



УДК 543.862.2

Идентификация и определение ароматобразующих компонентов истинного раствора молока

Коренман Я.И., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И.,
Рудниченко Е.С., Ширунов М.О.

Воронежская государственная технологическая академия, Воронеж

Аннотация

Для определения легколетучих компонентов газовой фазы истинного раствора молока применены методы высокоэффективной жидкостной хроматографии и пьезокварцевого микровзвешивания.

Изучены количественные параметры газовой сорбции некоторых кислот, спиртов и эфиров на 12 сорбентах, оптимизированы условия сорбции.

Ключевые слова: идентификация, определение, сорбция, сорбент, ВЭЖХ, истинный раствор молока

The HPLC and piezoquartz microweighing were applied to for the definition of individual molecular solution of whey gas phase components.

The quantitative gas sorption parameters of some acids, ketones and ethers were determined on 12 sorbents covers of different kinds.

Kinetics of individual components sorbtion was studied; a lot of sorbent covers on piezosensors resonator electrodes were optimized.

Key words: identification, determination, sorption, high-performance liquid chromatography molecular solution

Введение

Перспективное направление в производстве пищевых продуктов связано с применением истинного раствора молока – продукта ультрафильтрационного фракционирования творожной сыворотки, который является ценным сырьем благодаря своему составу и свойствам (табл. 1). Он содержит значительное количество лактозы (3,5 – 3,7 %), а также аминокислоты, низкомолекулярные биологически активные белковые вещества, молочную кислоту, различные макро- и микроэлементы, жиро- и водорастворимые витамины. По органолептическим показателям истинный раствор молока – однородная прозрачная с оттенком желтоватого цвета жидкость с высокой биологической и коллоидной стабильностью, может служить основой для выработки безалкогольных и алкогольных напитков.

В этой связи актуальность приобретает идентификация и количественное определение ароматобразующих компонентов истинного раствора молока. Запах и вкус всех молочных продуктов обуславливают различные группы химических

соединений, образующихся в результате превращений углеводов, аминокислот и жира молока при технологической обработке и хранении [2] (табл. 2).

Таблица 1. Физико-химические показатели истинного раствора молока [1]

| Показатель | Значение |
|------------------------------|-------------|
| Вода, % | 94,6 – 94,9 |
| Сухие вещества, % | 5,1 – 5,4 |
| в том числе: | |
| лактоза | 3,5 – 3,7 |
| белковые вещества | 0,1 – 0,2 |
| молочная кислота | 1,0 |
| зола | 0,38 |
| Титруемая кислотность, °Т | 75 – 85 |
| Активная кислотность, рН | 2,4 – 6,5 |
| Плотность, кг/м ³ | 1017 – 1018 |

Таблица 2. Ароматобразующие компоненты истинного раствора молока

| Класс соединений | Количество соединений | Состав |
|----------------------|-----------------------|--|
| Кислоты | 43 | Муравьиная, уксусная, пропионовая, масляная, капроновая, каприловая, каприновая, лауриновая, миристиновая, пальмитиновая, янтарная, яблочная, лимонная, молочная |
| Альдегиды | 33 | Формальдегид, ацетальдегид, пропионовый, масляный, изомасляный, валериановый, изовалериановый, капроновый, каприловый, кротоновый, бензойный, фенилуксусный, фурфурол, гептаналь, октаналь, нонаналь |
| Кетоны | 28 | Ацетон, винилпентилкетон, ацетоин, диацетил, бутанон-2, пентанон-2, гексанон-2, гептанон-2, октанон-2 |
| Лактоны | 28 | Насыщенные и ненасыщенные δ- и γ- лактоны алифатических кислот |
| Эфиры | 22 | Эфиры этилового спирта, уксусной, масляной, капроновой и пировиноградной кислот |
| Спирты | 16 | Этиловый, пропиловый, бутиловый, изопентиловый |
| Сернистые соединения | 14 | Сероводород, метиональ, метилмеркаптан, меркаптоацетальдегид, диметилсульфид, диметилдисульфид, меркаптопропионовая кислота |
| Терпены | 8 | Гераниол, фес, ионон, линалоол, метилионон |

Эксперимент

Ароматобразующие вещества истинного раствора молока идентифицировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Условия

хроматографирования: колонка 300x7.8мм; защитная колонка Carbo-H+4x3.0мм; режим разделения – изократический; подвижная фаза – серная кислота (0,0025 М); расход 0.6 мл/мин; температура колонки 60 °С; объем пробы 20 мкл.

Сенсорометрический анализ равновесных газовых фаз легколетучих ароматобразующих веществ проводили в статическом режиме с применением моносенсорной ячейки детектирования вместимостью 50 см³ с полиуретановой мембраной для инъекторного ввода пробы. Ячейка изготовлена из стекла в виде цилиндрического сосуда с герметически закрывающейся крышкой. Корпус ячейки снабжен тремя патрубками, один из которых предназначен для ввода анализируемой пробы, второй – для ввода газа-носителя (для регенерации сорбента применяли очищенный лабораторный воздух), третий – для вывода газа-носителя. Конструкция моносенсорной ячейки предусматривает жесткое крепление пьезокварцевого резонатора.

Обсуждение результатов

Получены хроматограммы истинного раствора молока (рис. 1).

Количественные определения выполняли методом нормировки (табл. 3 и 4).

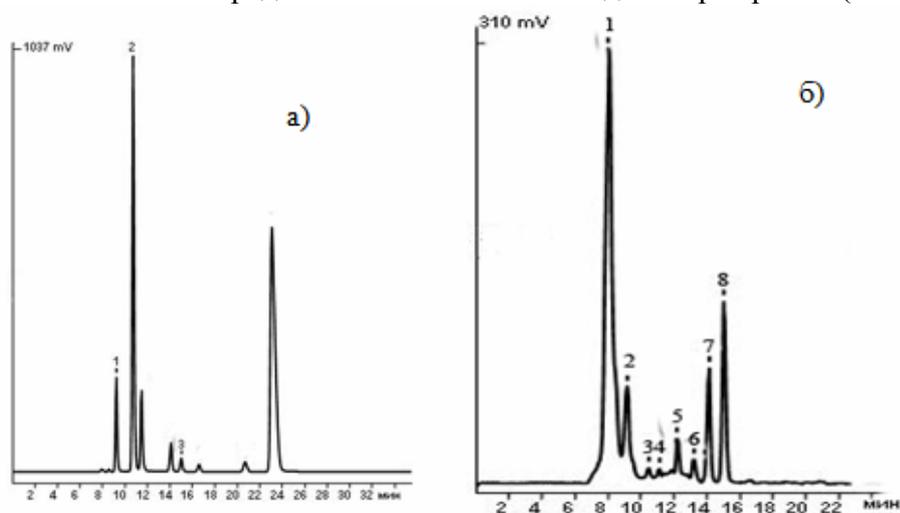


Рис. 1 Хроматограмма истинного раствора молока:

- а) 1 – уксусная кислота; 2 – масляная кислота; 3 – молочная кислота.
 б) 1 – этиловый спирт; 2 – формальдегид; 3 – ацетальдегид; 4 – метилацетат;
 5 – диацетил; 6 – ацетоин; 7 – этилацетат; 8 – этилаль

Таблица 3. Количественное определение уксусной, масляной и молочной кислот

| Кислота | Время удерживания, мин·с | Площадь пика на хроматограмме $S_{п, мВ·с}$ | Высота пика на хроматограмме $h, мВ$ | Концентрация, с, % мас. |
|----------|--------------------------|---|--------------------------------------|-------------------------|
| Уксусная | 9 – 50 | 2735 | 228 | 18,2 |
| Масляная | 11 – 32 | 11760 | 981 | 78,2 |
| Молочная | 14 – 55 | 547 | 23 | 3,6 |
| Σ | – | 15042 | 1232 | 100 |

Таблица 4. Количественное определение ароматобразующих компонентов истинного раствора молока

| Компонент | Время удерживания, мин·с | Площадь пика на хроматограмме $S_{п}$, мВ·с | Высота пика на хроматограмме h , мВ | Концентрация, с, % мас. |
|----------------|--------------------------|--|---------------------------------------|-------------------------|
| Этиловый спирт | 8 – 31 | 6461 | 269 | 48,9 |
| Формальдегид | 9 – 18 | 1078 | 645 | 8,2 |
| Ацетальдегид | 10 – 48 | 49 | 4 | 0,4 |
| Метилацетат | 11 – 16 | 49 | 4 | 0,4 |
| Диацетил | 12 – 07 | 588 | 25 | 4,4 |
| Ацетоин | 13 – 44 | 293 | 12 | 2,2 |
| Этилацетат | 14 – 11 | 1762 | 73 | 13,3 |
| Этилаль | 15 – 13 | 2938 | 122 | 22,2 |
| Σ | – | 13218 | 1154 | 100 |

Пьезокварцевые резонаторы АТ-среза (колебания типа «сдвиг по толщине») [4] с собственной частотой колебаний 8–10 МГц модифицировали нанесением растворов сорбентов на электроды. Растворители сорбентов – этиловый спирт, ацетон, толуол и вода. Массу пленки модификатора рассчитывали по уравнению Зауэрбрея [5]

$$m_{nl} = \frac{\Delta F_{nl} S}{K_f F_0^2}, \quad (1)$$

где ΔF_{nl} ($F_0 - F_{nl}$) – изменение частоты колебаний пьезорезонатора при формировании пленки, Гц; F_0 – собственная частота колебаний кварца, Гц; F_{nl} – частота колебаний кварца, модифицированного пленкой сорбента, Гц; K_f – градуировочная константа пьезоэлектрических микровесов (при н.у. $K_f = -2,3 \cdot 10^{-6} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{г}^{-1}$); S – площадь электродов резонатора ($0,2 \text{ см}^2$).

Масса модификатора относится к параметрам, влияющим на чувствительность пьезосенсора. Оптимальные массы модификаторов, обеспечивающие значимый аналитический сигнал и минимальную погрешность определения, составляют 10 – 20 мкг. Увеличение или уменьшение массы пленок снижает сорбционную емкость модификаторов и чувствительность микровзвешивания.

Модификаторы электродов – рибонуклеиновая кислота, β -нафтол, фосфорно-молибденовая кислота, нитропруссид натрия, дифенилкарбазид, трис-оксиметил-аминометан, N-метил-2-пироллидин, сульфосалициловая кислота, полиэтиленгликоль сукцинат (ПЭГС), полиэтиленгликоль фталат (ПЭГФ), полифениловый эфир, полистирол.

В стеклянный бюкс предварительно помещали ароматобразующий компонент истинного раствора молока, выдерживали в течение 5 мин и отбирали шприцем вместимостью 10 см^3 равновесную газовую фазу ароматобразующего компонента истинного раствора молока.

Перед измерениями модифицированный пьезокварцевый резонатор 15 – 30 мин адаптировали к среде ячейки детектирования. Показатель стабилизации сенсора – сдвиг частоты колебаний в течение 5 мин, не превышающий 10 – 15 Гц. Затем в ячейку детектирования шприцем вводили определенный объем равновесной газовой фазы ароматобразующего компонента истинного раствора молока. Сигналы

считывали каждые 5 с до установления равновесия в сорбционной системе. Ячейку и тонкую пленку модификатора регенерировали продувкой воздухом.

При сорбции изменяется масса модификатора, следовательно, и частота колебаний сенсора (абсолютный отклик F_c). Изменение частоты колебаний сенсора во времени ($\Delta F_c = F_{пл} - F_c$) фиксировали в виде выходной кривой сорбции $\Delta F_c = f(\tau)$ (рис. 2).

Эффективность сорбции оценивали в идентичных условиях (20 °С) по величине аналитического сигнала ΔF_c , Гц (максимальное изменение частоты колебания сенсора при сорбции). Сорбционную емкость резонатора (a) рассчитывали как отношение максимального изменения частоты колебания сенсора при сорбции к изменению частоты колебаний при формировании пленки [6]. Кинетический параметр процесса – время полной сорбции (τ , с). Полученные количественные характеристики сорбции приведены в табл. 5.

Наиболее емкими по отношению к парам масляной и уксусной кислот, а также этилацетату и этиловому спирту являются ПЭГС, ПЭГФ, трис-оксиметиламинометан, N-метил-2-пироллидин. С применением этих сорбентов достигается максимальный аналитический сигнал при экспонировании в парах определяемых компонентов истинного раствора молока. Высокая сорбционная емкость обеспечивает многократное применение сенсоров без изменения чувствительности.

Для всех изученных сорбентов получены кинетические кривые сорбции. В качестве примера приведем выходные кривые сорбции паров масляной и уксусной кислот, этилацетата, этиловый спирт (рис. 2).

Таблица 5. Количественные параметры сорбции

| Сорбент | Масса пленки, мкг | Уксусная кислота | | | Этилацетат | | | Этиловый спирт | | |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------|-------------------|------------------|------------|-------------------|------------------|------------|
| | | ΔF_c , Гц | $a^* \cdot 10^3$ | τ , с | ΔF_c , Гц | $a^* \cdot 10^3$ | τ , с | ΔF_c , Гц | $a^* \cdot 10^3$ | τ , с |
| Трис-оксиметил-аминометан | 9,20 | 488 | 53,2 | 10 | 3 | 0,3 | 5 | 7 | 0,8 | 70 |
| Нитропруссид натрия | 9,50 | 49 | 5,1 | 5 | 13 | 1,4 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Фосфорно-молибденовая Кислота | 9,80 | 12 | 1,3 | 5 | 1 | 0,1 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| Сульфосалициловая Кислота | 9,89 | 13 | 1,4 | 5 | 3 | 0,3 | 5 | 1 | 0,1 | 5 |
| N-Метил-2-пироллидин | 10,01 | 49 | 6,1 | 10 | 6 | 0,8 | 5 | 6 | 0,8 | 10 |
| β -Нафтол | 10,29 | 27 | 3,0 | 5 | 2 | 0,2 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| Полифениловый Эфир | 11,27 | 87 | 8,0 | 5 | 21 | 1,9 | 5 | 3 | 0,3 | 5 |
| Полистирол | 11,56 | 7 | 1,9 | 10 | 1 | 0,3 | 5 | 2 | 0,6 | 20 |
| Рибонуклеиновая Кислота | 12,57 | 19 | 1,5 | 5 | 1 | 0,1 | 5 | 1 | 0,1 | 5 |
| Полиэтиленгликольсукцинат | 12,61 | 111 | 9,4 | 10 | 4 | 0,3 | 10 | 7 | 0,6 | 35 |
| Дифенилкарбазид | 12,96 | 15 | 1,8 | 5 | 3 | 0,4 | 5 | 2 | 0,2 | 5 |
| Полидиэтиленгликольфталат | 13,55 | 149 | 12,4 | 10 | 5 | 0,4 | 25 | 9 | 0,7 | 40 |

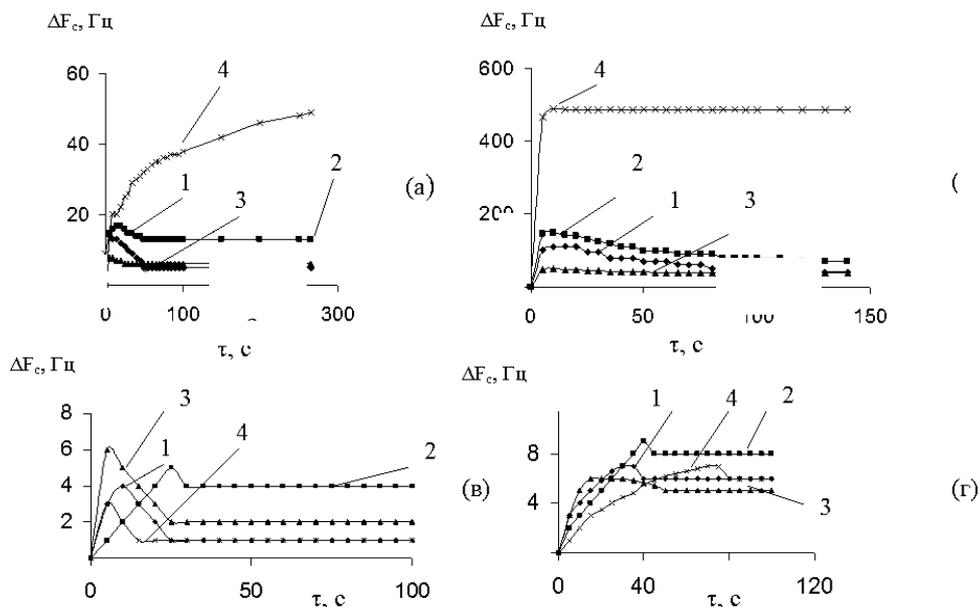


Рис. 2. Кинетические кривые сорбции паров масляной (а) и уксусной (б) кислот, этилацетата (в) и этилового спирта (г) на ПЭГС (1), ПЭГФ (2), N-метил-2-пирролидине (3), трис-оксиметиламинометане (4)

Заключение

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлено, что в состав равновесной газовой фазы истинного раствора молока входят вещества различной природы: кислоты, в том числе легколетучие (масляная, уксусная, молочная) [3], альдегиды (формальдегид, ацетальдегид, этилальдегид), кетоны (ацетоин, диацетил), эфиры (метилацетат, этилацетат), этиловый спирт (рис. 1), количественные характеристики приведены в табл. 3 и 4. Низшие алифатические кетоны и дикарбонильные соединения – резко пахнущие жидкости. В небольших концентрациях ацетоин и диацетил характеризуются приятными запахами, являются важными компонентами аромата. Карбоновые кислоты в значительных количествах придают кормовой, сырный и прогорклый запахи, этиловый спирт – характерный алкогольный запах [1].

Оптимизированы условия анализа методом пьезокварцевого микровзвешивания. Установлено, что при массе модификатора 10 – 20 мкг и объеме вводимой пробы 3 – 5 см³ погрешность определения компонентов газовой фазы истинного раствора молока минимальна.

Список литературы

1. Храмов А.Г. Безотходная технология в молочной промышленности.– М.: Агропромиздат, 1989.
2. Шидловская В.П. Органолептические свойства молока и молочных продуктов: Справочник. – М.: Колосс. 2002.
3. Коренман Я.И., Мельникова Е.И., Нифталиев С.И., Светолунова С.Е. Определение летучих жирных кислот в творожной сыворотке // Молочная промышленность. – 2005. – № 12.

4. Малов В.В. Пьезорезонансные датчики. – М.: Энергоатомиздат. 1989.
5. Кучменко Т.А. Применение метода пьезокварцевого микровзвешивания в аналитической химии. – Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад. 2001.
6. Коренман Я.И., Кучменко Т.А. Подходы к анализу пищевых продуктов // Разработка масс-чувствительных сенсоров // Рос. хим. журн. 2002. Т. 46, № 4.

Коренман Яков Израильевич - д.х.н., профессор кафедры аналитической химии Воронежской государственной технологической академии; тел. (4732) 55-07-62

Korenman Ya.I. - Dr.Sci.Chem, professor of Analytical Chemistry Department, Voronezh State Technological Academy, korenman@vgta.vrn.ru

Нифталиев Сабухи Илич - д.х.н., профессор, заведующий кафедрой общей и неорганической химии Воронежской государственной технологической академии

Niftaliev S.I. - Dr.Sci.Chem, professor of General and Inorganic Chemistry Department, Voronezh State Technological Academy

Мельникова Елена Ивановна - д.т.н., профессор кафедры технологии молока и молочных продуктов Воронежской государственной технологической академии

Mel'nikova E.I. - Dr.Sci.Tech., Milk and Dairy products Technology Department, Voronezh State Technological Academy

Рудниченко Елена Сергеевна - аспирант кафедры аналитической химии Воронежской государственной технологической академии.

Rudnichenko E.S. - post-graduate student of Analytical Chemistry Department, Voronezh State Technological Academy.

Ширунов Максим Олегович - студент Воронежской государственной технологической академии

Shirunov M. O. - student of Voronezh State Technological Academy