A papírkromatográfia és jelentősége az élelmiszervizsgálatokban

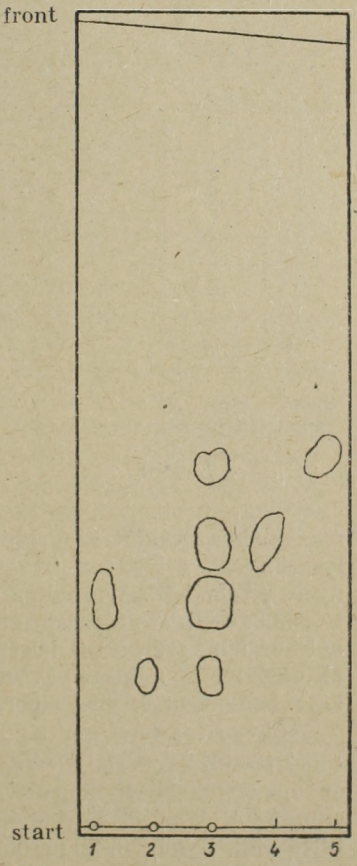
GÁL ILONA
Budapest Főváros Vegyészeti és Élelmiszervizsgáló Intézete, Budapest

A papírkromatográfia az utóbbi évtized legötletesebb és legkönnyebben kivitelezhető analitikai módszerei közé tartozik. Alkalmazása addig nem sejtett lehetőségeket nyújtott rokonszerkezetű, főleg szerves vegyületeknek egymástól való megkülönböztetésére, részben meghatározására is. E lehetőségek kiaknázásával számos olyan eljárást dolgoztak ki, melyek elsősorban a biokémikus és az élelmiszervegyész munkáját vannak hivatva előbbre vinni; így azok ismeretét és felhasználását ma már egyetlen, élelmiszerek vizsgálatával foglalkozó laboratórium sem nélkülözheti.

Mint ismeretes, a kromatográfia legrégibb formája az *adszorpciós* (Cvett-féle) *kromatográfia*, amely anyagkeverékek szétválasztását azok komponenseinek valamilyen adszorbensen (pl. Al_2O_3 stb.) való különböző mértékű adszorbeálhatósága alapján éri el. Ez a kitűnően bevált eljárás azonban elsősorban lipofil anyagokra korlátozódik. Hidrofil anyagok szétválasztására Martin, Gordon és Synge alkották meg az ú.n. *megoszlásos kromatográfiát:* az anyagot meghatározott mennyiségű vízzel átitatott szilikagél oszlop felső végére vitték fel, majd az oszlopon szerves oldószert szívattak át. Az anyagkeverék (aminosavkeverék volt) komponensei a vizes és organikus fázis között megoszlási együtthatóiknak megfelelően oszlottak meg, vagyis különböző sebességgel vándoroltak az oldószerrel és így szétváltak. Consden, Gordon és Martinnak 1944-ben az a gondolata támadt, hogy a szilikagél oszlopot egyszerűen papíroscsíkkal helyettesítsék. Ezzel megvetették a *papírkromatográfia* alapját.

A papírkromatográfia — fentiek szerint — a megoszlásos kromatográfia egyik változata. Vízgőzzel telített térben a cellulóze körül kialakult hidrát-burok képviseli a stacionér fázist, némi vizet tartalmazó szerves oldószer (pl. butanol, fenol, kloroform, stb.) a mozgó fázist. Az anyagkeverék komponensei a víz és az organikus oldószer

között oszlanak meg, anyagi minőségükre jellemző sebességgel vándorolnak a papíron, ami szétválásukat eredményezi, egymástól elkülönült foltokat alkotnak. A kész kromatogrammban l. 1. ábra az egyes foltok helyét R_f értékükkel szokták jellemezni, amelyet úgy számítunk ki, hogy a folt középpontjának a kiindulási ponttól („startpont") való távolságát elosztják az oldószer felső szintje, frontja közötti távolsággal. Ha pl. a front 20 cm-nyi az anyag foltja pedig 10 cm-nyi távolságra van a „startpont"-tól, az illető anyag R_f értéke $\frac{10}{20} = 0{,}5$. (Tekintettel arra, hogy ez az érték a felhasznált papirostól és a szerves oldószertől függ, a vonatkozó közleményekben mindig megtaláljuk ezt a két adatot.)

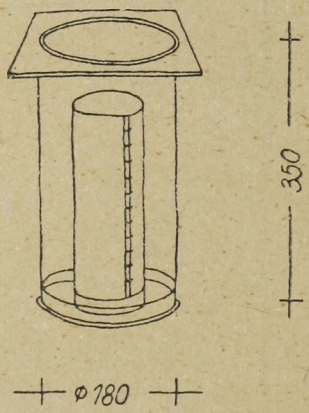


1. ábra

4 cukor keverékének egydimenziós kromatogrammja. Oldószer; butanoljégecet. Előhívó: anilinftalat 1. = glukoz, 2. = maltoz, 3- = keverék, 4. = xilóz, 5. = mannóz.

A kivitelezés legegyszerűbb módja az ún. *felszálló* papírkromatográfia, papírhengeren. Alkalmas szűrőpapírosból kivágunk egy kb. 25×30 cm-es darabot, az egyik szélétől 3 cm-nyire ceruzával meghúzzuk a „startvonalat", majd ezen 2½—3 cm távolságokban startpontokat jelölünk meg. Ezekre visszük rá mikropipettával, vagy kapillárissal a vizsgálandó, valamint az összehasonlító oldatok egy-egy cseppjét. A papírosnak a startvonalra merőleges széleit pl. gémkapoccsal hengerré összefűzve, a hengert — a keletkezett foltok beszáradása után — beleállítjuk egy Petri-csészébe és ezzel együtt olyan zárt térbe (üvegbura, üveglappal fedett üveghenger, stb. l. 2. ábra), mely víz és az alkalmazandó oldószer gőzeivel van telítve. (A térnek ilyenemű telítettségéről a kromatografálás egész tartama alatt gondoskodnunk kell.) Itt kb. 1 óra alatt kialakul a papiros körül a vízburok, vagyis a stacionér fázis. A Petri-csészébe most beleöntjük a mindenkori elő-

írásnak megfelelően elkészített organikus oldószert (mozgó fázis) és a teret újra lezárjuk. Az oldószer felszívódik a papírosba, felszállása közben szétválasztja a vizsgálandó anyagkeveréket összetevőire; a futtatás általában ½—6 óráig tart. Amikor az oldószer közelítőleg elérte a henger felső szélét, a hengert kiemeljük, az oldószer frontját megjelöljük és (többnyire szobahőmérsékleten, szellős helyen) megszárítjuk. Ha a kromatogramm szabad szemmel, vagy kvarclámpa alatt nem látható, megfelelő színképző reagens rápermetezésével elő kell hívni. (Aminosavaknál pl. ninhidrin az előhívó.)



2. ábra

Ha a szétválasztandó anyagok R_f értékei között a különbség igen csekély (0,03-nál kisebb), úgy *leszálló kromatográfiával* szoktak dolgozni, amely hosszabb, 40—50 cm-es papíroscsíkok alkalmazását teszi lehetővé s így az egyes foltok között a kész kromatogrammban nagyobb lesz a távolság. A startvonalat a papíroscsík felső szélétől kb. 6 cm-nyire húzzuk meg, fölötte nyelvalakban vágjuk ki a papírost. A csíkot üvegbot segítségével ráhelyezzük egy állványon nyugvó, megfelelő alakú tálkára. A papírosnyelv a tálkából szívja fel az oldószert, ez tehát felülről lefelé halad.

Más esetben a *körpapírkromatográfia* vezet célhoz. Ezen eljárásnál köralakú szűrőpapír közepére visszük fel a vizsgálandó anyagot, az oldószer is a középpontból indul, a komponensek koncentrikus körökben jelennek meg előhívás után.

Az ismertetett fel- és leszálló egydimenziós módszereknél is tökéletesebb szétválást eredményez a *kétdimenziós* módszer: egy anyagkeveréknek egydimenziós kromatogrammját szárítás után 90°-kal elfordítjuk és az elsőre merőleges irányban egy másik oldószerrel is futtatunk. Ilymódon 20 aminosavat sikerült egyidejűleg identifikálni.

Bár a papírkromatográfia kvalitatív módszernek indult, bizonyos mértékig *kvantitatív* meghatározásokra is felhasználható. Már a foltok nagysága és intenzitása, továbbá fotométeres mérések is becslés alapjául szolgálhatnak, ha pedig a kész kromatogrammból az egyes anyagokat kioldjuk, az oldatokban foglalt anyagok mennyisége különböző mikroeljárásokkal meghatározhatóvá válik.

Jól kiértékelhető kromatogrammokat kaphatunk a következő feltételek mellett:

1. Megfelelő szűrőpapírral kell dolgoznunk. A papiros kioldható anyagokat ne tartalmazzon, jó szívóképességű, egyenletes textúrájú legyen. Vizsgálatainknál jól bevált a Schleicher és Schüll 2043 b papiros. 2. A vizsgálandó — többnyire vizes — oldat mindegyik meghatározandó anyagra kb. 1%-os legyen. A papirosra — mindegyik komponensből általában 10—30 γ-t kell felvinnünk. (Túl nagy mennyiségek esetén a foltok elmosódottak.) 3. Ügyelnünk kell arra, hogy a nedves folt csupán néhány mm átmérőjű legyen 1,5 cm-nél pedig semmiképpen sem legyen nagyobb (ez ugyanis az R_f értékeket tenné pontatlanná). Ha az oldat túl híg, a papíroson koncentráljuk be: több cseppet viszünk fel, közben mindig beszárítjuk a foltokat. 4. A vizsgálandó oldat kísérő *ionokat* nagyobb koncentrációban *ne tartalmazzon*. (Ezek ugyanis vizet vonnak el, így zavarják a fázisok közti egyensúlyt: „farokképződés" lép fel, az R_f értékek is pontatlanok.) 5. A munkálatokat állandó *hőmérsékletű* helyiségben kell végeznünk, mert különösen a vízzel telített organikus oldószerek hőmérsékleti ingadozásokra igen érzékenyek: már csekély lehűléskor vízkiválás lép fel. Végül egyszerűen csak felsorolok néhány vegyületcsoportot, amelyek tagjait papírkromatográfiás úton meg lehet egymástól különböztetni, sőt gyakran mennyiségileg meg is lehet határozni. Aminosavak és peptidek. Cukrok (pl. glukóz, fruktóz, mannóz, galaktóz, laktóz egymás mellett: nem redukáló cukrok is). Alkoholok. — Purinszármazékok, többek között teobromin, teofillin, koffein. — Fenol csoportból pl. vanillin, cumarinsav, szalicilsav, gallussav. — Antociánok. Szerves savak, pl. zsirsavak, vagy vízben jól oldódó, nem illékony savak, mint az almasav, borkősav, citromsav. Szerves bázisok közül az aromás aminok, valamint az alkaloidák, pl. a dohány alkaloidjai egymás mellett. — Vitaminok, főleg a vízben oldódó B csoport, továbbá aszkorbinsav. — Antibiotikumok: penicillinek, sztreptomicin, aureomicin, kloromicetin stb. — Szintetikus festékek. — Anorganikus ionok, kationok, és anionok egyaránt stb. Egyes élelmiszerek alkatrészeinek papírkromatográfiás kimutatására és meghatározására vonatkozó néhány közleményt lapunknak ebben a számában ismertetünk. Figyelemmel kísérjük majd az ebben a témakörben megjelent további cikkeket is és ezekről folyamatosan be fogunk számolni.

JAVASOLT IRODALOM:

Jaschik S.: Papiros kromatográfia (Mérnöki Továbbképző Int. 3128 sz.)
Vámos E.: Papír kromatográfia (Mérnöki Továbbképző Int. 2482 sz.)
F. Cramer: Papierchromatographie Weinheim, 1954, 3. Aufl.

A szerkesztőbizottsághoz a következő dolgozatok érkeztek:

Lindner Károly:

Előzetes színkompenzáció alkalmazása színes oldatok színátcsapásos titrálásánál

★

Jaschik Sándor:

Az élelmiszeranalitika új útjai

★

Kottász József:

Új fagylaltvizsgálati módszerek és készülékek. IV. rész

★

Kottász József:

Emulziós-likőr vizsgálatok

★

Polonyi Pál:

Az élelmiszerekben előforduló aerob bacillusok spóra csirázóképességének vizsgálata

★

Wanka Ferenc:

A denaturált szeszről

★

Rafky Antal:

A minőségellenőrzés fejlődése és a megyei minőségvizsgáló intézetek szerepe az élelmiszeriparban

Tájékoztató Olvasóinkhoz és Munkatársainkhoz

Az „Élelmiszervizsgálati Közlemények" negyedévenként jelennek meg, évenként 1 kötetben.

Az „Eredeti dolgozatok — Beszámolók" rovat élelmiszerkémiai, mikológiai — bakteriológiai, — higiéniai közleményeket tartalmaz. Ugyancsak itt közlünk olyan cikkeket is, melyek az élelmiszerkémiával és élelmiszervizsgálatokkal kapcsolatosak (pl. analitikai kémia).

A „Műszaki fejlesztés — Gyakorlati közleménlek" rovat élelmiszeripari műszaki feladatokkal, rendeletekkel, szabványokkal, rendészettel, tapasztalatokkal, hírekkel foglalkozik. Rövid leírásokat közöl laboratóriumi vizsgálati módszerekről, számításokról, vagy eszközökről stb.

A „Könyv- és lapszemle" magyar és külföldi szakkönyvek és folyóiratok kivonatát ismerteti.

A közlemények tartalmáért a szerzők felelősek. A közleményeket tömören kell megfogalmazni. A kéziratokat gépírással $1^1/_2$-es sorközzel, 4—5 cm margóval, a lapnak csak egyik oldalára írva kell beküldeni. A szakkifejezéseket, vegyületneveket fonetikusan kell írni. Az irodalmi utalásoknál a szerzők keresztnevének kezdőbetűit és vezetéknevét, továbbá a mű címét, illetve a folyóirat kötet, év és oldalszámát kell feltüntetni a dolgozat végén. A kézirathoz csatolni kell a munka magyar nyelvű rövid összefoglalását három példányban, továbbá egy idegen nyelvű rövid összefoglalást (orosz, német, angol vagy francia) a dolgozat címének fordításával együtt.

Kéziratokat a szerkesztőség nem ad vissza. A kefelevonatokat a margón kijavítva azonnal vissza kell küldeni. Az esetleges ábrák levonatát a kefelevonat szélére kell ragasztani a megfelelő helyen és ellenőrizni kell azok számozását és aláírását.

Önálló közleményekből a szerzők kívánságára 40 db különlenyomatot adunk.

Kéziratokat és kefelevonatokat a felelős szerkesztő címére kell küldeni: Kottász József, Budapest, V., Városház u. 9—11.

A szerkesztő bizottság