma és ezen komponensek változása a laktáció során.

A feketetarka és a vöröstarka holstein-fríz, valamint a magyartarka tejzsírjának zsírsav-összetétele szinte teljes mértékben megegyezik.

A telített szénláncú zsírsavak a téli és kora tavaszi, míg a telítetlen zsírsavak a nyári hónapokban érik el maximumukat.

A KLS maximumát 1,35%-kal augusztusban, minimumát pedig 0,75%-kal januárban mutatja.

A nyáron fejt tej gazdagabb esszenciális zsírsavakban, valamint magasabb telítetlenzsírsav-tartalma miatt némileg nagyobb táplálkozásbiológiai értéket képvisel.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Különféle kultúrák hatását a tejtermékek zsírsav-összetételére és KLS-tartalmára

A Székelyföldön savanyú tejtermékek előállítására a napi gyakorlatban használt kultúrákeverékekkel előállított tejkészítményeket összehasonlítva nem tudtunk olyan összeállítást (tejsavbaktérium kombinációk, hőmérséklet, idő) képezni, amely lényegesen megnövelte volna a tejtermék KLS-tartalmát.

A *Lactobacillus acidophilus*-nál és a *Lactobacillus plantarum*-nál 100 µl napraforgóolaj adagolás a KLS mennyiségét 35–40%-kal növelte, a *Lactobacillus casei*-nél viszont csak 20% növekedést tapasztaltunk.

Az optimális KLS-termelés érdekében javasoljuk az általunk napraforgóolajjal elvégzett kísérletet az alkalmazni kívánt tejsavbaktériummal előzetesen elvégezni.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A vaj, a sajtok és a margarin KLS-tartalma

A vaj lényegesen több rövid szénláncú zsírsavat, valamint palmitinsavat és sztearinsavat tartalmaz, mint a margarin. A margarinok olajsav-tartalma nagyobb, mint a vajaké, lényegesen nagyobb azonban a margarinok linolsav-tartalma.

A jelenleg kereskedelmi forgalomban kapható margarinok csekély mennyiségben tartalmazzák a transz konfigurációjú elaidinsavat, így e szempontból a margarin nem jelent kockázatot a fogyasztó számára.

A hagyományos és a mikrohullámú hőkezelés (2–8 perc) nem okoz szignifikáns változást az elaidinsav és olajsav, valamint a többi zsírsav esetében.

A vizsgált félkemény sajtok közül a Rucăr sajtnak volt a legnagyobb (0,135 g KLS/100 g zsír), míg a Penteleunak a legkisebb (0,089 g KLS/100 g zsír) KLS-tartalma.



A hőkezelt vaj aromaanyagainak meghatározása gázkromatográfiával

A gázkromatográfiát széles körben alkalmazzák aromaanyagok meghatározására, és az illó komponensek alapján élelmiszerek beazonosítására (fingerprint).

A hőkezelt vaj esetében hét aroma komponens azonosításáról számoltak be: 2-heptanon, dimetil-triszulfid, vajsav, 3-metil-vajsav, δ -hexalaktan, δ -oktalaktan, δ -dekalaktan.

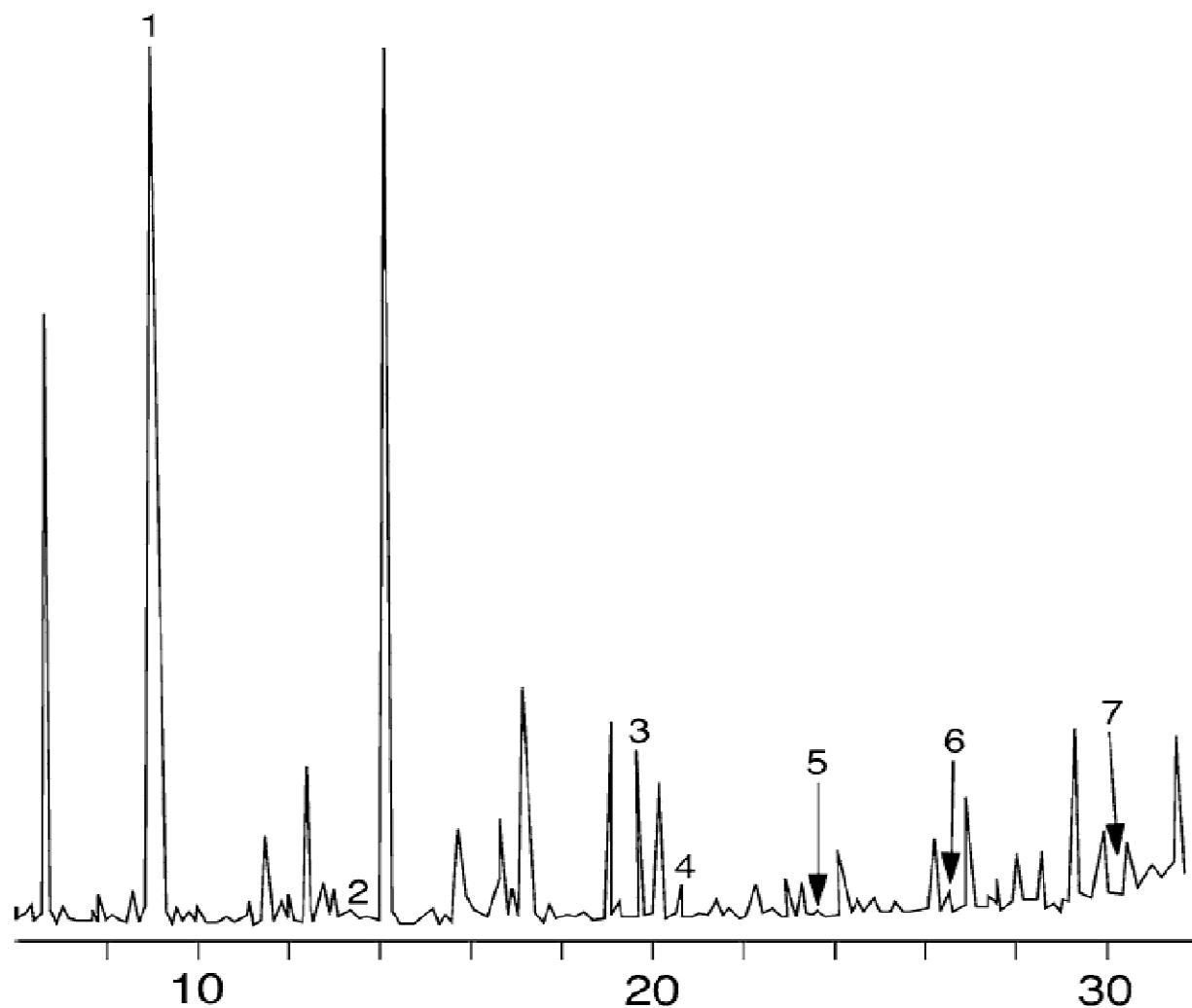
Az illékony aromakomponensek koncentrációjának változás szoros összefüggésben van az aroma megváltozásával.

A vaj tárolás alatt bekövetkező kellemetlen aromájának kialakulása kapcsolatban hozható a laktonok, különösen a δ -laktonok koncentrációjának növekedésével.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A hőkezelt vaj aromaanyagainak meghatározása gázkromatográfiával



- 1 = 2-heptanon
- 2 = dimetil-triszulfid
- 3 = vajsav
- 4 = 3-metil-vajsav
- 5 = δ -hexalakton
- 6 = δ -oktalakton
- 7 = δ -dekalakton

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
niszterbiztonság és gasztronómia vonatkozású
yetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Különböző sajtok konjugáltlinolsav-tartalmának változása a tárolás során

Három félkemény (Dalia, Rucăr, Penteleu) és egy feta típusú (Telemea) sajtot öt hónapon keresztül +4 °C-on hűtőszekrényben tároltunk, és három hetente megmintáztunk.

Megállapítottuk, hogy a konjugáltlinolsav-tartalom a 21. tárolási hét végére a Dalia esetében 0,047 g KLS/100 g zsírról 0,115 g KLS/100 g zsírra, a Penteleunál 0,034-ről 0,089-re, a Rucăr esetében pedig 0,042-ről 0,128 g KLS/100 g zsírra változott.

A Telemea esetében a KLS-tartalom 0,038-ról 0,120 g KLS/100 g zsírra nőtt a tárolás során.

Mindegyik sajt esetében a KLS-tartalom a tárolás 15–18. hetében érte el a maximális értéket, melyet követően mennyisége vagy csökkent vagy állandó szinten maradt.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Savanyú tejtermékek zsírsav-összetételének és KLS-tartalmának változása színtenyészetek hatására

Vizsgáltuk, hogy a **különböző színtenyészetek** (*Lactobacillus lactis subsp. lactis*, *Lactobacillus lactis subsp. cremoris*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus lactis subsp. lactis biovar*, *Lactobacillus diacetilactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*) **milyen hatással vannak a különböző technológiával előállított savanyított tejtermékek** (Sana, joghurt) **zsírsav-összetételére, különös tekintettel a konjugált linolsavra (KLS).**

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az általunk alkalmazott, és a tejipari gyakorlatban mindennaposan használt **kultúráknak alig van hatása** a tej zsírsav-összetételére. Minimális különbséget találtunk ugyan az egyes zsírsavak esetében, de a csekély különbségek miatt megállapítható, hogy a kultúrák nincsenek hatással a tejzsír táplálkozási értékére.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A hőkezelés hatása a tejzsír zsírsav-összetételére

Hőkezelés: laboratóriumi főzőlapon 2, ill. 8 percig.

Mikrohullámú kezelés: 450 W-on 1, 2, 4 és 8 percig.

A zsírsavakat bór-trifluorid felhasználásával zsírsav-metilészterekké alakítottuk. A mintákat n-hexános közegben tároltuk, majd gázkromatográfiásan analizáltuk.

Az általunk vizsgált mintákban az olajsav és az elaidinsav kivételével a zsírsav-összetételbeli különbségek csekélyek.

Mindkét kezelés esetén csökken az olajsav, és nő az elaidinsav részaránya.

A különbségek nem utalnak a hőkezelés és a mikrohullámú kezelés káros hatásaira.

Nem tudtunk különbséget kimutatni a hőkezelés és mikrohullámú kezelés idejének hatásában sem.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A konjugált linolsavak (KLS) antioxidáns hatásának vizsgálata

A **konjugált linolsav antioxidáns tulajdonságainak** tanulmányozására kísérletet állítottunk be megnövelt KLS-tartalmú ghee-vel kevert kukoricadarával.

A **ghee tisztított vaj**, Indiában a legfontosabb állati eredetű zsírforrás, melynek KLS-tartalma hőkezelés hatására megemelkedik.

Megállapítottuk, hogy a 20. hetet követően a konjugáltlinolsav-tartalom az eredeti érték harmadára csökkent.

Jelentős mértékű csökkenést csak a tárolás 20. hete után tapasztaltunk a linolsav és linolénsav esetében. Az olajsav és a telített zsírsavak mennyisége alig változott.

Az összes többszörösen telítetlen zsírsav közül a KLS a legérzékenyebb az oxidációra, így az ő antioxidáns hatása a legnagyobb.

A **megnövelt konjugáltlinolsav-tartalmú vaj 20 héten át meggátolta az avasodásra rendkívül hajlamos kukoricadara romlását.**

A tárolás 40. hetéig a savszám nem emelkedett a szabvány által előírt érték fölé.

A **megnövelt KLS-tartalmú vaj (ghee) megvédi az élelmiszer oxidációra érzékeny komponenseit.**



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A szalonna koleszterin tartalmának meghatározás gázkromatográfiával

5 g szalonnából a zsírt Soxhlet-extrahálókészüléken n-hexánnal extraháltuk,

a zsíros extraktumot bepároltuk,

a maradékhoz 10 cm³ 60%-os kálium-hidroxidot és 40 cm³ metanolt adtunk.

A lombikot visszafolyóhűtővel vízfürdőn 30 percig melegítettük.

Az elszappanosítás befejezése után a lombikot lehűtöttük, tartalmát 3 x 40 cm³ vízzel választótölcsérbe mostuk,

a koleszterint 3 x 40 cm³ éterrel extraháltuk.

Az egyesített éteres fázist bepároltuk, a maradékot 4 cm³ hexánban és 0,5 cm³ metanolban feloldottuk, és ebből injektáltunk a gázkromatográfba.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Gázkromatográfiás körülmények:

Készülék: Chrompack CP 9000 gázkromatográf.

Kolonna: 10 m x 0,25 mm kvarc kapilláris, nedvesítő fázisa CP Sil-5 CB.

Vivőgáz: hélium, nyomása 30 kPa.

A lefűvás aránya: 50:1.

Hőmérsékletek: injektor 275 °C, detektor 300 °C, kolonna 270 °C.

Detektor: lángionizációs detektor; hidrogén 30 cm³/perc, levegő 300 cm³/perc, nitrogén 20 cm³/perc áramlási sebesség.

Injektált térfogat: 0,5-2 µl.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Különböző fajtájú sertések zsírjának zsírsavösszetétele és koleszterin tartalma

A vizsgált sertésfajták:

Mangalica, magyar nagyfehér x magyar lapály, mangalica x duroc.

A három fajta között sem a telített, sem a telítetlen, sem az esszenciális zsírsavak tekintetében, sem a koleszterin tartalomban **nem lehet szignifikáns különbséget kimutatni.**

A három sertésfajta zsírjának koleszterintartalma 71-109 mg/100 g között változik.

A sertészsírnak magas az olajsav (43,57-44,81 relatív %) és a linolsav (10,63-11,47 relatív %) tartalma.



Antioxidánsok (BHT) meghatározása

A butil-hidroxi-toluol (BHT) alacsony forráspontja miatt könnyen gázállapotúvá alakítható, ezért gázkromatográfiás módszerrel meghatározható.

Az eljárás során az antioxidánstartalmú vizsgálandó anyagból, elsősorban zsírból, margarinból, olajból oldatot készítünk, amelyet közvetlenül injektálunk a gázkromatográfba.

A gázkromatográfiás elválasztás relatíve magas hőmérsékletén (200–300 °C) mind az oldat, mind az oldott anyagok gázállapotúvá válnak.

A megfelelően megválasztott gázkromatográfiás oszlopon szétválaszthatók.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A meghatározás menete:

A vizsgálati eljárás során a disznózsírból, margarinból vagy étolajból 100 mg vizsgálati anyagot oldunk 10 cm³ hexánban.

Az oldatból 1 µl-t injektálunk a gázkromatográfba.

Az analízis paramétereit:

A GC injektorának hőmérséklete 250 °C,

a vivógáz He,

az injektorban a nyomás 180 kPa,

a kolonna: 10 m × 0,25 mm kvarckapilláris, szilikonolaj töltettel,

a kolonnatér hőmérséklete 220 °C.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Értékelés:

A BHT csúcsának beazonosítása után az eredményt a következők szerint számítjuk ki:

$$C_{\text{BHT}} = \frac{C_{\text{St}} \cdot T_{\text{minta}}}{T_{\text{standard}}}$$

ahol: C_{BHT} = a minta BHT-tartalma (mg/kg),

C_{St} = a standardoldat BHT-tartalma (mg/cm³),

T_{minta} = a mintából származó BHT csúcs területe,

T_{standard} = a standardból származó BHT csúcs területe,

m = a bemért minta mennyisége (g).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A különféle antioxidánsok meghatározása:

Megfelelő kromatográfiás körülmények betartásával egy lépésben is szét lehet választani őket.

A gázkromatográfiás elválasztás körülményei a következők (mindegyik antioxidáns 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ koncentrációjú oldatából 2 μl -t táplálunk be a gázkromatográfba).

A kromatografálás körülményei:

30 m x 0,25 mm SAC-5 oszlop,

200 °C-os hőmérséklet,

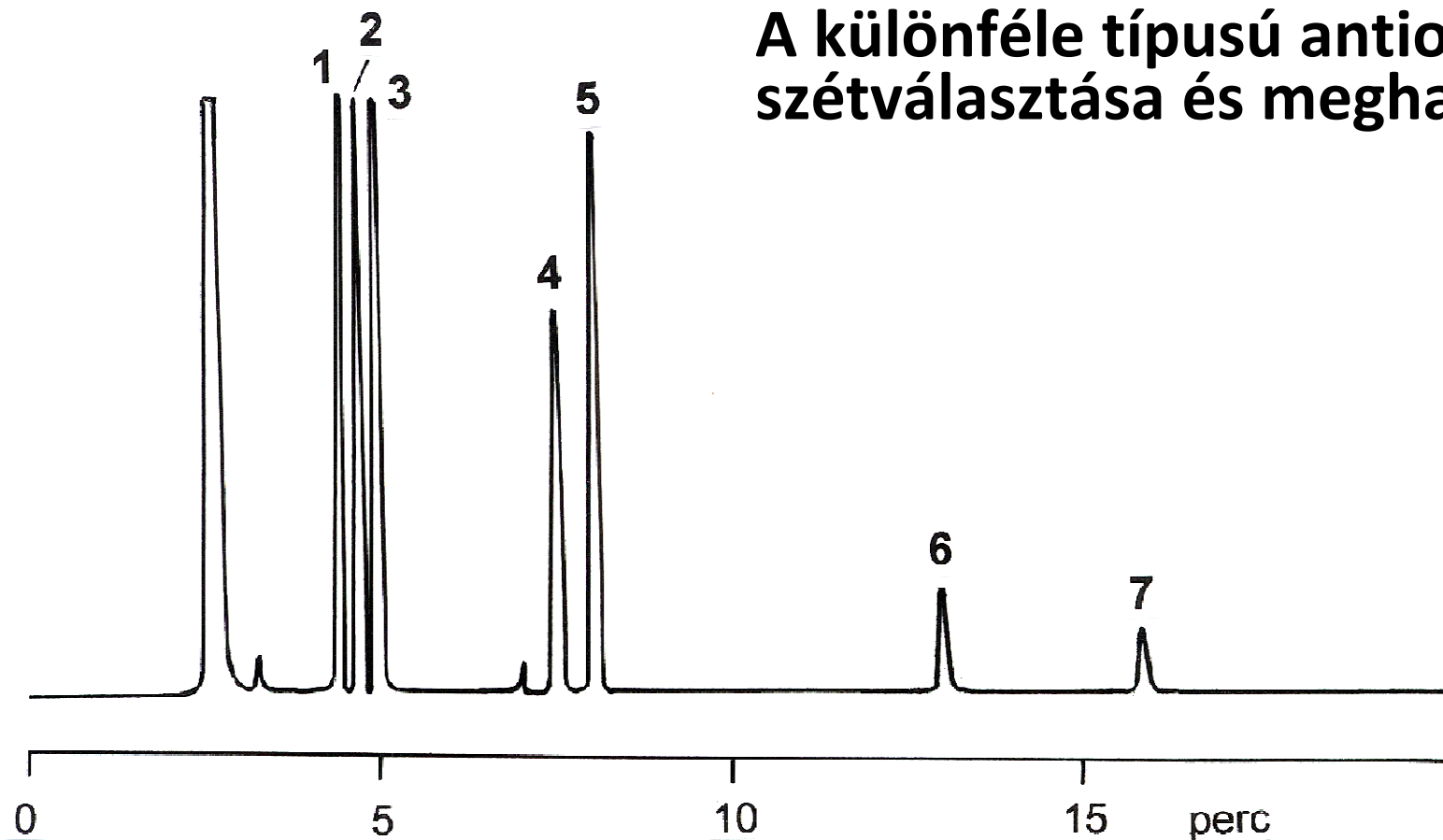
30 cm/sec áramlási sebességű héliumgáz,

lángionizációs detektor 200 °C-on.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A különféle típusú antioxidánsok szétválasztása és meghatározása



1. BHA, 2. BHT, 3. TBHQ, 4. Etoxiquin, 5. Ionox 100, 6. THBP, 7. Propil-gallát



Az F₂-toxin-tartalom vizsgálata gázkromatográfiával

Mintaelőkészítés a GC analízishez

A mintából 20 g-ot Soxhlet-készülékben, etil-acetáttal, nyolc órán át extrahálunk, majd az extraktumot rotációs gyorsbepárlóval bepároljuk.

A maradékot 50 cm³ hexánban feloldjuk, és 50, majd 25 cm³ acetonitrillel kirázzuk.

Az acetonitriles fázisokat bepároljuk, a maradékot 25 cm³ kloroformmal vesszük fel.

Ezt kétszer 10 cm³, 0,2 mólos sósavoldat és 1 mólos NaOH-oldat 1:10 arányú keverékével óvatosan kirázzuk.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az egyesített lúgos fázisok pH-ját 0,67 mólos foszforsavoldat és 0,1 mólos NaOH-oldat felhasználásával 9,5-re állítjuk be.

Ezt követően 3 x 15 cm³ kloroformmal kirázzuk, és az egyesített kloroformos fázisokat vízmentesítés után bepároljuk.

A maradékot acetonnal kvantitativé speciális fiolákba visszük át, a mintákat nitrogénáramban bepároljuk, és a maradékot 200 µl acetonban vesszük fel.



Meghatározás gázkromatográfiával

Az előkészített minta 100 μl -ét nitrogénáramban ismételten bepároljuk, majd 30 percen keresztül 50 μl szililező reagenssel szililezzük.

A kapott mintából 1–3 μl -t injektálunk a gázkromatográfba.

A gázkromatográfiás elemzés körülményei az alábbiak:

Kolonna: 2 mm belső átmérő, 1 m hosszú üveg 3% OV-17 töltettel,

hőmérséklet $T_1 = 275\text{ }^\circ\text{C}$, $T_D = 305\text{ }^\circ\text{C}$,

hőmérsékletprogram: 150 $^\circ\text{C}$ -ról, 8 $^\circ\text{C}/\text{min}$ emeléssel 260 $^\circ\text{C}$ -ig, 3 perc hőmérséklettartás.

Ilyen kromatográfiás körülmények között a zearalenon szililezett származéka 16 perces retenciós idővel detektálható.



A fehérje aminosav-összetételének meghatározása gázkromatográfiával

A táplálkozással foglalkozó szakemberek számára fontos a fehérje aminosav-összetételének ismerete.

Az ember az esszenciális aminosavakat nem tudja előállítani, a nem fehérje nitrogén hasznosítására pedig gyakorlatilag nem képes.

Optimális összetételű élelmiszerek előállítása csak az élelmiszer esszenciális, illetve a limitáló aminosavai ismeretében lehetséges.

Az élelmiszerek aminosav-összetétele ismeretében biztosítani lehet az optimális fehérje és energiaellátást.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Élelmiszerek aminosav-összetételét a fehérje hidrolízise után határozhatjuk meg.

Mérési lehetőségek:

az **ioncserés oszlopkromatográfia** elvén működő automatikus aminosav-analizátorral, oszlop utáni származékképzéssel,

a **folyadékkromatográfia** elvén működő nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával, oszlop előtti származékképzéssel,

fotometrián, és

gázkromatográfiával.

(Ebben az előadásban csak a gázkromatográfiás meghatározással foglalkozunk).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az analízis menete:

A vizsgálati anyag előkészítése,
a minta hidrolízise, a hidrolizátum feldolgozása,
származékképzés
az aminosav származékok szétválasztása GC-vel,
az aminosavak mennyiségi meghatározása ,
az eredmény számolása, értékelése.

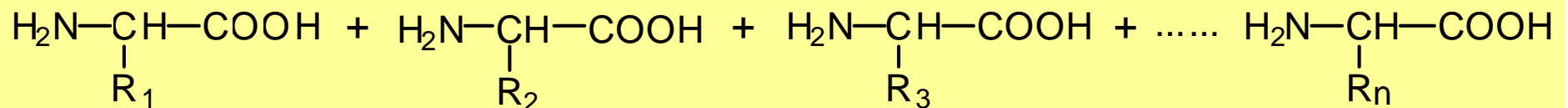
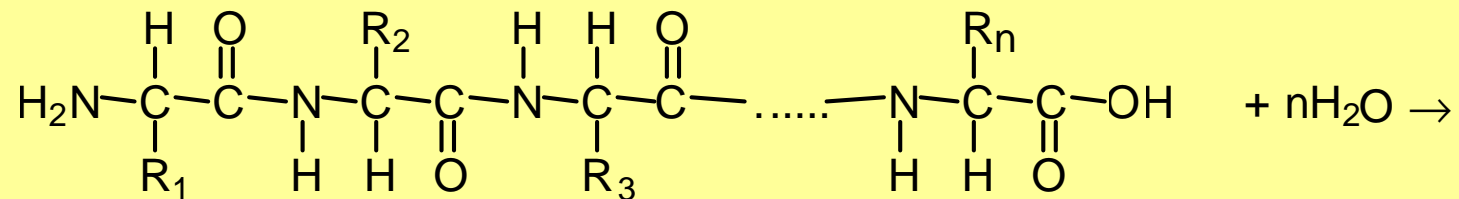


ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A minta hidrolízise, a hidrolizátum előkészítése analízisre

A fehérjék aminosav-összetételének megállapításához a polipeptidláncot alkotó aminosavakat a kötéseikből fel kell szabadítani.

A polipeptidlánc hidrolízisének mechanizmusa:



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Hidrolízismódszerek kritériumai:

Teljes hidrolízist ad (az összes aminosav a legstabilabb kötésekből is felszabadul), az egyes aminosavakat nem vagy a lehető legkisebb mértékben károsítja, az alkalmazott reagens nem hoz létre mellékreakciókat.

Leggyakrabban a savas hidrolízises módszereket alkalmazzák.

A triptofán meghatározása során lúgos hidrolízist alkalmaznak, mert a triptofán indolcsoportja savas körülmények között gyakorlatilag kvantitatíve elbomlik.

Enzimes hidrolízist aminosav-meghatározásra csak ritkán használnak annak ellenére, hogy ez az eljárás károsítja legkevésbé az aminosavakat.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Hat mólos sósavas hidrolízis

10 cm³-es orvosi ampullába a nyersfehérje-tartalomtól függően bemérünk 10–50 mg megfelelően előkészített mintát.

5 cm³ 6 M-os, előzetesen nitrogénnel átbuborékolgatott sósavat adunk hozzá.

Leforrasztás után 110 °C-on (± 2 °C) 24 órán át hidrolizáljuk, majd az ampulla tartalmát desztillált vízzel 50–100 cm³-es gömblombikba mossuk át.

Rotációs gyorsbepárlón (N-atmoszférában) 50 °C-os vízfürdőt alkalmazva, szárazra pároljuk.

A sűrűn folyós desztillációs maradékot desztillált vízben oldjuk fel, majd 25 cm³-es mérőlombikba töltjük, szűrjük.

Nagy fehérjetartalmú minták esetén a származékképzés előtt a hidrolizátumot nagymértékben hígítani kell.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az aminosavak károsodása a hidrolízis során:

A fehérje hidrolízise során a triptofán indolcsoportja gyakorlatilag kvantitatíve elbomlik.

A glutamin és az aszparagin savamidcsoportja ammóniára és a kérdéses aminosavra hasad.

A szerin 10–15, a treonin 10–20%-ban bomolhat.

A cisztin és a cisztein, valamint a metionin oxigén jelenlétében cisztein-szulfinsavvá és -szulfonsavvá, továbbá metionin-szulfoxiddá és -szulfonná alakulhat.

Minimális mennyiségű bomlást szenvedhet a tirozin, a glutaminsav, az aszparaginsav, a prolin és az arginin is.

Külön figyelmet érdemel a valin, az izoleucin és a leucin, mert ezen aminosavak kötéseik rendkívül nehezen szakadnak fel a hidrolízis során.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az aminosavak meghatározása gázkromatográfiával

Az aminosav analízis „hagyományos” módja az ioncserés oszlopon (IEC) végzett elválasztás, az oszlop utáni ninhidrines származékképzés és a spektrofotometriás detektálás.

Az IEC hátrányai: az analízis költségei viszonylag nagyok, az érzékenység korlátozott, az analízis hosszú időt vesz igénybe, az IEC készülék nem túl flexibilis, csak néhány analízis-típus végezhető el vele.

Az 1960-as évek végén: kísérletek a gázkromatográfiás (GC) aminosav analízis megvalósításával.

Kapilláris GC-vel kitűnő felbontás érhető el, a megfelelő detektorok kiválasztásával nagy érzékenység biztosítható.

A ninhidrin-származékok 10 ng feletti mennyiségben,

az o-phtálaldehid-származékok HPLC elválasztás után fluorescens detektorral 1 ng felett,

gázkromatográfiás származékok elektron-befogási detektorral már 10-100 pg mennyiségben észlelhetők,

az érzékenység tömegspektrométer (MS) csatolásával, megfelelő üzemmódban még tovább javítható.

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A gázkromatográfiás elválasztásban gyakorlatilag **csak az állófázis-minta kölcsönhatás jelentős.**

A folyadékkromatográfiánál a minta-állófázis-mozgófázis egymásra hatásában mindhárom tényezőnek jelentős szerep jut.

A gázkromatográfiás analízis előnye az egyéb technikákhoz viszonyított **relatív kisebb költsége.**

Az aminosavak gázkromatográfiás analízise csak akkor kivitelezhető, ha az aminosavakból olyan **származékokat képezünk, melyek illékonyak és kevésbé polárosak, mint az eredeti aminosavak.**

Megfelelő származékképzési eljárásokra van szükség az aminosavak gázkromatográfiás analízise előtt.

E munka és időigényes lépések szükségszerűsége gátolja leginkább a gázkromatográfiás aminosav-analízis széleskörű elterjedését.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Azokat a származékképzési technikákat érdemes alkalmazni, melyekkel kiaknázhatók a gázkromatográfiás analízis előnyei, és **az eredmények jó összhangban vannak az IEC analízissel** nyert adatokkal.

A GC lehetőséget teremt az **aminosav enantiomerek illékony származékainak** gázkromatográfiás meghatározására is.

A királis szelekció megvalósítására két lehetőség kínálkozik:

királis állófázisú oszlop alkalmazása, vagy

az aminosav enantiomerekből **királis reagenssel diasztereomer párok** létrehozása.

Ezen utóbbiak **akirális oszlopon** is elválnak egymástól.

Mivel a mozgó fázis nem manipulálható, **királis mozgó fázis használatára nincs lehetőség.**



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Csak olyan **származékképzési módszert** lehet alkalmazni, mellyel egy adott reagens használatával, azonos reakció-körülmények között egyszerre mindegyik aminosav **teljes mértékű átalakítása** megvalósítható, és minden aminosavból **csak egy termék** keletkezik.

Az akirális származékok képzése során az aminosavak poláros csoportjait kevésbé poláros csoportokká kell alakítani, hogy illékonyabbá váljanak és kémiai reakciókra kevésbé legyenek hajlamosak.

Lehetőség:

a karboxil-csoportot rövid szénláncú alkohollal észteresítik, és az amino-csoportot halogénezett savanhidridekkel acilezik.

(A halogén-atomok bevitelével lehetőség nyílik az elektron-befogási detektor (ECD) használatára (nagyfokú érzékenység-növekedés)).

az aktív csoportok egy lépésben, egy reagenssel történő blokkolása trimetilszilil-származékok képzésével.



Származékképzési eljárások

N(O,S)-trifluorecetsav(N-TFA)-n-butil-észter származékok (1965):

Szérum és vizelet szabad aminosav-tartalmát, kukoricadara és szójabab teljes aminosav tartalmát határozták meg **N-TFA n-butil-észter** származékok formájában.

Vizsgálták a tengeri alga, a kémiaileg módosított fehérje, a szívizom, az Apolló programmal a Földre került holdkőzet aminosav összetételét.

N-heptafluorobutiril(N-HFB)-izobutil-észter származékok:

Mintegy ötvenféle, biológiai szempontból fontos aminosav mennyiségét határozták meg a módszerrel.

Vizsgálták a halliszt cisztein-tartalmát ciszteinsav-HFB-izobutil származék formájában, a hővel és lúggal kezelt fehérjékben jelen lévő lizinoalanin mennyiségét, hús és vizelet minták aminosav-összetételét.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

N-acetil-n-propil észter származékok:

Növényi szövetek, szérum és vizelet szabad és teljes aminosav tartalmának analízisére használták.

Az aminosav alkil-észterek jól alkalmazhatók biológiai folyadékok vizsgálatára.

N-TFA n-propil-észter származékok:

Mintegy harminc aminosav analízise valósítható meg vele.

A N-HFB n-propil-észter, N-HFB izoamil-, és a N(O,S)-izobutiloxikarbonil-metilészter (izo BOC) származékok is alkalmasak aminosavak gázkromatográfiás meghatározására. Utóbbi esetben az aminosavak vizes közegben **izobutil kloroformáttal** reagálnak, majd diazometánnal észtereket képeznek belőlük. (**HFB=heptafluorobutiril**).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Trimetilszilil- (TMS) származékok:

BSA (N,O-bis(trimetilszilil)acetamid) –származékoknál a reakció egyik mellékterméke, a mono(trimetilszilil)acetamid (MSA) a glicin és az alanin elválasztását zavarja .

Az **N,O-bis(trimetilszilil)trifluoroacetamid** (BSTFA) és reakcióterméke, a mono(trimetilszilil)trifluoroacetamid (MSTFA) sokkal illékonyabb, mint a BSA és az MSA, és így nem zavarja a trimetilszililezett aminosavak elválasztását .

Használatos reagensek még a **hexametildiszilazan** és a **trifluorecetsav** elegye (HMDS+TFAA), az **N-metil-N-(t-butildimetilszilil)trifluoroacetamid** (MTBSTFA).

A szililezés előnye, hogy csupán egy lépésben megy végbe a származékképzési reakció, szemben a többi származékképzéssel, ahol az észteresítési lépést még egy acilezés is követi, melyek idő- és munkaigényes folyamatok.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Több szililezőszerrel (BSTFA, MTBSTFA, HMDS+TFAA) végzett származékképzést vizsgálva megállapították, hogy az esetek döntő többségében **egy adott aminosavból több származék is keletkezhet**, és a reakciókörülményeket nem lehet úgy optimalni, hogy az összes fehérjealkotó aminosavból csak egy-egy adott származék keletkezzen.

Biológiai minták analízisében a **TFA és HFB származékképzési eljárás bonyolult**, mivel vízmentes közeget, magas hőmérsékletet igényel, és az amidok (aszparagin, glutamin) átalakulásával jár, és némely aminosav alkoholban való kismértékű oldékonysága is problémát okozhat.

Az **egyszerű szililszármazékok**, mint a **trimetilszilil-** és az **N(O)-terc-butildimetilszilil-** (terc-BDMS) képzése egy lépésben zajlik, de **vízmentes közeget, magas hőmérsékletet és hosszú időt igényel**. Egyes aminosavaknál **több származék is keletkezhet**. Bizonyos magas forráspontú molekulák **részlegesen elbomolhatnak a CG analízis magas hőmérsékletén**.

Az **izo-BOC származékok ígéretesnek mondhatók**, mivel szintézisük nem igényel vízmentes közeget, magas hőmérsékletet, és hosszú időt.



Királis származékok képzése az aminosav enantiomerek diasztereomer formában történő elválasztására

A származékképzés során vagy a karboxil-csoporttal reagáltatnak királis amint vagy alkoholt (**N(O,S)-TFA(+)-2-butil észterek** és a **(+)-3-metil-2-butil észterek**), vagy királis savval acilezik az amino-csoportot (**N-TFA-L-prolil klorid**, az **N- α -kloro izovaleril-** és a **N- α -kloro propionil-** reagensekkel végzett származékképzés).

Az **N-TFA-L-prolil klorid** racemizáció szempontjából stabil, és optikailag tiszta formában beszerezhető.

Hidroxi-aminosavak esetében a diasztereomer-képzést TMS-éter képzésnek kell megelőznie.

A tirozin, a lizin, a hisztidin, az arginin és a triptofán esetében az N-TFA-L-prolil klorid származékok molekulatömege nagy, kismértékű illékonyáguk nem teszi lehetővé a gázkromatográfiás meghatározást.

Kedvezőbb a sokkal illékonyabb **N- α -kloro izovaleril**, vagy az **N- α -kloro propionil** származékokat létrehozni → a lizin és az ornitin is mérhetővé válik.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az aminosav **karboxil-csoportjának reakciója révén létrehozott diasztereomerek illékonyága jobb**, mint az amino-csoport acilezésével kialakított molekuláké, mert a bevitt királis csoportok mérete kisebb.

A legillékonyabb származék a **2-butil csoport** kapcsolásával alakítható ki.

Mintegy 12 aminosav választható szét az **N(O,S)-TFA (+)-2-butil észterek formájában** (a lizint is beleértve), és az összes fehérjealkotó aminosav elválasztható, amennyiben **(+)-3-metil-2-butil észter származékokat** képezünk belőlük .

A diasztereomer-pár képzéssel végzett indirekt enantiomer-analízisnél fontos:

A királis reagens **optikai tisztasága** megfelelő legyen,

se a reagensnél, se az aminosavnál **ne következzen be racemizáció** a származékképzés során.

A teljes aminosav mennyiségén belüli 1%-os vagy ennél is kisebb racemizáció kimutatása nehézségekbe ütközik.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az akirális és a királis származékképzés:

Az akirális származékok képzéséhez elégséges csupán egy metilcsoporttal észteresíteni a karboxilcsoportot,

a legegyszerűbb királis csoport bevitele is egy izobutil-csoporttal növeli a molekula méretét → a származékoknak az illékonyága kisebb.

A királis reagens és az egyes aminosav enantiomerek közötti származékképzési reakciók termodinamikai egyensúlyi és reakciósebességi állandói aminosavanként nagyon különböznek.

Tiszta aminosavaknál a reagens nagy feleslege miatt a reakció gyakorlatilag teljesen a diasztereomer-képzés irányába tolódik el, de

komplex biológiai mintákban a reagens mellékreakciókban is felhasználódhat.

Fontos igazolni, hogy a származékképzés teljesen végbement.



A származékok gázkromatográfiás analízise

Az akirális származékok elválasztása

A hatvanas évek vége: kétoszlopos módszer az **N-TFA n-butil észter** származékok elválasztására.

Az álló fázis egyrészt etilén-glikol-adipát (EGA), másrészt 50% fenil-, 50% metil-szilikon (OV-17, Supelco) volt.

A hisztidin és az aszparaginsav származékát nem sikerült egymástól elválasztani, és az eredményeket nem lehetett reprodukálni,

Az arginin, a hisztidin és a cisztin származékok reagáltak az EGA állófázissal és a hordozóval is.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Később 17 aminosavat sikeresen analizáltak **EGA állófázisú kolonnán**:

Az arginin, a hisztidin és a cisztin származékát egy kevert fázisú oszlopon választották el, melyben az álló fázis 50% fenil-, 50% metil-szilikon valamint trifluoropropil-szilikon 2:1 arányú elegye volt (OV-17 és OV-210, Supelco).

Az aminosavak **TMS** származékainak elválasztására számos **fenilmetilsziloxán alapú** állófázist kipróbáltak.

A legjobb eredményt a fenil-metil-dimetil és a fenil-metil-difenil fázisok 2:1 arányú kombinációja adta (OV-7 és OV-22, Supelco).

Belső standardnak amino- és karboxil-csoportot egyaránt tartalmazó vegyületeket használtak.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A királis származékok elválasztása

A diasztereoizomer prolil-dipeptidek elválasztása mind az EGA, mind az SE-30 állófázisokkal megvalósítható.

A legtöbb dipeptidnél **az LL-diasztereoimer eluál először**, a prolil-dipeptideknél fordított a sorrend.

Az N(O,S)-TFA (+)-2-butyl észterek analízisének a Carbowax fázis használata nem teszi lehetővé a treonin-, a szerin- és a ciszteintartalom meghatározását, a fenti három aminosav acetyl-származéka viszont stabil, és elválasztható Carbowax állófázisú oszlopon.

A fehérjében előforduló aminosavak diasztereoimerjei (+)-3-methyl-2-butyl észter származékok formájában maradéktalanul analizálhatók **metil-szilikon állófázisú oszlopokon** (SE-30, Supelco).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Aminosav enantiomerek elválasztása királis oszlopon

Az aminosav enantiomerek elválasztása **királis származékképzés nélkül is lehetséges**, amennyiben rendelkezésre áll a célnak megfelelő **optikailag aktív vegyületet tartalmazó oszlop**.

Az enantiomerek direkt elválasztásánál **nincs szükség királis reagensre** → a nem megfelelő optikai tisztaság, és a származékképzési reakció során bekövetkező esetleges **racemizáció nem okozhat problémát**.

Amennyiben az oszlop optikailag aktív állófázisa számottevő mennyiséget tartalmaz a nem kívánt konfigurációjú enantiomerből is, akkor az aminosav izomerek elválasztása rosszabb lesz annál, mintha **optikailag teljesen tiszta állófázis** lenne jelen a kolonnában.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A királis állófázisok kifejlesztésének a fő céljai:

olyan fázis létrehozása, amely az összes aminosavra megfelelő enantiomer-szelektivitást biztosít, és

használható a gázkromatografálás magas hőmérsékletén is.

Először a **N-TFA-L-izoleucin lauril-észtert** alkalmazták, de csak 90 °C alatti hőmérsékleten → három enantiomer-pár elválasztására volt alkalmas.

Dipeptideket, uretánokat, diaminokat és különböző szerkezetű triazéneket próbáltak ki → a stabilitási problémák a kémiaiilag kötött állófázisok bevezetésével oldódtak meg.

A nagy enantiomer-szelektivitású **L-valin-t-butil-amid** csoportot **karboxi-szilikonhoz** kapcsolták, mely állófázis (Chirasil-Val) 30-250 °C-ig használható, ami lehetővé tette az összes aminosav izomer elúcióját fél óra alatt.



Néhány speciális alkalmazás a gázkromatográfiás aminosav-analízisre

A szabad aminosavak meghatározása sajtból illékony acilezett és észteresített származékok formájában

N-heptafluoro-butiril (N-HFB) izobutil észter származékok formájában, gázkromatográfia határozták meg a sajt aminosav tartalmát.

Ennek során 10 g őrölt sajtot 76 cm³ desztillált vízzel turmixoltak, a fordulatszámától függően 30-60 másodpercig.

Fél órás ülepedés után a felülúszót üvegszálalás szűrőn engedték át, a szűrletből 0,5 cm³-t 4 cm³-es WHEATON-fiolába mértek, belső standardként 0,4 cm³ 2,5 mM norleucin-oldatot adtak hozzá, és a fiolából a vizet liofilezéssel eltávolították.

A szabad aminosavakból **N-heptafluoro-butiril (N-HFB) izobutil** származékokat képeztek. Ennek során a 3M sósavat tartalmazó izobutanol-oldatot vagy HCl gáz elnyeletésével, vagy *in situ* módszerrel acetil-klorid hozzáadásával kell elkészíteni.

Ha az izobutanolhoz 270 µl/cm³ koncentrációban adjuk hozzá az acetil-kloridot, akkor az oldat sósavra nézve 3 mólos lesz.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A minta aliquot részét vastag falú, teflontömítéssel ellátott fedeles fiolába mérték, hozzáadták a belső standardot, majd az oldószert 50 °C-on, tiszta nitrogénáramban (100-200 cm³/perc) bepárolták.

100 µl izobutanol – 3 M HCl oldatot adtak hozzá, majd a fiolát száraz, tiszta nitrogénnel átöblítették, és szorosan lezárták.

A fiolákat 120 °C-os olajfürdőbe merítették úgy, hogy az olaj csak a folyadékszint tetejéig érjen.

Öt-tíz perc elteltével a fiolákat még forró állapotban összerázták egy kémcsőkeverő készülékkel, majd a fiolákat még további 30 percig melegítették. Ezt követően a mintát – maximum 50 °C-on – tiszta, száraz nitrogéngázzal bepárolták.

Ezután 50 µl analitikai minőségű **hexafluoro-vajsav anhidridet** (HFBA) adtak az aminosav-észterekhez, és a fiolát tiszta, száraz nitrogéngázzal öblítették, majd szorosan lezárták, és 10 percig 150 °C-on melegítették az észteresítéshez hasonló módon.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A HFBA feleslegét tiszta, száraz nitrogéngázzal elpárologtatták. A maradékot analitikai minőségű etil-acetátban oldották fel, és az oldat alkalmas a gázkromatográfiás analízisre.

A gázkromatográfiás méréseket egy Shimadzu GC-RIA készülékkel végezték el.

A WCOT oszlop állófázisa SE-30, mérete: 50 m x 0,22 mm volt,
a split injektor 1:10 arányú osztással üzemelt.

A vivőgáz hidrogén volt, 33 cm/s lineáris gázsebességgel.

A hidrogéngáz áramlási sebessége 40 cm³/perc, a levegőé 400 cm³/perc volt.

A detektor (FID) és az injektor hőmérséklete egyaránt 260 °C, az oszloptermosztát hőmérséklet-programja a következő volt: 100 °C-ról 250 °C-ra emelés (6 °C/perc), majd hőntartás 250 °C-on (3 perc).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Szabad D- és L-aminosavak meghatározása tejtermékekből illékony acilezett és észteresített származékok formájában, királis oszlopon

N-pentafluoro-propionil propil észter származékok formájában, királis gázkromatográfiás oszloppal határozták meg a D-enantiomerek arányát (D/L arány).

A teljes (L+D) aminosav tartalom kvantitatív meghatározását IEC-val végezték.

A GC analízist megelőző kezelések előtt minden mintához belső standardként 5 cm³ 250 μM-os α-amino-β-guanidino-propionsav (α-AGPA) oldatot adtak.

Az eljárás leírása: 90 cm³ nyers vagy pasztőrözött tejhez 180 cm³ acetonitrilt adtak, az elegyet szobahőmérsékleten 10 percre kevertették, majd 1630 g-n centrifugálták.

A felülúszót vákuumban kb. 5 cm³-re bepárolták, majd a fehérjék kicsapására 5 cm³ telített pikrinsav-oldatot adtak hozzá.

Ötperces kevertetés után 10 cm³ 0,1 M sósavoldatot adtak hozzá, majd további öt perc kevertetés után centrifugálták.

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A felülúszót választótölcsérbe szűrték, és 20 cm³ 40-60 °C forráspontú petroléter/dietiléter 1:1 arányú elegyével a lipidek eltávolítására háromszor extrahálták.

A vizes fázist 200-400 *mesh* Dowex 50 WX 8 kationcserélővel töltött 5 cm hosszú, 1 cm átmérőjű oszlopon vezették át. Az adszorbeált aminosavakat 30 cm³ 2 M-os vizes ammóniaoldattal mosták le, a folyadékot vákuumban bepárolták, a maradékból pedig származékot képeztek a GC-s analízishez.

Joghurt, kefir, aludttej és friss sajt analíziséhez 15 g mintát szuszpendáltak 45 cm³ 8:2 arányú (v/v%) metanol/víz elegyben, és 15 percig szobahőmérsékleten kevertették.

Az érlelt sajtoknál 1,5-5,0 g mintát 70 cm³ desztillált vízben szuszpendáltak 45 percen keresztül 50 °C-on, majd 30 cm³ metanol hozzáadása után a keverést további 15 percig folytatták.

A centrifugálást követően (1630 g) a felülúszót szűrőpapíron átszűrték, és vákuumban 10 cm³-re párolták be.

A bepárlási maradékhoz 10 cm³ telített pikrinsav-oldatot adtak, majd centrifugálták (1630 g).

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A zsírmentesítést és az aminosav-oldat szilárd fázisú extrakciós dúsítását valamint tisztítását ugyanúgy végezték el, mint a többi tejterméknél.

A gázkromatográfiás származékképzéshez kb. 3 g aminosavat tartalmazó elegyet használtak, melyhez 200 μ l 1-propanol/acetil klorid 8:2 arányú elegyét (v/v%) és antioxidánsként 1,5 mg BHT-t (2,6-di-tert-butil-p-krezol) adtak, és

egy 1 cm³-es, teflontömítéssel záródó reakcióedényben 100 °C-on egy órán át melegítették.

Az oldószert nitrogénáramban bepárolták, és 200 μ l diklórometánt (DCM) és 50 μ l **pentafluoro-propionsav anhidridet** adtak hozzá, és 100 °C-on 20 percig melegítették.

Az oldószert nitrogénáramban elpárologtatták, majd a maradékot 50-100 μ l DCM-nal feloldották és 0,6-1 μ l-t injektáltak a gázkromatográfba.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Az analízist egy Carlo Erba gázkromatográf (Model HRGC 5160), lángionizációs detektálással (FID) végezték.

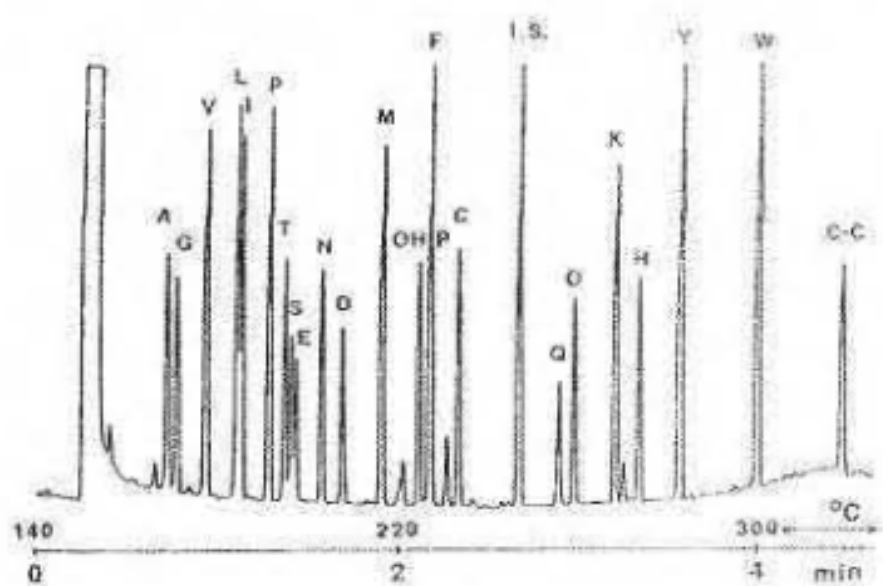
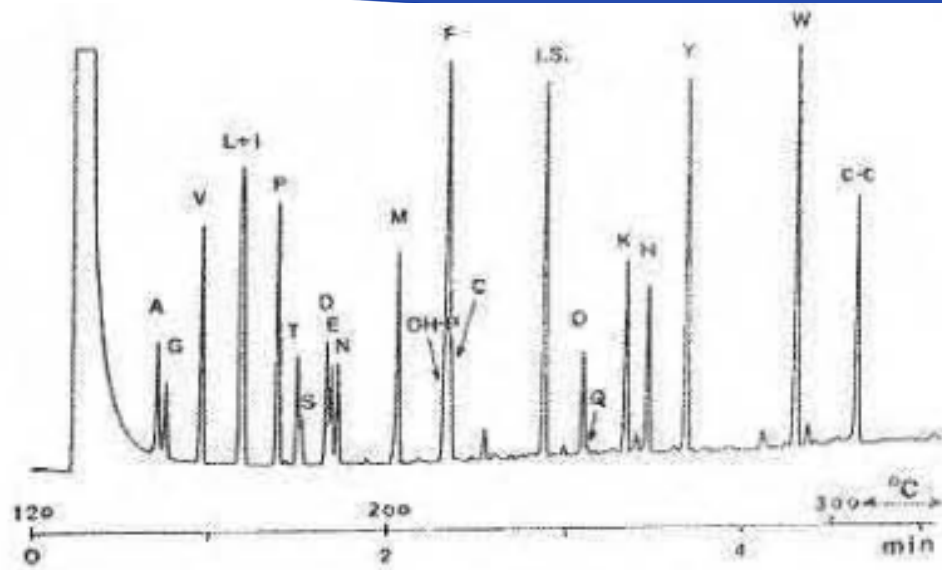
Két Chirasil-L-Val (10) királis oszlopot (25 m x 0,25 mm i. d.) próbáltak ki, az egyik gyártója a Macherey-Nagel (A), a másiké a C.G.C. Analytic (B) volt.

A vivőgáz: hidrogén, az oszlopfajnyomás: 45 kPa, az injektor és a detektor hőmérséklete: 250 °C volt. Az injektált mennyiség: 0,6 – 1,0 µl, a split-arány: 1:30 volt.

A hőmérsékletprogramok: „A” oszlopra: 80 °C (4 perc), emelés: 4,5 °C/min 190 °C-ig, majd hőntartás 10 percig 190 °C-on. „B” oszlopra: 70 °C (5 perc), emelés: 3,5 °C 195 °C-ig, hőntartás 195 °C-on (5 min).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



Aminosav standardok GC-FID analízise

Az aminosavak koncentrációja 10 nmol.

Oszlop: 10 m x 0,25 mm CP-Sil 19 CB, 0,2 μ m filmvastagság.

Mozgófázis: hidrogén, 50 kPa kezdeti nyomás.

Hőmérséklet: 40-340 °C.

A felső kromatogramon az N(O)-metoxikarbonil metil észter ((MC-ME),

az alsó kromatogram az N(O)-etoxi-karbonil-etil észter (EC-EE) származékok analízise látható.

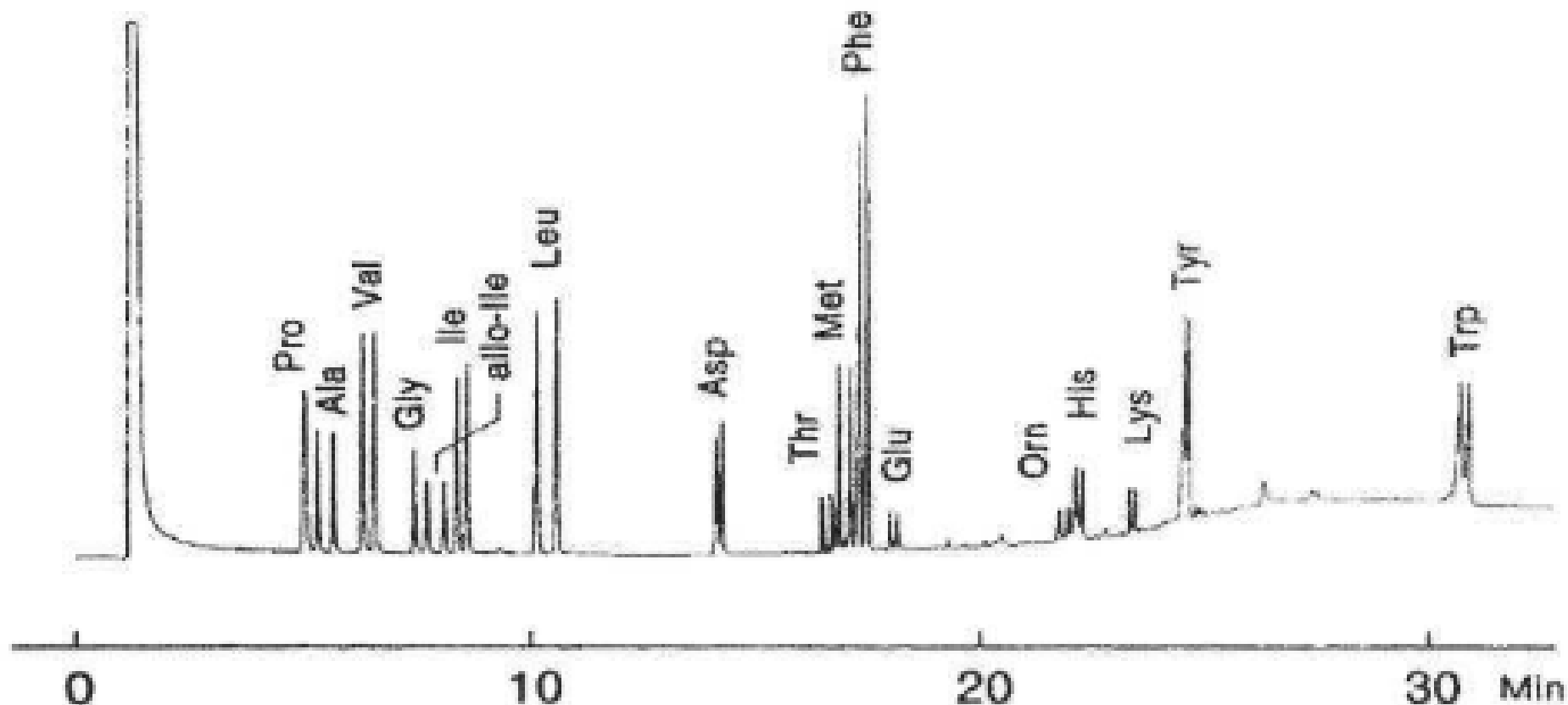
Molnár-Perl, I.: Quantitation of Amino Acids and Amines by Chromatography. J. of Chrom., 70. Elsevier. 2005.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

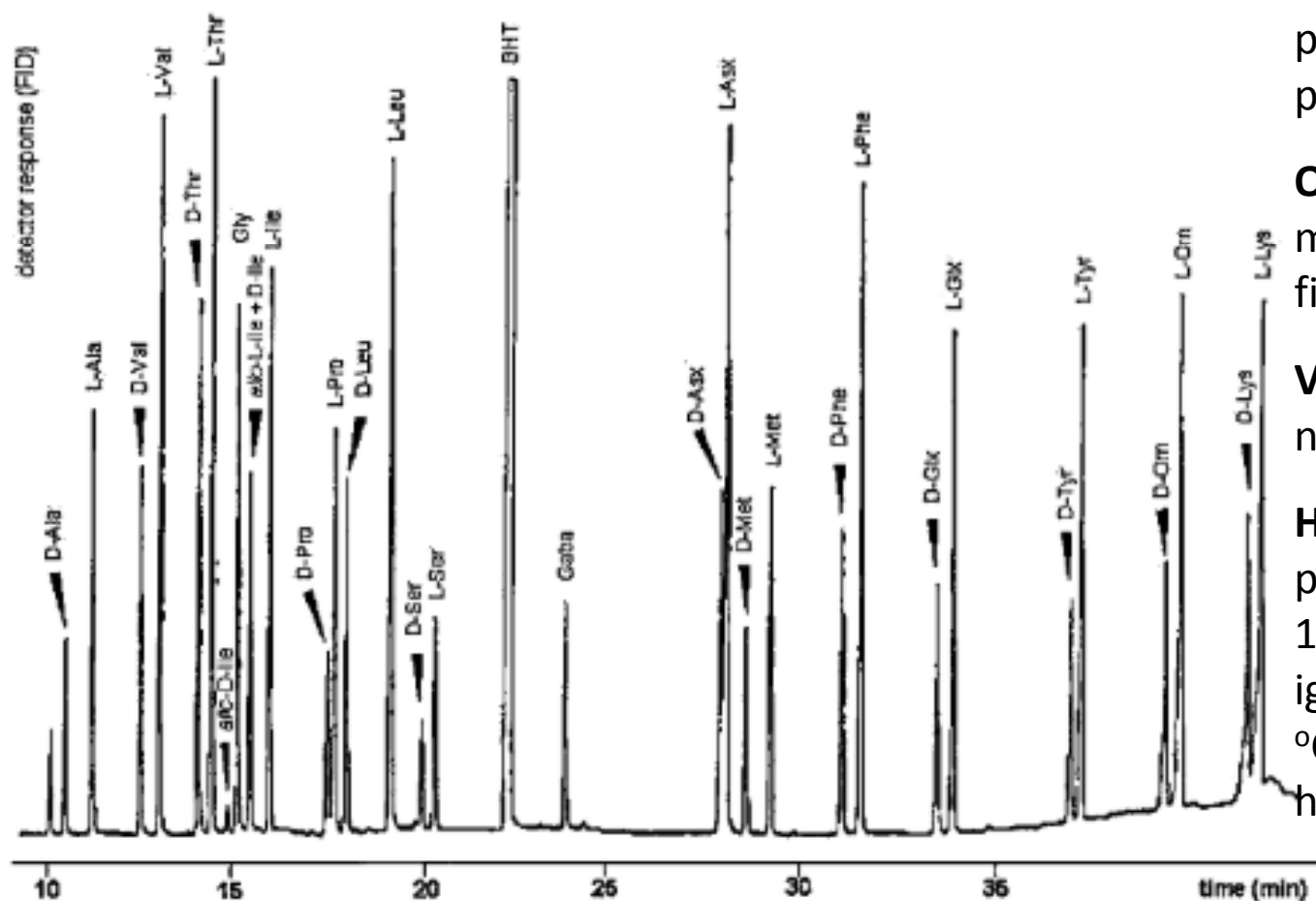
Aminosav enantiomer standardok GC-FID kromatogramja TFECF (2,2,2-trifluoetil kloroformát) származékok formájában.

Oszlop: 20 m x 0,25 mm Chirasil-Val (film: 0,16 μm) üvegekappilláris. Hőmérséklet: 95 °C két percig, majd 3 °C/perc 120 °C-ig, 7 °C/perc 225 °C-ig. Vívógáz hélium, split arány 1:40.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Aminosav enantiomerek GC-FID analízise PFP/1-Prp észterek formájában Chiral-L-Val (Chrompack) oszlopon.



PFP/1-Prp:

pentafluoropropanol -1-
propilészter.

Oszlop: WCOT kapilláris, 25
m x 0,25 mm, 0,12 μ m
filmréteg vastagság.

Vívőgáz: hidrogén, bemenő
nyomás 45 kPa.

Hőmérséklet: 80 °C 5
percig, majd 3,5 °C/perc
120 °C-ig, 4 °C/perc 152 °C-
ig, 3 perc hőtartás, 5
°C/perc 195 °C-ig, 20 perc
hőntartás.

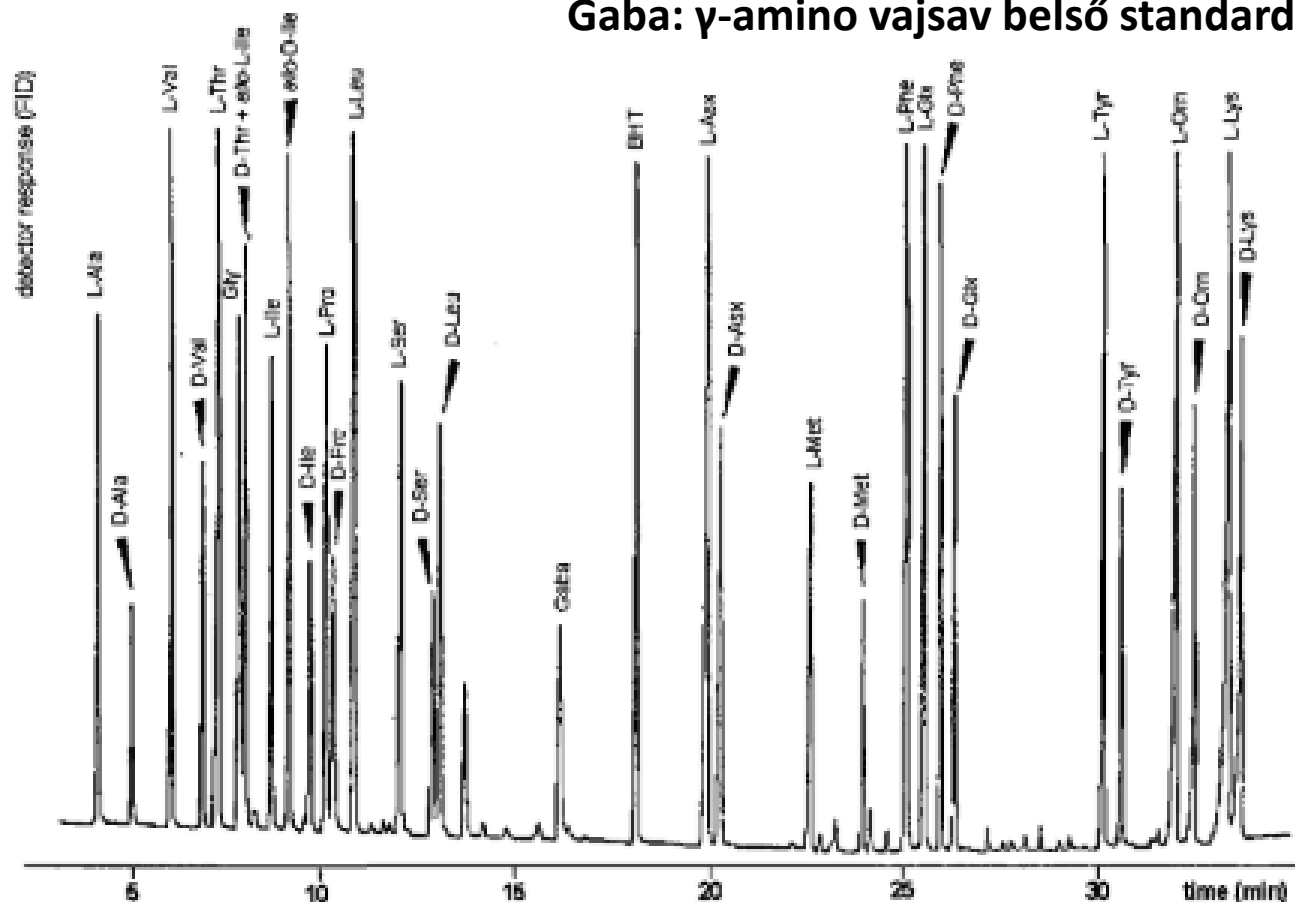
I.I.C-12/1/KONV-2012-0014
és gasztronómia vonatkozású
működés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Aminosav enantiomerek GC-FID analízise PFP/2-Prp észterek formájában Chiral-L-Val (Chrompack) oszlopon

Az aminosavak elúciós sorrendje ellentétes az előző kromatogramméval.

Gaba: γ -amino vajsav belső standard.



PFP/2-Prp:

pentafluoropropanol -2-propilészter.

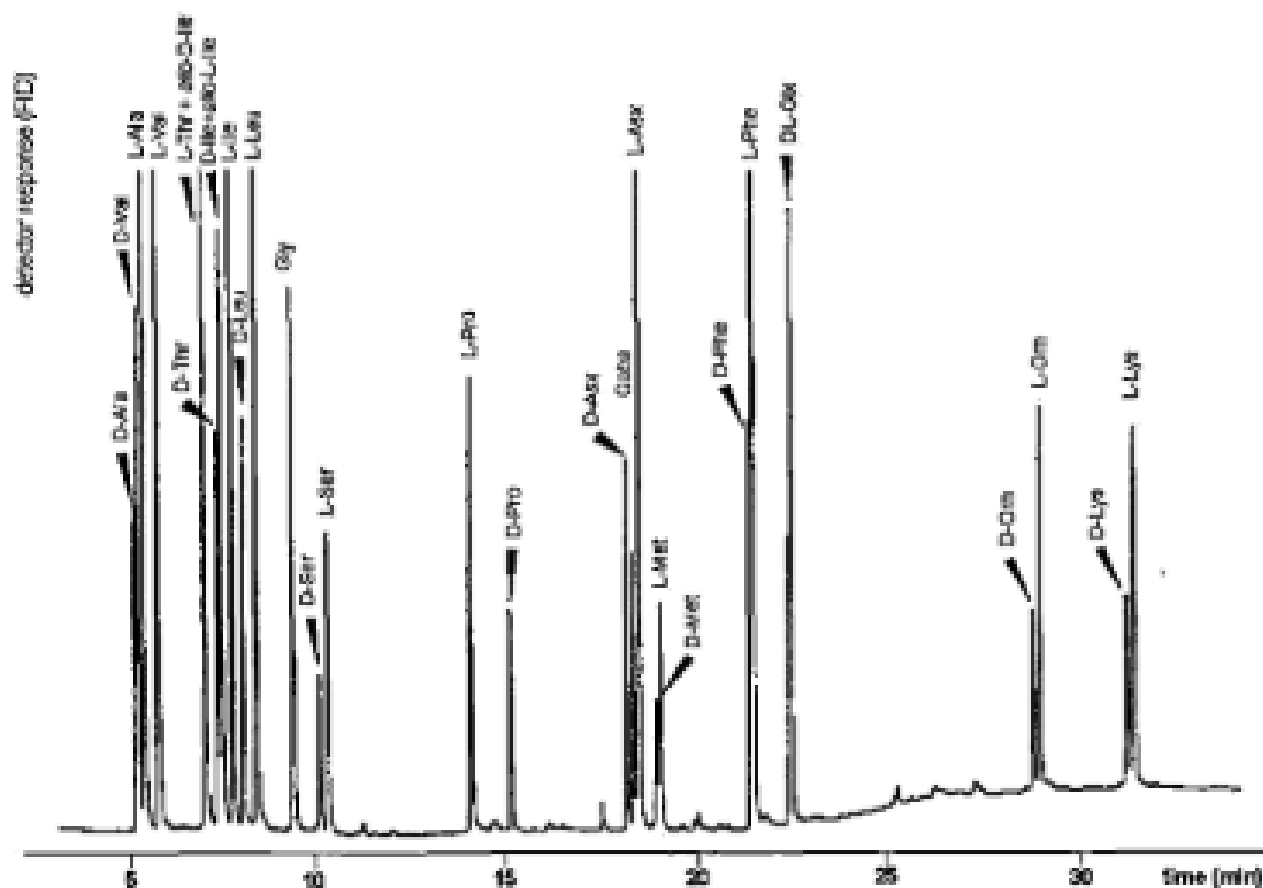
Oszlop: WCOT kapilláris, 25 m x 0,25 mm, 0,12 μ m filmréteg vastagság.

Vívőgáz: hidrogén, bemenő nyomás 60 kPa.

Hőmérséklet: 70-100 °C között 2,4 °C/perc, 2 perc hőntartás, 3°C/perc 125 °C-ig, majd 6 °C/perc 195 °C-ig, 15 perc hőntartás.

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A standard D- és L-aminosavak keverékeinek szétválasztása TFA/1 Prp észter formában Lipodex E (Macherey Nagel) állófázison.



TFA/1-Prp: trifluorecetsav-1-propilészter.

Oszlop: Lipodex E.

Vívőgáz: hidrogén, bemenő nyomás 60 kPa.

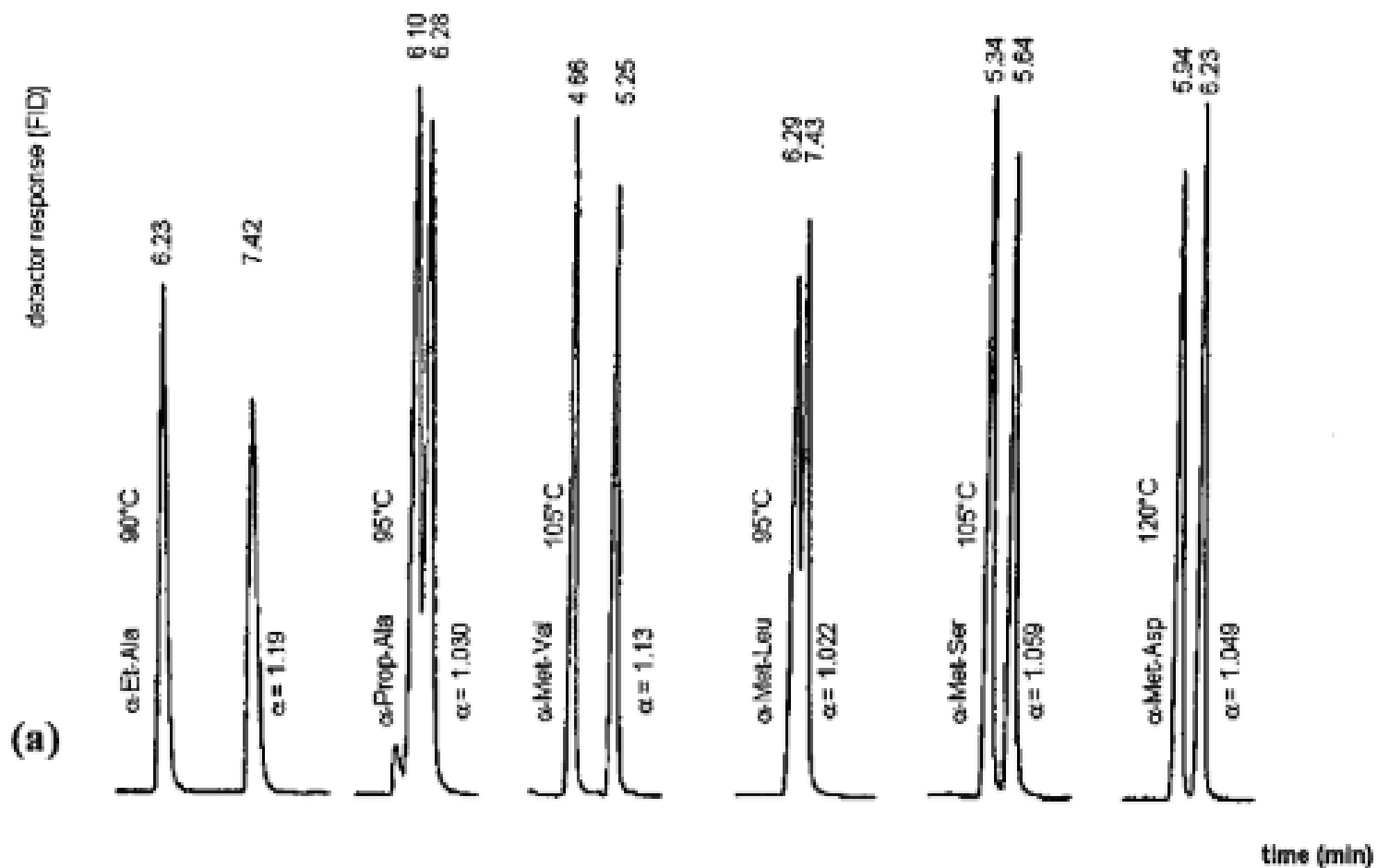
Hőmérséklet: 90-160 °C-ig 4 °C/perc, aztán 7 °C/perc 200°C-ig, 10 perc hőntartás.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
szerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
temi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Nem fehérjeépítő aminosavak enantiomereinek szétválasztása

C^α- dialkil α-aminosavak szétválasztása Lipodex E állófázison, GC-FID módszerrel, TFA/O-metilészter származékként, izotermálisan , hélium vívógázzal

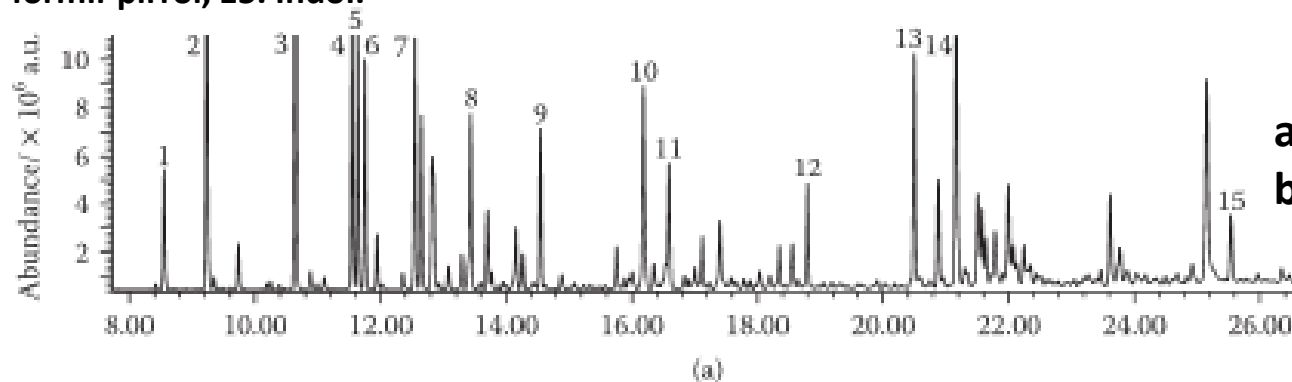


L/KONV-2012-0014
sztronómia vonatkozású
és, DE-SZTE-EKF-NYME

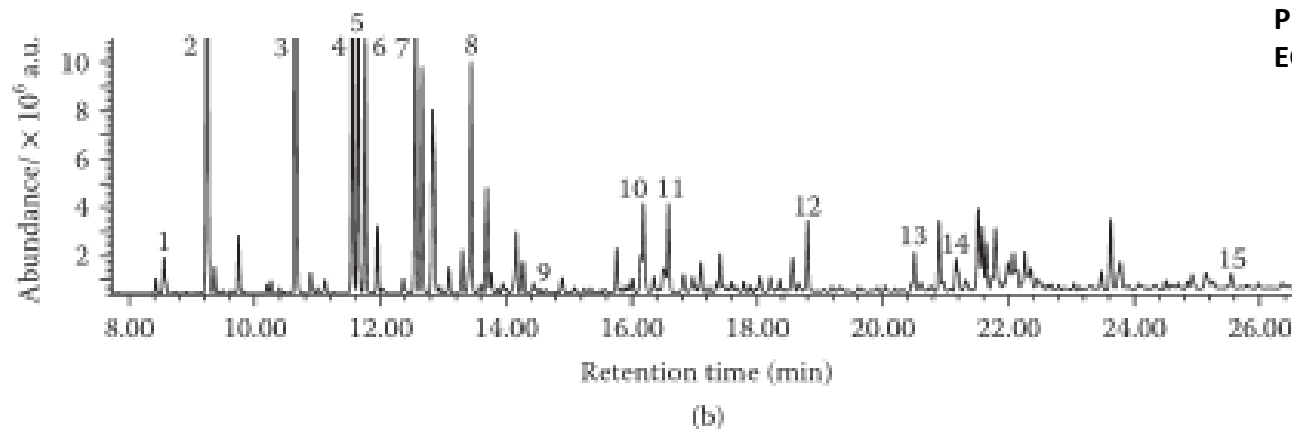
ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

GC-NDP alkalmazása a kávé íz és aromaanyagainak meghatározására eltérő előkészítés után

1. Metil-pirrol, 2. Piridin, 3. Metil-pirazin, 4. 2,5-dimetil-pirazin, 6. Etil-pirazin, 7. 2-etil-6-metil-pirazin, 8. 2-etil-3,5-dimetil-pirazin, 9. 1H-pirrol, 10. 1-metil-2-formil-pirrol, 11. 1-metil-2-acetil-pirrol, 12. Furfurol-pirrol, 13. Acetil-pirrol, 14. 2-formil-pirrol, 15. Indol.



a. PDMS-EG Szilikon,
b. PDMS-PDMS kombináció)



NPD (nitrogén-foszfor-detektor),
PDMS (poli-dimetil-sziloxán,
EG (etilén-glikol)

Mondello:
Comprehensive
Chromatography in
Combination with
Mass Spektrometry.
John Wiley and Sons
Ltd. 2007.

10P-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
biztonság és gasztronómia vonatkozású
együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

Gázkromatográfia az élelmiszer-ipari üzemek környezetvédelmében

Az élelmiszeripari üzemek az egyik legnagyobb környezetszennyezők.

A környezet állapota, szennyezettsége hatással lehet az élelmiszerek biztonságára, minőségére.

A környezet állapotának a felmérésében az analitika a környezetvédelem fontos tényezője.

1980-as évek közepétől a környezetvédelmi analízis igényeinek kielégítése határozza meg a kromatográfia továbbfejlődését.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Mérni kell:

A légszennyezők szerves alkotóit, a víz illó alkotóit, a porokat (szálló és ülepedő), a szermaradványokat (mezőgazdasági termékekben, élelmiszeripari-, növényi-, állati termékekben), a talajok szermaradványait, a hulladékok illó alkotóit, mely rendkívül összetett gázkromatográfiás analitikai feladat.

Az információszerzés célja:

A szennyező források felderítése.

A szennyezés mértékének a megismerése, ellenőrzése (az emisszió mérése).

A szennyező anyagok, a szennyezés terjedésének a nyomon követése (a transzmisszió mérése).

A környezet állapotának a feltérképezése, állapotának folyamatos ellenőrzése.

A munkahelyi szennyezések, egészségkárosító hatások felmérése.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A szennyezések kibocsájtása:

Helyhez kötött pontforrások, épületforrások, felületi források.

(Több ponton van szükség az elemzésre).

Diffúz emisszió források.

Határértékekkel szabályozzák:

A szennyező alkotók kibocsájtását a környezetben és a munkahelyeken.

Levegő-, víz- vagy talajszennyezést.

Állati termékeket, növényi eredetű élelmiszereket, takarmányokat.

A levegő legfőbb szennyezői:

Autóközlekedés (50–60%), energiaipar (20–25%),

többi ipari tevékenység (8–10%), háztartási fűtés (5–10%), hulladékégetés (5–10%).



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Példák a gázkromatográfia konkrét alkalmazására

Üzemcsarnok kürtőjén át távozó, oldószerként használt, főként alkil-halogenidekből álló kibocsájtás mérése.

Fenol meghatározása élővízben, szennyvízben:

A környezeti levegő szerves szennyezettségi állapotának a mérése:

Szennyezések összkoncentrációjának (THC: total hydrocarbon) mérése.

A szennyezők anyagi minőségének megismerése.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A szennyeződés eredete:

Az aromás szénhidrogének egy része illó alkotóként a vegyigyárak és a robbanómotorok emissziója révén kerül a levegőbe.

A kondenzált gyűrűs aromás szénhidrogének (PAH: polycyclic aromatic hydrocarbons), a klór-dibenzol-furánok, a klór-p-dibenzo-dioxinok a nagyhőmérsékletű technológiák szilárd égéstermékeivel kerülnek a levegőbe.

A szilárd anyagok egy része kiülepszik a levegőből, bekerül a talajba, a növényekre, állatokra.

Vegyi gyár körüli levegő szennyezettségének mérése:

Városi levegőminta analízise:

Aromás szennyezések – gépjármű-közlekedés.

Alifás szénhidrogének – üzemanyag eredet.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Főbb alkotók:

1. diklór-metán
2. 2-klór-1,3-butadién
3. 1,2-diklór-etán
4. n-heptán
5. 1,2-diklór-propán
6. n-oktán és transz-1,3-diklór-propén
7. 1,1,2-triklór-etán
8. klór-benzol
9. etil-benzol és m-xilol
10. p-xilol
11. o-xilol és a sztirol
12. 4-izopropil-toluol
13. n-propil-benzol
14. n-dekán
15. 1,3,5-trimetil-benzol (mezitilén)
16. pentaklór-etán és 1,2,4-trimetil-benzol
17. sec-butil-benzol
18. 1,3-diklór-benzol
19. 1,4-diklórbenzol
20. n-butil-benzol
21. 1,3,5-triklór-benzol
22. naftalin

Folyóvíz minta VOC (volatile organic carbon) szennyezésének meghatározása

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Ivóvíz klórozott peszticid szennyezésének mérése:

1. α -BHC
2. β -BHC
3. γ -BHC
4. δ -BHC
5. heptaklór
6. aldrin
7. heptaklór-epoxid
8. γ -klordan
9. endosulfan I.
10. α -klordan
11. 4,4'-DDE
12. dieldrin
13. eldrin
14. endosulfan II.
15. 4,4'-DDD
16. endrin aldehid
17. endosulfán szulfát
18. 4,4'-DDT
19. endrin keton
20. metoxiklór

Rövidítések:

BHC=hexaklórbenzol , hexaklórciklohexán.

DDE= diklór-difenil-cikloetilén

DDT=diklór-difenil-triklóretán.

DDD=diklór-difenil-diklóretán.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A PAH-ok (polihidroxi aromás szénhidrogének) elemzése városi pormintákból:

A nagyhőmérsékletű technológia, belső égésű motorok szilárd emissziótermékeinek fő gyűjtőhelye a talaj, a városi por.

A talaj üzemanyagok okozta szennyezőinek a vizsgálata:

Meghibásodott tartályok, transzformátorok, szándékos szennyezés.

Munkahelyi légtér szerves szennyezőinek az analízise:

Tetraklór-etilén komoly egészségkárosító hatású.



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

A következő kromatogramokon 32 db. klórozott peszticid szétválasztása látható kapilláris GC-vel.

Az első kromatogramnál:

Oszlop: DB-1701, 30 m x 0,32 mm belső átmérő.

Mozgó fázis hélium, áramlási sebesség 35 cm/s, 50 °C-on mérve.

Termosztát: 50 °C egy percig, majd 50-150 °C között 25 °C/perc, 150-275 °C között 5 °C/perc.

Injektor: spitless, 250 °C.

Detektor: ECD 325 °C-on.

A második kromatogramnál:

Oszlop: DB-5, 30 m x 0,53 mm belső átmérő.

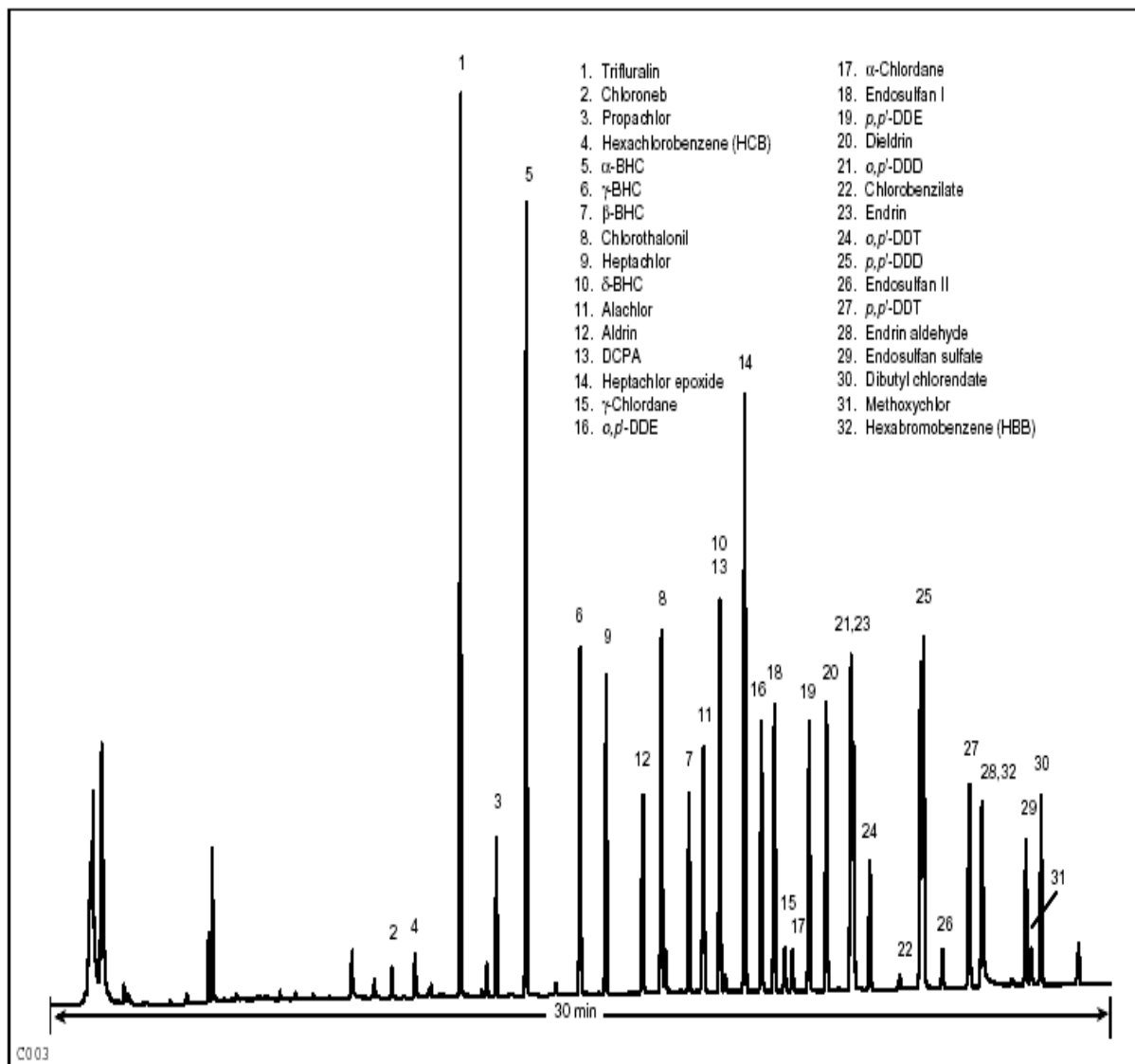
Mozgó fázis hélium, áramlási sebesség 35 cm/s, 140 °C-on mérve.

Termosztát: 140 °C két percig, majd 140-240 °C között 10 °C/perc, 240 °C-on öt perc, 240-265 °C között 5 °C/perc, 265 °C-on 10 perc.

Injektor: Megabore Direct, 250 °C.

Detektor: ECD 325 °C-on.

ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



Klórozott peszticidok szétválasztása és meghatározása kapilláris GC-vel I.

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
elmszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

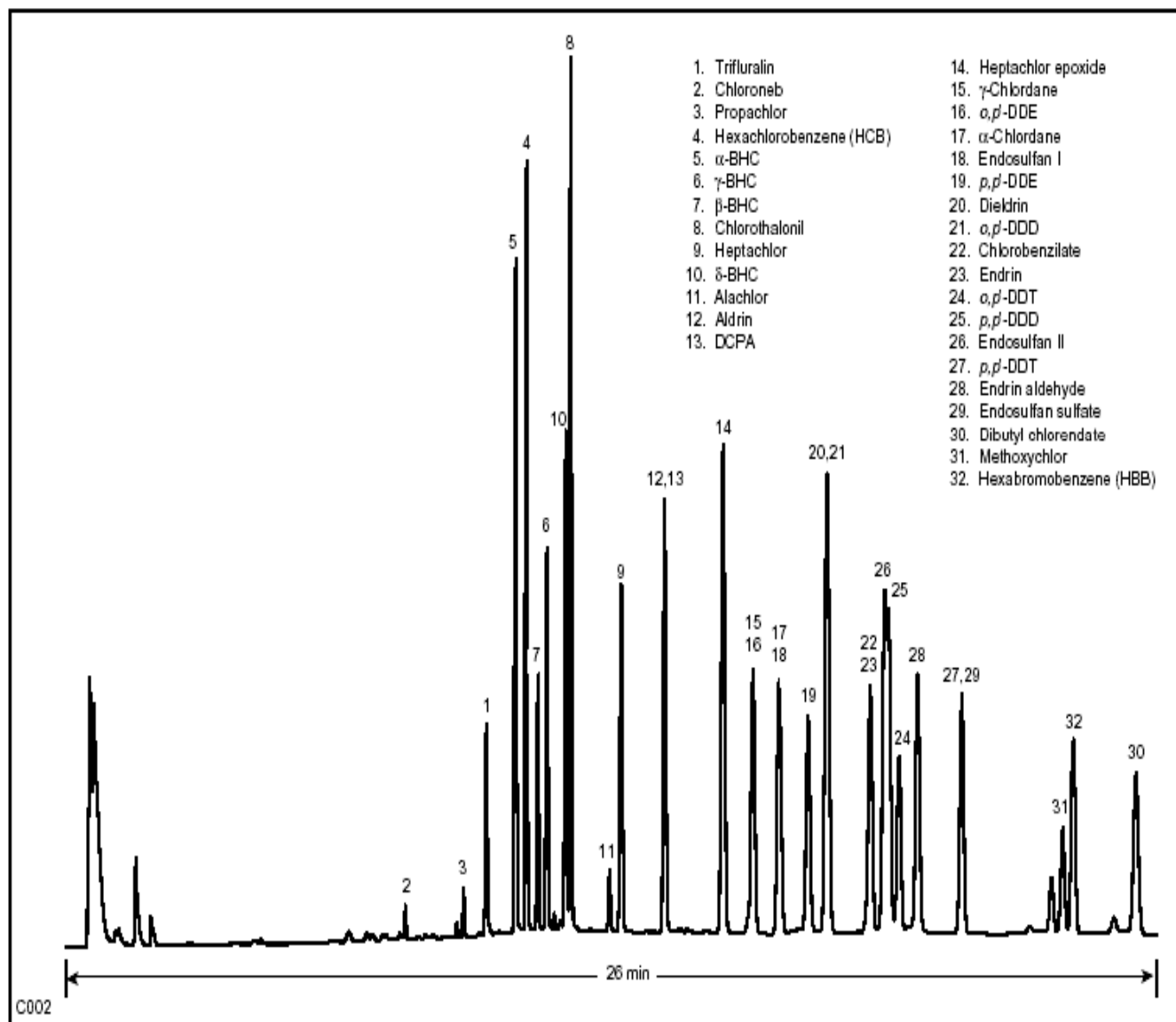
ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

1. Trifluralin
2. Chloroneb
3. Propachlor
4. Hexachlorbenzene (HCB)
5. α -BHC
6. γ -BHC
7. β -BHC
8. Chlorothalonoil
9. Heptachlor
10. δ -BHC
11. Alachlor
12. Aldrin
13. DCPA
14. Heptachlor epoxid
15. γ -Chlordane
16. o,p' -DDE
17. α -Chlordane
18. Endosulfan I.
19. p,p' -DDE
20. Dieldrin
21. o,p' -DDD
22. Chlorobenzilate
23. Endrin
24. o,p' -DDT
25. p,p' -DDD
26. Endosulfan II.
27. p,p' -DDT
28. Endrin aldehyde
29. Endosulfan sulfate
30. Dibutyl chlorendate
31. Methoxychlor
32. Hexabromobenzene (HBB)

**A számoknak megfelelő
vegyület neve az előző
és a következő
kromatogrammon**



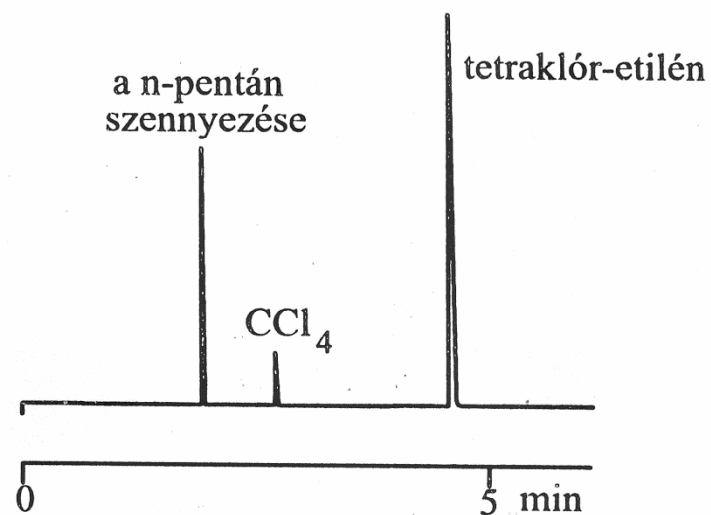
ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA



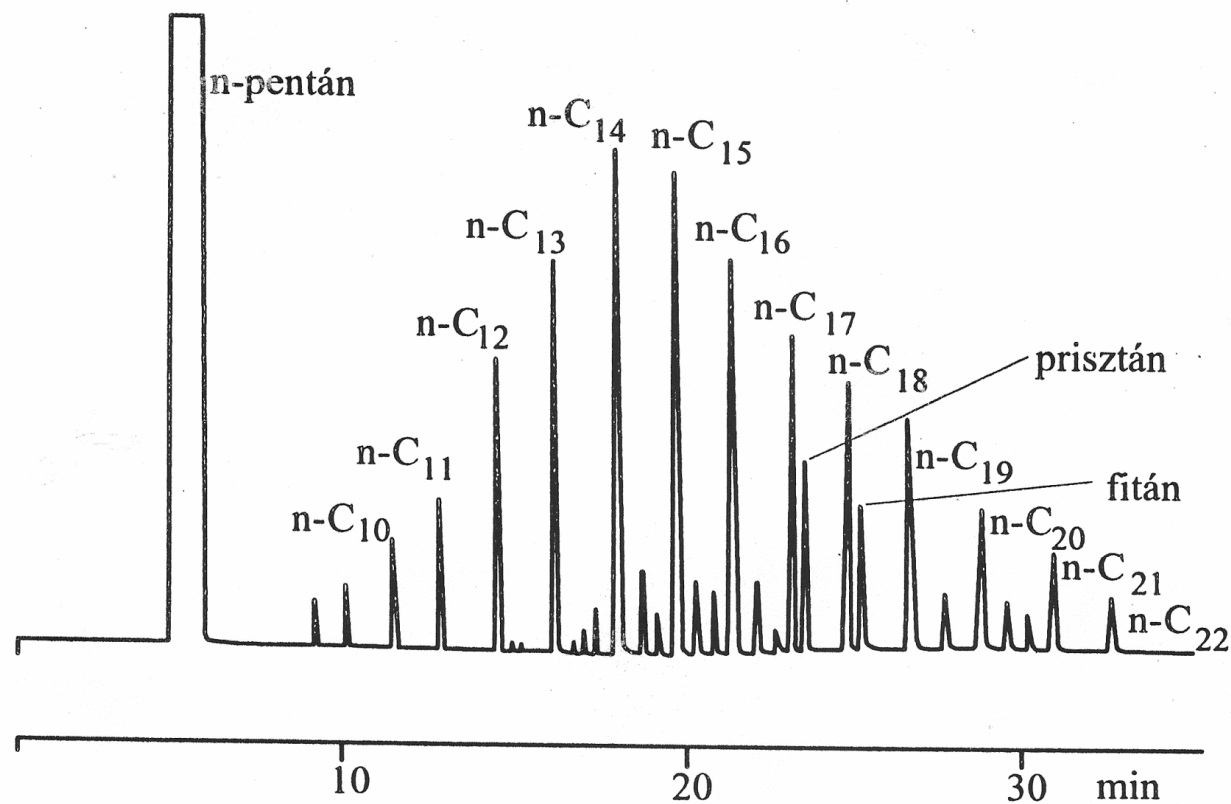
Klórozott peszticidok szétválasztása és meghatározása kapilláris GC-vel II.

P-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
ztonság és gasztronómia vonatkozású
együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

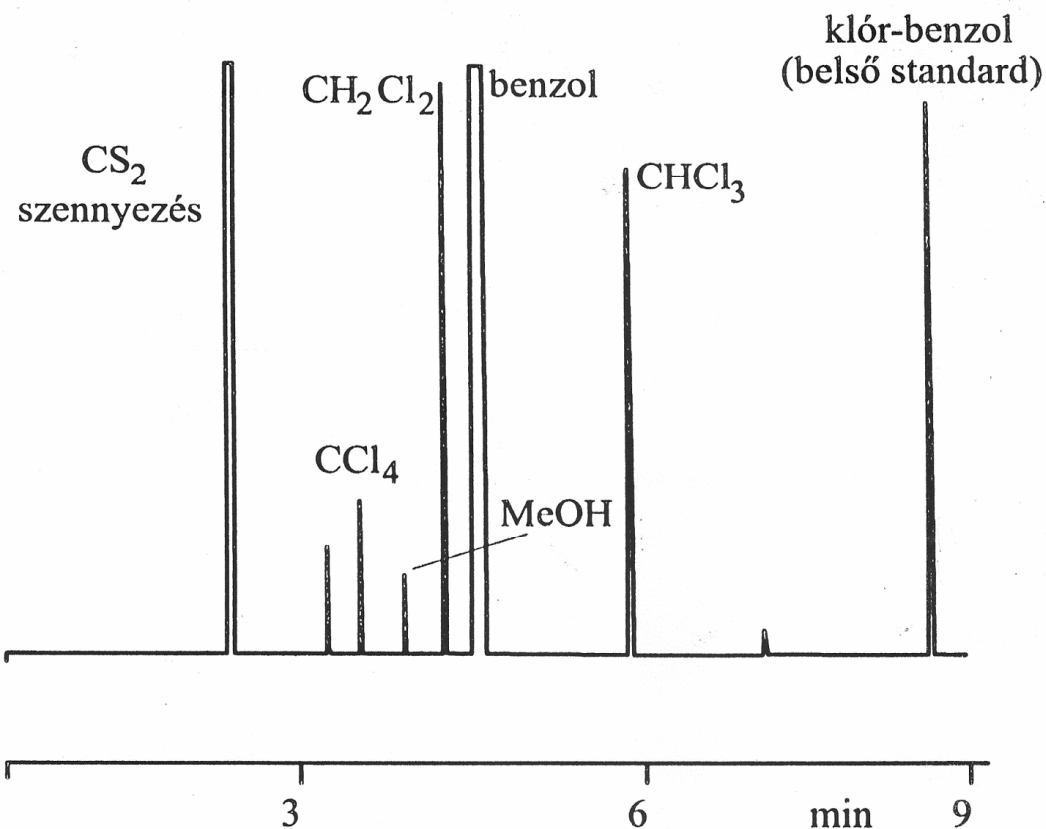
Tetraklór-etilén meghatározása üzemi levegőből



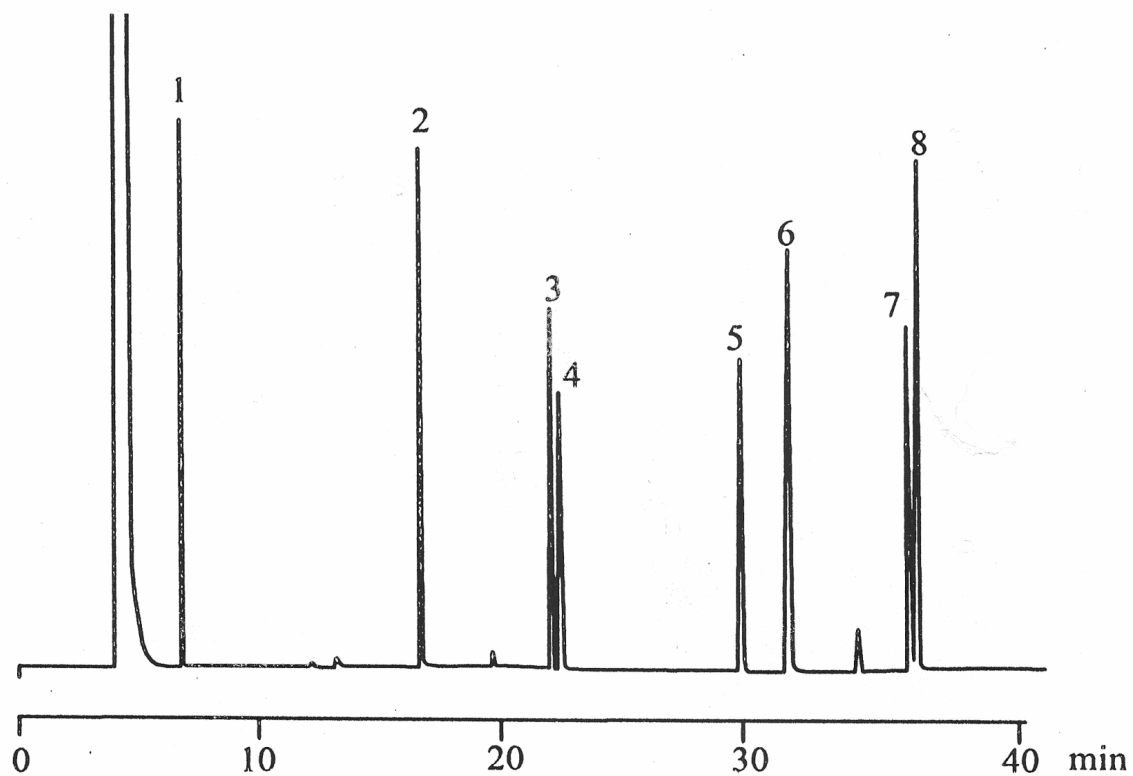
Gázolajjal szennyezett minta extraktumának kromatogramja



Gyári kürtőből vett adszorpciós minta kromatogramja



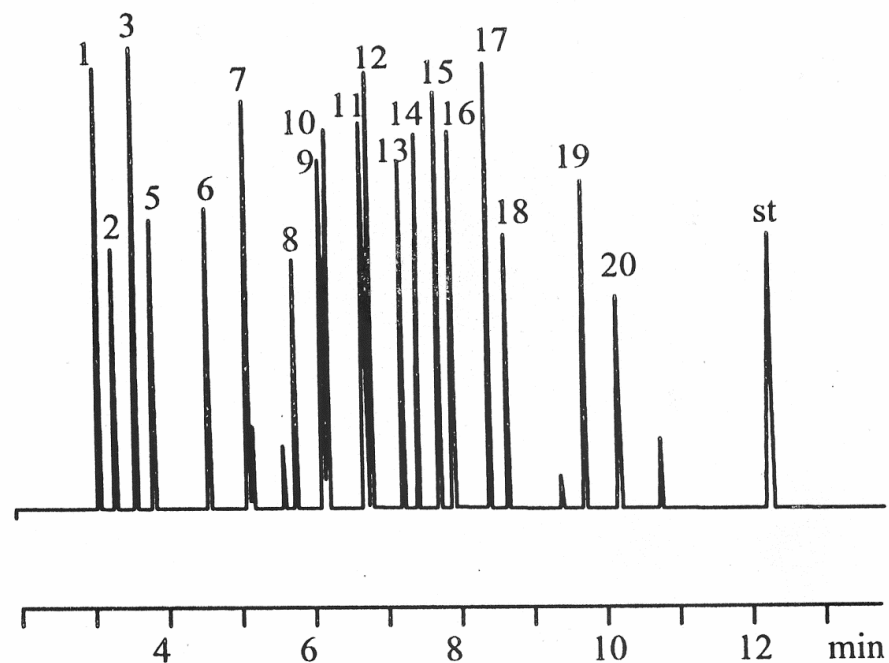
PAH-ok elemzése városi pormintából



1. naftalin, 2. fluorén, 3. fenantrén, 4. antracén,
5. fluorantén, 6. pirén, 7. benz-(a)-antracén, 8. krizén



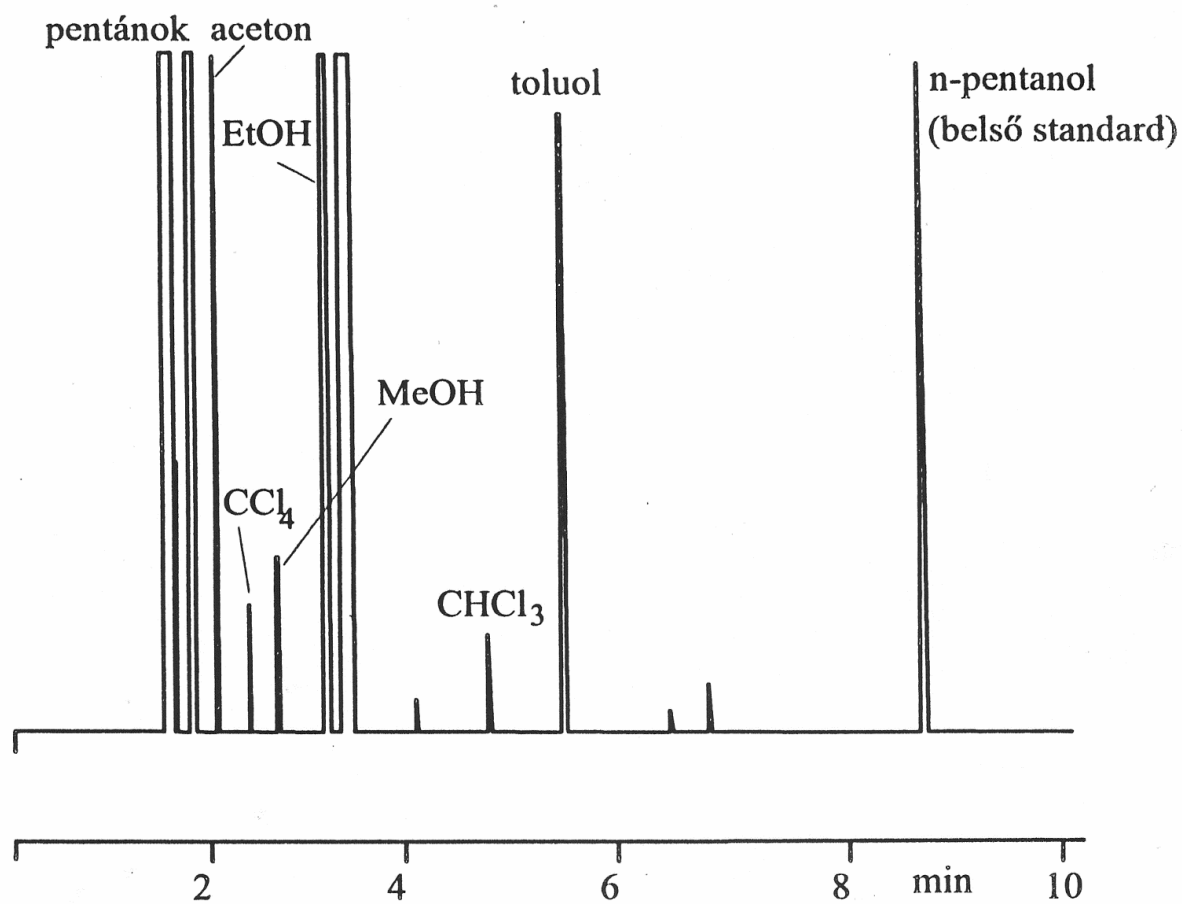
Ivóvíz klórozott peszticid szennyezéseinek kromatogramja



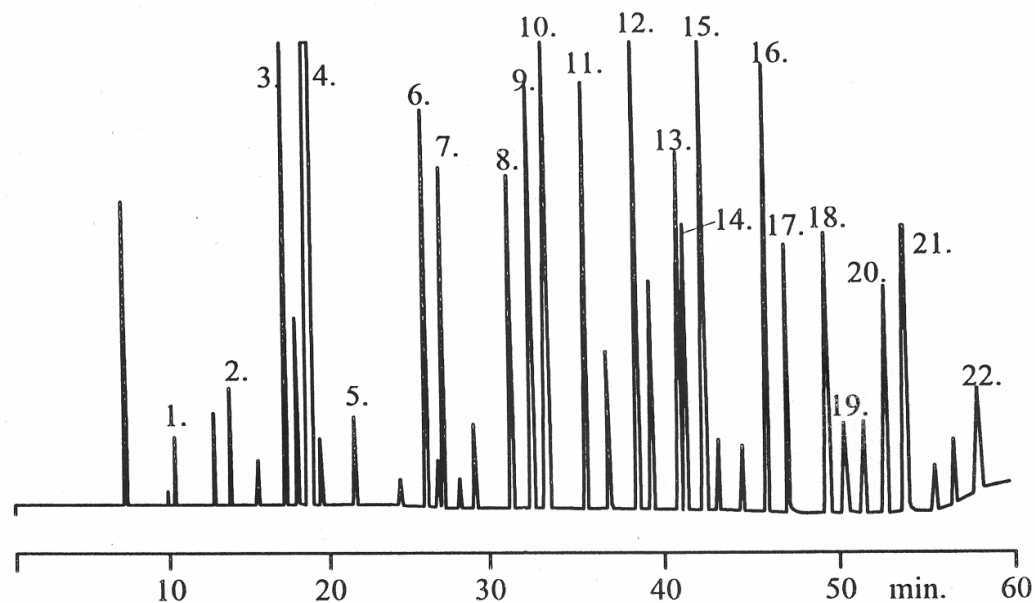
1. α -BHC, 2. β -BHC, 3. γ -BHC, 4. δ -BHC, 5. heptaklór, 6. aldrin, 7. heptaklór-epoxid, 8. γ -klordan, 9. endoszulfan I., 10. α -klordan, 11. 4,4'-DDE, 12. dieldrin, 13. eldrin, 14. endoszulfan II., 15. 4,4'-DDD, 16. endrin aldehid, 17. endoszulfán szulfát, 18. 4,4'-DDT, 19. endrin keton, 20. metoxiklór



Imissziómérés kromatogramja vegyi gyár közelében



Folyóvíz illó alkotóinak a kromatogramja



1. diklór-metán, 2. 2-klór-1,3-butadién, 3. 1,2-diklór-etán, 4. n-heptán, 5. 1,2-diklór-propán, 6. n-oktán és transz-1,3-diklórpropén, 7. 1,1,2-triklór-etán, 8. klórbenzol, 9. etil-benzol és m-xilol, 10. p-xilol, 11. o-xilol és a sztirol, 12. 4-izopropil-toluol, 13. n-propil-benzol, 13. n-dekán, 14. 1,3,5-trimetil-benzol (mezitilén), 14. pentaklór-etán és 1,2,4-trimetil-benzol, 15. sec-butyl-benzol, 16. 1,3-diklór-benzol, 17. 1,4-diklórbenzol, 18. n-butyl-benzol, 19. 1,3,5-triklór-benzol, 20. naftalin



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Rövidítések

AC, affinitás folyadékkromatográfia (affinity chromatography)

APCI, atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció (Atmospheric Pressure Chemical Ionization)

API, légköri nyomáson működő, atmoszférikus ionizáció (Atmospheric Pressure Ionization)

APPI, atmoszférikus nyomású fotoionizáció (Atmospheric Pressure Photoionization)

CC, királis folyadékkromatográfia (Chiral Chromatography)

CD, vezetőképesség detektor (Conductivity Detector)

CI, kémiai ionizáció (Chemical Ionization)

ECD, elektrokémiai detektor (Electro-Chemical Detector)

EI, elektronütköztetési ionizáció (Electron Impact)

ELSD, elpárologtatással egybekötött fényszórásos detektor (Evaporative Light Scattering Detector)

ESI, elektropray ionizáció (Electrospray Ionization)

FLD, fluoreszcenciás detektor (Fluorescent Detector)



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

GC-MS, gázkromatográf tömegspektrométerrel (GC Mass Spectrometry)

GLC, gáz-folyadék kromatográfia (Gas-Liquid Chromatography)

GSC, gáz-szilárd kromatográfia (Gas-Solid Chromatography)

HPLC-MS, HPLC tömegspektrométerrel (HPLC Mass Spectrometry)

IEC, ioncserés folyadékkromatográfia (Ion-Exchange Chromatography)

IT, ioncsapda tömeganalizátor (Ion Trap)

LLC, folyadék-folyadék kromatográfia (Liquid-Liquid Chromatography)

LLOQ, mérési alsóhatár (Lower Limit Of Quantitation)

LOD, kimutatási határ (Limit Of Detection)

LSC, folyadék-szilárd kromatográfia (Liquid-Solid Chromatography)

MALDI, mátrix segített lézer deszorpció és ionizáció (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization)

MSD, tömegspektrometriás detector (Mass Spectrometry Detector)

NP-HPLC, normál fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (Normal-Phase High Performance Liquid Chromatography)

NSD, nitrogén-kén detektor (Nitrogen-Sulphur Detector)



ÉLELMISZEREK ÖSSZETÉTELÉNEK GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

Q, kvadrupol tömeganalizátor (Quadrupol Mass Analyser)

RD, radiokémiai detektor (Radiochemical Detector)

RID, törésmutató detektor (Refractive Index Detector)

RP-HPLC, fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (Reverse-Phase HPLC)

RP-IP-HPLC, fordított fázisú ionpár kromatográfia (Reverse-Phase Ionpair HPLC)

SEC, méretkizárásos folyadékkromatográfia (Size Exclusion Chromatography)

SIM, egy kiválasztott iont detektáló üzemmód (Single Ion Monitoring)

TOF, repülési idő analizátor (Time Of Flying)

ULOQ, mérési felsőhatár (Upper Limit Of Quantitation)

UV-VIS, ultraibolya-látható abszorbancia detektor (Ultraviolet-Visible Absorbance Detector)





DEBRECENI EGYETEM

KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!

TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0014
Élelmiszerbiztonság és gasztronómia vonatkozású
egyetemi együttműködés, DE-SZTE-EKF-NYME

SZÉCHENYI 2020



MAGYARORSZÁG
KORMÁNYA

Európai Unió
Európai Szociális
Alap



BEFEKTETÉS A JÖVŐBE