

PRILOG ISPITIVANJU SASTAVA MASNIH KISELINA U MASLACU METODOM GASNE HROMATOGRAFIJE

J. RAŠIĆ i M. TURČIĆ

PK »Banat«, Kikinda i Tehnološki fakultet, N. Sad

U V O D

Ispitivanje sastava masnih kiselina u maslacu ima veliki naučni i praktični značaj. Otuda su i razumljiva ispitivanja, koja se poslednjih godina vrše u ovom pravcu. Tako se saopštavaju podaci o sastavu masnih kiselina maslaca u pojedinim zemljama, o sezonskim varijacijama sastava masnih kiselina, kao i međusobnom odnosu, koji postoji između pojedinih masnih kiselina. (1, 2, 3, 4, 5).

Takođe se saopštavaju podaci o ispitivanju sastava masnih kiselina u maslacu pomoću gasne hromatografije sa ciljem utvrđivanja odnosa pojedinih masnih kiselina radi dokazivanja čistoće maslaca, odnosno falsifikata. (6, 7, 8).

Imajući u vidu raspoložive literaturne podatke, preuzeta su ispitivanja sastava masnih kiselina maslaca, koji je proizveden kod nas. Takođe je bio cilj ispitati da li nastaju neke promene u sastavu masnih kiselina maslaca u toku njegovog držanja na temperaturi 21° C u vremenu od 7 dana, što se primenjuje kod ispitivanja održivosti maslaca.

MATERIJAL I METODIKA

Uzorci maslaca uzeti su iz raznih mlekara posle završene izrade i označeni sa A, B, C, D i E. Uzorci su ispitivani odmah posle izrade i posle držanja na temperaturi 21° C u vremenu od 7 dana. Izvršene su bakteriološke i hemijske analize, kao i organoleptička ocena.

Određivanje broja proteolitičkih bakterija izvršeno je na podlozi, koja je predložena od Međunarodne mlekarske federacije (tryptone, glukoza, ekstrakt kvasca, agar) kojoj je još dodano 10% obranog mleka u prahu. Inkubacija je izvođena na 30° C u vremenu od 3 dana.

Broj kvasaca i plesni određivan je na sladnom agaru, a inkubacija izvođena na 25—30° C u vremenu od 5 dana.

Broj lipolitičkih bakterija određivan je takođe prema predlogu Međunarodne mleinarske federacije (9), a inkubacija izvođena na 30° C u vremenu od 3 dana.

Ispitivanje održivosti maslaca izvršeno je po standardnoj metodi (10), a organoleptička ocena od grupe degustatora.

ODREĐIVANJE SASTAVA MASNIH KISELINA — Dobijanje metilestara: metilestri masnih kiselina maslaca dobiveni su direktno metanolizom maslaca pomoću natrijummetilata. Postupak: 10 g. maslaca je zagrejano na 50° C u balonu sa ravnim dnom na magnetnoj mešalici sa zagrevanjem. U balon je dodato 40 ml 2% metanolnog rastvora natrijummetilata, priključen hladnjak po Ahlin-u, uključeno grejanje i mešalica puštena u rad. Posle oko 2 min. suspenzija počinje da ključa i posle 1—1,5 minuta se izbistri. Odmah pošto je rastvor postao bistar, zagrevanje se prekida jer je metanoliza gotova. Rastvor se prebaci u levak za odvajanje od 100 ml, zakiseli sa 2 N sumpornom kiselinom, doda 40 ml vode i promućka. U rastvor se zatim doda 10 ml petroletra (t. kjl. 30—50°C i posle mućkanja i odvajanja slojeva ispusti se i odbacuje donji sloj. Gornji sloj, u kome se nalaze metilestri masnih kiselina, pere se u istom levku za odvajanje 3 puta sa po 60 ml 10% rastvora natrijumhlorida i zatim suši preko noći iznad bezvodnog natrijum sulfata. Za hromatografisanje se uzima 1 mm³ dobivenih metilestara.

Ispitivanje metilestra pomoću gasne hromatografije: Hromatografisanje je vršeno na gasnom hromatografu Beckman GC- 2A.

Radni uslovi su bili sledeći:

Detektor: 4 filamentni volframov T/C detektor. Struja detektora: 250 mA.

Kolona: 6 feet-a (180 cm), ϕ 0,6 cm od nezardivog čelika punjena sa 20% poli (dietilenglikolsukcinata) na Chromoserb-u W 42/60 mesh-a ASTM.

Gas nosač: Vodonik, pritisak na ulazu: 25 psi, na izlazu: atmosferski.

Brzina protoka: 130 ml/minut. Radna temperatura: 190° C.

Pisač: Bristol 1 mV/1 sec. Brzina hartije: 0,5 inch/min.

Količina uzorka: 1 mm³. Vreme analize: 35 min. za behensku kiselinu.

REZULTATI ISPITIVANJA I TUMAČENJE

Identifikacija pojedinih masnih kiselina vršena je upoređenjem retencionih podataka s retencionim podacima za čiste metilestre masnih kiselina C₄, C₆, C₈, C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, i C_{18:3}. Identifikacija ostalih masnih kiselina vršena je prema retencionim podacima iz literature (4, 5).

Na dijagramu 1, prikazan je tipičan gasni hromatogram metilestara masnih kiselina maslaca.

DIJAGR. 1

HROMATOGRAM METILESTRA MASNIH KISELINA U MASLACU

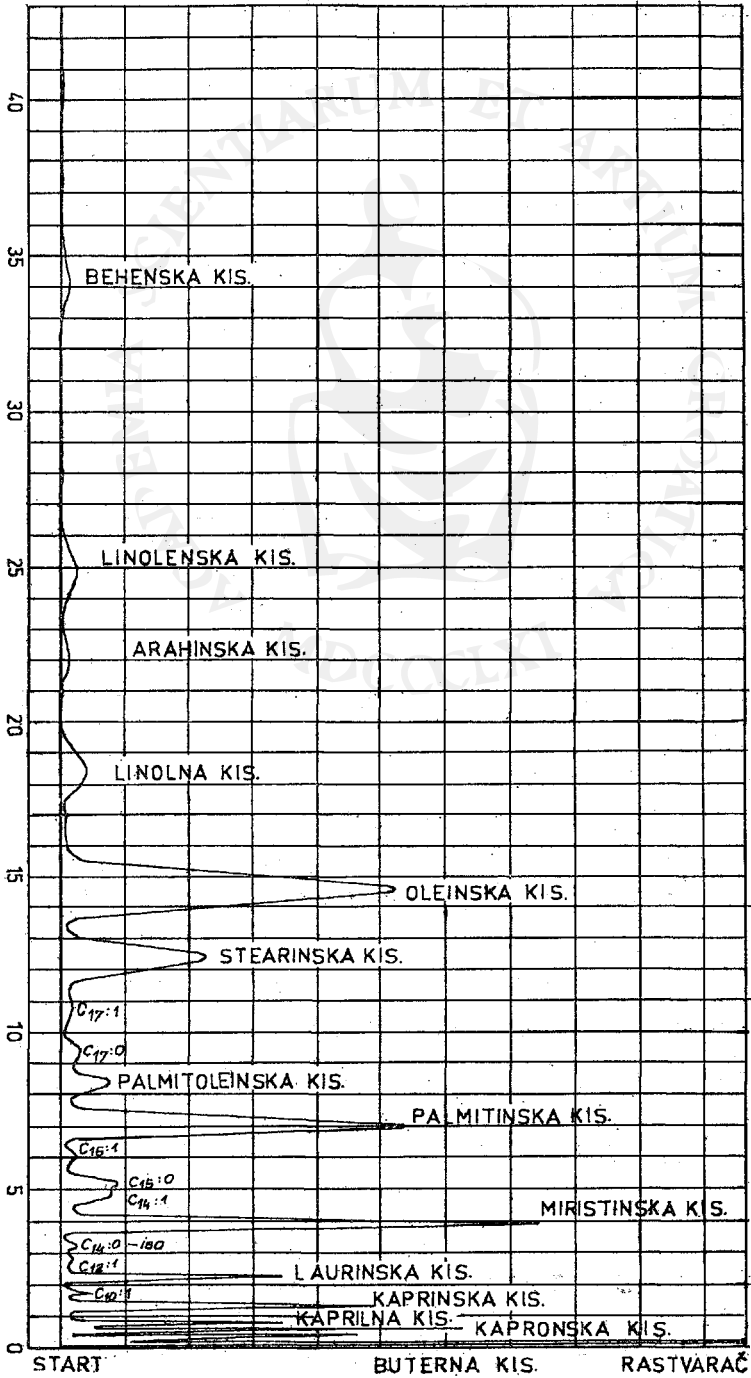


TABELA 1

SADRŽAJ MASNIH KISELINA U MASLACU

Masna kiselina	Broj C-atoma i dvostrukih veza	Naziv uzorka					Min.	Pro- sek	Max.	Nakanischi (4)			Svensen (5)	
		A %	B %	C %	D %	E %				Pro- sek	Min.	Pro- sek	Max.	
Buterna	C ₄ : 0	0,95	1,05	0,98	0,71	0,80	0,71	0,89	1,05	2,33	3,79	4,00	4,12	
Kaprionska	C ₆ : 0	2,73	3,17	2,80	2,45	2,80	2,45	2,59	3,17	1,57	2,13	2,46	2,74	
Kaprilna	C ₈ : 0	2,26	2,30	2,17	1,88	1,92	1,88	2,11	2,30	1,48	1,28	1,43	1,70	
Kaprinska	C ₁₀ : 0	4,22	4,17	3,87	3,18	3,71	3,18	3,83	4,22	2,17	2,53	3,01	3,49	
Kaproleinska	C ₁₀ : 1	0,53	0,53	0,50	0,42	0,46	0,42	0,49	0,53	0,39	0,28	0,44	0,57	
Laurinska	C ₁₂ : 0	4,35	4,68	4,26	4,03	3,80	3,80	4,22	4,68	2,52	2,90	3,44	3,88	
Tridekanska	C ₁₃ : 0	0,16	0,16	0,25	0,29	0,33	0,16	0,24	0,33	—	—	—	—	
iso-Tetradekanska	C ₁₄ : 0-iso	0,18	0,19	0,16	0,20	0,22	0,16	0,19	0,22	—	0,11	0,16	0,26	
Miristinska	C ₁₄ : 0	13,25	13,71	12,53	11,70	12,97	11,70	12,83	13,71	8,16	9,80	11,18	12,28	
Miristoleinska	C ₁₄ : 1	0,60	1,15	1,00	0,83	0,90	0,60	0,89	1,15	2,59	1,15	1,31	1,49	
Pentadekanska	C ₁₅ : 0	0,46	0,96	0,83	0,67	0,71	0,46	0,73	0,96	—	1,18	1,27	1,40	
iso-Heksadekanska	C ₁₆ : 0-iso	0,18	0,16	0,16	0,20	0,22	0,16	0,18	0,22	—	0,14	0,23	0,39	
Palmitinska	C ₁₆ : 0	29,15	29,35	36,38	31,60	32,50	29,15	31,79	36,38	25,77	22,82	27,06	30,90	
Palmitoleinska	C ₁₆ : 1	0,32	0,48	0,37	0,47	0,41	0,32	0,41	0,48	4,61	1,66	1,89	2,35	
Heptadekaenska	C ₁₇ : 1	0,11	0,21	0,41	0,10	0,33	0,10	0,23	0,41	—	0,13	0,29	0,47	
Stearinska	C ₁₈ : 0	4,53	5,04	4,09	4,27	4,96	4,09	4,58	5,04	9,11	9,56	10,81	12,46	
Oleinska	C ₁₈ : 1	18,46	20,78	17,03	18,12	21,85	17,03	19,25	21,85	32,17	21,55	24,78	28,56	
Linolna	C ₁₈ : 2	1,52	2,02	2,00	3,34	1,79	1,52	2,13	3,34	4,93	1,52	1,99	2,35	
Arahinska	C ₂₀ : 0	0,76	1,15	6,84	0,42	1,51	0,42	2,14	6,84	—	—	—	—	
Linolenska	C ₁₈ : 3	2,35	4,92	2,92	10,85	2,06	2,06	4,62	10,85	1,97	0,13	0,49	0,81	
Behenska	C ₂₂ : 0	10,56	3,59	2,50	4,27	5,77	2,50	5,34	10,56	—	—	—	—	

Rezultati ispitivanja sastava masnih kiselina dati su na tabeli 1.

Kao što se vidi, sastav masnih kiselina kod ispitivanih uzoraka maslaca približno je jednak. Veća odstupanja nađena su jedino kod uzorka maslaca označenog sa D, gde su nađene nešto veće količine linolne i linolenske kiseline.

Upoređujući rezultate ispitivanja sadržaja masnih kiselina maslaca, koje su nedavno dali Svensen i Ystgaard (5), možemo zaključiti da postoje razlike u sastavu masnih kiselina maslaca raznoga porekla. Pomenuti autori su niže masne kiseline određivali u vidu isparljivih kiselina s vodenom parom posle saponifikacije maslaca i oslobađanja masnih kiselina pomoću sumporne kiseline, dok smo mi sve masne kiseline odredili pomoću gasne hromatografije.

Rezultati koje je prikazao Nakanishi i Nakae (4) razlikuju se i od naših i od rezultata, koje su dali Svensen i Ysgaard (5). Prvi autori našli su u maslacu znatno veće količine oleinske i linolne kiseline, a manje količine palmi-tinske, miristinske, laurinske i kaprilne kiseline. Međutim, i ove razlike nalaze se unutar granica, koje se navode u literarnim podacima.

Postojanje razlika u ishrani krava, rasnom sastavu krava, klimatskim i zemljišnim, kao i drugim uslovima u pojedinim zemljama, odražavaju se i na sastav masnih kiselina maslaca dotičnih zemalja. Pored toga, izvesne razlike svakako su prouzrokovane i razlikama u metodi ispitivanja, a posebno u metodi pripreme metilestara za hromatografisanje.

Bilo je od interesa videti kakvim promenama podleže sastav masnih kiselina maslaca posle držanja uzoraka maslaca na temperaturi 21° C u vremenu od 7 dana. U tom cilju izvršena su uporedna ispitivanja mikrobioloških promena, kao i održivosti uzoraka maslaca (11). Rezultati ovih ispitivanja prikazani su na tabeli 2.

TABELA 2

PROMENA BROJA PROTEOLITIČKIH I LIPOLITIČKIH BAKTERIJA, KVASACA I PLESNI U MASLACU

Naziv uzorka	Broj proteolitičkih bakt. u 1 g		Broj lipolitičkih bakt. u.1 g		Broj kvasaca i plesni u 1 g	
	posle izrade	posle 7 dana na 21°C	posle izrade	posle 7 dana na 21°C	posle izrade	posle 7 dana na 21°C
A	600	65.000	900	95.000	4.000	10.100
B	800	103.000	1.100	130.000	5.300	13.000
C	0	120	0	150	0	0
D	700	42.000	1.050	120.000	3.400	9.200
E	120	2.800	170	3.300	0	0

Kao što se može videti, broj mikroorganizama povećao se kod uzoraka maslaca oznake C i E za nekoliko do stotinu puta, u vremenu držanja maslaca od 7 dana na 21° C. Broj proteolitičkih bakterija iznosio je 120 i 2.800 u 1 g., a broj lipolitičkih bakterija 150 i 3.300 u 1 g. Međutim, kod uzoraka maslaca označenih sa A, B i D, broj mikroorganizama povećao se znatno više, pa je broj proteolitičkih bakterija porastao za 50 do 800 puta, broj lipolitičkih bakterija za 40 do 700 puta, a broj kvasaca i plesni za nekoliko hiljada, u poređenju sa istoimenim svežim uzorcima.

Organoleptičke osobine maslaca posle držanja na temperaturi 21° C u vremenu od 7 dana, pokazale su razne promene. Uzorci maslaca označeni sa C i E,

pokazali su neznatne promene u organoleptičkim osobinama, ali su zato uzorci maslaca označeni sa A, B i D, pokazali znatne promene. Od maslaca aromatičnog i prijatnog ukusa i mirisa, postao je maslac užegnut i neprijatan na ukusu i mirisu.

Saglasno ovim promenama, mogla se očekivati i promena u sastavu masnih kiselina maslaca. Međutim, ispitivanja su pokazala da nije bilo razlike u sastavu masnih kiselina kod svežeg maslaca i maslaca, koji je stajao 7 dana na temperaturi 21° C. Razlike koje su se pokazale u organoleptičkim osobinama, verovatno su nastale usled promena u aromi maslaca, promena u azotnim materijama, ili promena masti, koje se nisu mogle konstatovati u ispitivanju gasnom hromatografijom.

ZAKLJUČAK

Rezultati ispitivanja sastava masnih kiselina u maslacu metodom gasne hromatografije pokazuju sledeće:

Sastav masnih kiselina u ispitivanim uzorcima maslaca, razlikuje se kod nekih masnih kiselina od sastava koji su dati u literarnim podacima, što se može objasniti razlikama u ishrani krava, rasnim sastavom krava, klimatskim i drugim faktorima.

Razlika u sastavu masnih kiselina kod svežeg maslaca i maslaca, koji je stajao 7 dana na temperaturi 21°C, nije nađena i pored zapaženih promena mikrobiološkog kvaliteta i organoleptičkih osobina kod nekih uzoraka.

GAS CHROMATOGRAPHIC STUDIES ON FATTY ACID COMPOSITION OF BUTTER

J. RAŠIĆ i M. TURČIĆ

Agric. Corpor. »Banat«, Kikinda; Faculty of Techn., N. Sad

SUMMARY

Results of investigations on fatty acid composition of butter by gas chromatography show the following:

Fatty acid composition of the investigated butter samples was different with some fatty acids, compared with the composition reported in literature. This could be explained by difference in the employed analytical methods and also by variations among breeds, individual variation within a breed, feeding of cows, climatic and other factors.

There was no difference in the fatty acid composition between butter samples analyzed immediately after manufacture and those previously stored at 21° C for 7 days, although with some samples were observed considerable changes in microbiological and organoleptic properties.

LITERATURA

1. Kiermeier, F und Renner, E. (1966) XVII Int. Milchw. kongr., C, 145.
2. Antila, V. (1966) Mejeritiet. Alkakausk., 25, 45.
Dairy Sci. Abstr., 28, 13, 41.
3. Antila, V. und Luoto, K. (1966) XVII Int. Milchw. kongr., C, 127.