

BADANIA NAD SKŁADNIKAMI ZAPACHOWYMI SERA CHEDDAR

M. B. WOJTOWICZ

Dairy Technology Research Institute, Ottawa. Kierownik dr W. McGugana

W ostatnich latach metodyka wyodrębniania składników zapachowych z sera została znacznie udoskonalona i ulepszona. Polega ona na oddestylowaniu lotnych składników zapachowych z frakcji tłuszczowej odwirowanej z sera. Destylacja odbywa się pod niskim ciśnieniem, produkt zaś jej chwytywany jest do odbieralnika chłodzonego ciekłym azotem (1). Aromat destylatu jest tak dalece zbliżony do aromatu sera, że otrzymaną mieszaninę można uważać za reprezentującą w pełni składniki zapachu naturalnego produktu.

Technika chromatografii gazowej pozwala na rozdzielenie mieszaniny na prostsze frakcje i składniki i umożliwia ich identyfikację drogą porównania uzyskanych wykresów z chromatogramami związków wzorcowych, bądź metodami chemicznymi, spektrofotometrii w podczernieniu itp.

W dotychczasowych badaniach uzyskiwano większą lub mniejszą liczbę pojedynczych związków, zależną od typu zastosowanej kolumny i detektora. Rozdział na kolumnie kapilarnej (typu Golay'a), połączonej z detektorem płomieniowo-wodorowym, doprowadził do wykrycia obecności licznych (około 35) składników w dojrzałym serze Cheddar. Analizując destylat na dwóch różnych kolumnach zidentyfikowano w oparciu o czas retencji (RT) jedynie 11 składników (oraz 8 w sposób niepewny). Składniki te dominowały ilościowo, zajmując około 90% powierzchni chromatogramów i wszystkie posiadały stosunkowo niski punkt wrzenia. Zapach mieszaniny sporządzonej z tych rozpoznanych składników nie był jednakże dostatecznie charakterystyczny dla sera Cheddar. Wydaje się, że składniki obecne w destylacie w ilościach bardzo niewielkich i posiadające wyższy punkt wrzenia oraz wyższe wartości RT w kolumnie chromatograficznej muszą grać rolę ważną, a może decydującą w aromacie.

W celu rozpoznania tych właśnie wyżej wrzących składników dokonano próby opracowania warunków chromatografii gazowej destylatu, które umożliwiłyby wydzielenie ich i pozyskanie do dalszych analiz identyfikacyjnych.

A. Przygotowanie próbki do chromatografii

Destylat otrzymywano metodą opisaną przez McGugana i Howsam (1) z tłuszczu odwirowanego z około 3 kg sera. Odbieralnik po odłączeniu od aparatu destylacyjnego popłukiwano małymi porcjami (łącznie około 0,3 ml) CH_2Cl_2 i zubożano 0,5 n roztworem Na_2CO_3 w celu wyłączenia lotnych kwasów tłuszczowych. Szczelnie zamkniętą probóweczkę z ekstraktem można było przechowywać około 48 godz. w zamrażarce i wykorzystać do wielokrotnego pobierania próbek wstrzykiwanych następnie do kolumny.

B. Analiza chromatograficzno-gazowa ekstraktu

Pracę wykonano na aparacie Perkin Elmera z adaptowanym detektorem płomieniowo-wodorowym. Kolumny analityczne wykonano z rurki o średn. 1,6 mm, długości 4 m. Wypełnienie kolumn: Chromosorb W (60—80 mesh), pokryty małą ilością substancji rozdzielczej: 1% DEGS + 2% Silicon 550 (kolumna „A”) lub 2% Carbowax 1540 (kolumna „B”).

Na kolumnie „A” w temp. 60°C i przy ciśnieniu gazu noszącego (azot) 0,7 At, po wstrzyknięciu próbki objętości 1—2 mikrolitrów, uzyskiwano obraz 36 do 28 składników, z których 10 otrzymywano później niż 2-oktanon. W temp. wyższej (100°C) rozdział w końcowej partii chromatogramu był lepszy, liczba zaś składników opuszczających kolumnę później niż 2-oktanon sięgała 16.

Na kolumnie „B” w temp. 60°C (0,56 At. N_2) otrzymywano 32 do 36 składników, z których 10—12 — później niż 2-oktanon; w temp. 100°C — (0,84 At N_2 — od 30 do 34 związków, z których 23 — później niż 2-oktanon).

C. Próby odzyskiwania frakcji ekstraktu rozdzielonych na kolumnie chromatograficznej

Do preparowania oddzielnych frakcji ekstraktu zastosowano kolumnę o średnicy 6 mm, długości 2 m, napełnionej Chromosorb W (60—80), pokrytym 15% Carbowax 1540. Rozdział przeprowadzono w temp. 110°C , ciśnieniu azotu 0,7 At. Uzyskiwano obraz 45—48 składników, z których 12—14 opuszczało kolumnę później niż 2-oktanon. Przy próbach odzyskiwania poszczególnych frakcji wyłączano detektory i wstrzykiwano ekstrakt w ilości 20—50 mikrolitrów. Przeprowadzono również badanie węchowe uchodzących frakcji u wylotu kolumny.

W celu odzyskania frakcji do dalszych badań łączono z wylotem kolumny krótkie rurki o średnicy 6 mm i długości 15 cm ze stali nierdzewnej, wypełnione Fluoropak (60—80 mesh), pokrytym 2% Apiezonu M. Czas chwytania frakcji wynosił 2 do 4 min. Następnie przez rurki przepuszczano w odwrotnym kierunku niż odbywało się chwytanie — strumień azotu, z prędkością 4—6 cm³/minutę. Rurka podczas tego zabiegu była ogrzewana owiniętą dookoła taśmą grzejącą do temp. 120° C. U wylotu rurki podłączona była szklana kapilara w kształcie U (około 10 cm wysokości), zanurzona w naczyniu Dewara, napełnionym ciekłym azotem.

D. Sprawdzenie możliwości odzysku na mieszaninach modelowych związków znanych

Związki o wyższym punkcie wrzenia (uzyskiwane z kolumn w opisanych warunkach w czasach podobnych do RT interesujących nas frakcji ekstraktu sera), takie jak 2-nonanon, metional itp. wypłukiwane były przez strumień azotu z rurki adsorbcyjnej w czasie około 35 min. Aby zapobiec wszelkim zanieczyszczeniom ze złączy (kauczuk) wszystkie połączenia wykonano z teflonu. Po odpędzeniu badanego składnika z rurki do kapilary, owijano ją watą, dodawano (8—10 µl) rozpuszczalnika (np. CH₂Cl₂) i szybko wirowano w celu zebrania zawartości w zgięciu rurki. Następnie wydobywano otrzymany roztwór za pomocą strzykawki i wstrzykiwano ponownie na kolumnę analityczną w celu sprawdzenia odzysku lub do analizy chemicznej lub spektrofotometrycznej. Odzyski były następujące:

	Ilość związku wstrzykniętego na kolumnę rozdzielczą w mikrogramach	Odzysk w procentach
2-heptanon	5	72—78
2-oktanon	5	70—80
2-nonanon	10	45—50
mleczan etylu	10	40—45
metional	20	30—40

Ilości odzyskane były szacowane na podstawie pola powierzchni piku uzyskanego na kolumnie chromatograficznej, w porównaniu z powierzchnią wykresu otrzymanego ze znanej ilości tego związku chromatografowanego w tych samych warunkach.

PIŚMIENNICTWO

1. McGugan W. A, Howsam S. G.: Analysis of neutral volatiles in Cheddar Cheese. *J. Dairy Science* XLV, 495—500 (1962).