

VYUŽITIE ITP PRI ANALÝZE CEREÁLNYCH PRODUKTOV USING OF ITP FOR ANALYSIS OF CEREAL PRODUCTS

Jolana Karovičová, Zlatica Kohajdová, Angéla Szamaránska

Abstract: Capillary isotachopheresis in cationic or anionic regime with several electrolytic systems of different compositions and conductometric detection has been used for routine separation and determination of phytic acid and their hydrolytic products, basic amino acids, preservatives, syntetic colourants in cereal based raw materials and final products.

Keywords: kapilárna izotachoforéza, analýza, cereálne produkty

ÚVOD

Izotachoforéza (isotachopheresis – ITP) je založená na použití diskontinuálneho elektrolytového systému, kde analyty (ióny rôznych látok) migrujú podľa svojej mobility v úzkych zónach za sebou medzi vodiacim (leading, LE) a zakončujúcim (terminating, TE) elektrolytom (Kašička, 1997; Horáková et al., 2006) a v dôsledku ich nerovnakej pohyblivosti sa zmes týchto látok rozdelí (Karovičová et al., 1988).

V analýze potravín sa ITP používa jednak na analýzu prírodných (anorganických katiónov a aniónov, biogénnych amínov, organických kyselín, aminokyselín a vitamínov), prídavných (konzervačné látky, syntetické farbivá, náhradné sladidlá) ako aj kontaminujúcich látok (ťažké kovy) (Kvasnička, 2000).

VYUŽITIE ITP PRI ANALÝZE CEREÁLNYCH PRODUKTOV

Kyselina fytová (myo-inozitol hexafosforečná) patrí medzi antinutričné látky prítomné v obilninách, vzhľadom na jej schopnosť tvoriť stabilné komplexy s viacmocnými kovmi, čo znižuje ich využiteľnosť v ľudskom organizme (Velíšek, 1999; Dost a Tokul, 2006; Kohajdová a Karovičová, 2009). Metódou ITP možno rýchlo a jednoducho stanoviť jednak samotnú kyselinu fytoú (Blatný et al., 1995; Kvasnička et al., 2011) ako aj jej rozkladné produkty inozitol pentafosfát (IP₅), inozitol tetrafosfát (IP₄), inozitol trifosfát (IP₃) alebo inozitol di- a monofosfát (Blatný et al., 1994). Blatný et al. (1995) extrahovali kyselinu fytoú zo vzoriek cereálií a strukovín 0,95 mol.dm⁻³ HCl a na analýzu aplikovali elektrolytický systém pozostávajúci z LE: 0,01 mol.dm⁻³ HCl, 5,6 mmol.dm⁻³ bis-tris propán, pH 6,1; TE: 0,005 mol.dm⁻³ 2- morfolinoetánsulfónová kyselina; prúd v predseparačnej kolóne 250 μA a v analytickej kolóne 70 μA (počas detekcie 30μA), detektor: vodivostný. Daný elektrolytický systém autori aplikovali aj pri analýze produktov (IP₃, IP₄ a IP₅) vznikajúcich enzymatickým rozkladom kyseliny fytovej (Blatný et al., 1994). Kvasnička et al. (2011) použili na stanovenie kyseliny fytovej vo vzorkách jačmeňa elektrolytický systém nasledujúceho zloženia: LE: 10 mol.dm⁻³ HCl + 14 mmol.dm⁻³ glycyglycín + 0,1% hydroxyetyl celulóza, TE: 10 mol.dm⁻³ kyselina citrónová, detektor: vodivostný.

Lyzín patrí medzi esenciálne aminokyseliny a je limitujúcou aminokyselinou cereálií (Velíšek, 1999; Příhoda et al., 2003; Muchová, 2007). Kubáček et al. (2006) vyvinuli rýchlu ITP metódu na súčasné stanovenie lyzínu, arginínu a histidínu. Na stanovenie bol použitý elektrolytický systém pozostávajúci z LE: 10 mol.dm⁻³ octan draselný upravený na pH = 4 kyselinou octovou, aditívum 0,2 % metylhydroxyetyl celulóza, TE: 10 mol.dm⁻³ β-

alanín. Analýza bola uskutočnená v predseparačnej kolóne pri prúde 250 μA , detektor: vodivostný, čas analýzy 10 min.

Konzervačné prípravky sa používajú ako ochrana pred napadnutím plesňami a inými mikroorganizmami. Pri výrobe chleba sa obyčajne používa kyselina sorbová. Potravinový kódex SR povoľuje do pekárskych výrobkov aj nízín a kyselinu propiónovú alebo jej Na, Ca a K soli. (Szemes a Mainitz, 1999). Karovičová et al. (1991) použili na stanovenie konzervačných látok (kyselina benzoová, mravčia, octová) elektrolytický systém nasledujúceho zloženia: LE: 0,01 mol.dm⁻³ HCl, 0,1 % metylhydroxyetyl celulóza, protiión β -alanín, pH = 3,5; TE: 0,005 mol.dm⁻³ kyselina kaprónová. Prúd v predseparačnej kolóne 250 μA a v analytickej kolóne 50 μA , detekcia: vodivostná.

Karovičová et al. (1991) vypracovali ITP metódu na stanovenie syntetických potravinárskych farbív. Vo vzorkách rôznych potravín stanovili touto technikou tartrazín (E102), žltú SY (E110), amarant (E123) a košenilovú červeň (E120). Farbivá boli stanovené v anionickom móde priamo v metanolovom extrakte tuhých vzoriek alebo po predúprave pomocou polyamidových guľičiek v kvapalných vzorkách.

Kyselina askorbová patrí medzi najrozšírenejšie oxidačné látky používané v pekárskom priemysle (Muchová, 2007). Kyselina askorbová zosilňuje lepok, zlepšuje hospodárenie s plynými látkami a kvasnú toleranciu, cesto je spracovateľnejšie na strojoch. Vďaka nej vzniká suché, kypré, jemne pórovité cesto (Szemes a Mainitz, 1999). Sádecká a Polonský (2001) vyvinuli ITP metódu s vodivostnou detekciou na stanovenie kyseliny askorbovej a izoaskorbovej v potravinách. Elektroforetický systém, ktorý autori použili obsahoval: LE: 0,01 mol.dm⁻³ HCl, 0,1 % metylhydroxyetyl celulóza, protiión β -alanín, pH = 3,0; TE: 0,005 mol.dm⁻³ kyselina kaprónová. Sádecká a Polonský (2004) ďalej ukázali, že metóda ITP je vhodná nielen na stanovenie kyseliny askorbovej ale aj na súčasnú analýzu kyseliny pantoténovej a kyseliny folovej. Pri analýze týchto látok autori použili nasledujúci elektrolytický systém: LE: 0,01 mol.dm⁻³ HCl, 0,1 % polyvinylpyrolidón, pH roztoku bolo upravené na hodnotu 8,2 tris-hydroxymetyl aminometánom; TE: 0,005 mol.dm⁻³ L-taurín. Detekčné limity sa pohybovali od 1 $\mu\text{mol.dm}^{-3}$ pre kyselinu folovú do 2 $\mu\text{mol.dm}^{-3}$ pre kyselinu askorbovú a kyselinu pantoténovú.

Sledovanie obsahu organických kyselín je dôležité aj pri monitorovaní priebehu kvasných procesov pri výrobe pekárskych výrobkov. Organické kyseliny jednak ovplyvňujú chuť a vôňu výsledných produktov ako aj reologické vlastnosti pripraveného cesta (Kohajdová a Karovičová, 2009). Kohajdová a Karovičová (2009) navrhli ITP metódu na stanovenie organických kyselín v múke. Na identifikáciu a stanovenie kyselín autorky použili elektrolytický systém pozostávajúci z nasledujúcich elektrolytov: LE: 0,01 mol.dm⁻³ HCl, protiión 6-aminokaprónová kyselina, aditívum 0,1% metylhydroxyetylcelulóza, pH 4,5; TE: 5.10⁻³ mol.dm⁻³ kyselina kapronová, 5.10⁻³ mol.dm⁻³ histidín pH 4-5. Vzorky múk boli analyzované pri prúde 200 μA v predseparačnej kolóne a 50 μA v analytickej kolóne. Použitá metóda bola úspešne aplikovaná aj na monitorovanie priebehu fermentácie rastlinných substrátov (Karovičová a Kohajdová, 2005) ako aj pri sledovaní produkcie organických kyselín počas výroby pekárskych kvasov (Kocková et al., 2011).

Popol obilnín je tvorený prevažne oxidom fosforečným, najviac zastúpenými kovmi sú horčík, vápnik a železo (Příhoda et al. 2003). Szlyk et al. (2004) vypracovali ITP metódu na stanovenie fosforu v sójovej múke a a sójových vločkách. Predúprava vzoriek spočívala v extrakcii 0,5 % HNO₃. Na stanovenie bol použitý elektrolytický systém pozostávajúci z LE: 8 mmol.dm⁻³ HCl, 3 mmol.dm⁻³ bis-tris-propán, β -alanín a aditívum 0,2 % hydroxyetyl celulóza, pH = 3,55; TE: 5 mmol.dm⁻³ kyselina citrónová. Vzorky boli analyzované pri prúde 250 μA v predseparačnej kolóne a 50 μA v analytickej kolóne, detektor: vodivostný, čas analýzy 20-25 min.

ZÁVER

Trendom dnešných inštrumentálnych metód je vykonať rýchlu a jednoduchú analýzu s čo najmenším počtom úprav a operácií so vzorkou (Horáková et al., 2006). Metóda ITP ponúka v tomto smere niekoľko výhod (Kvasnička, 2000; Karovičová et al., 2007; Lehkoživová et al., 2007; Budáková et al., 2009): zložky neiónového charakteru (sacharidy, škrob, tuk) sa nepohybujú v elektroforetickom systéme, z čoho vyplýva, že neprekážajú pri stanovení iónových zložiek vo vzorkách, minimálna úprava vzoriek pred analýzou (zriedenie a filtrácia kvapalných látok, extrakcia tuhých látok), nevyžaduje derivatizáciu a deproteinizáciu vzoriek, čo znižuje prácnosť analýzy, ITP môže konkurovať chromatografickým metódam najmä rýchlejšou analýzou, pri zachovaní rovnakej citlivosti.

LITERATÚRA

- BLATNÝ, P., KVASNIČKA, K., KENNDLER, E. 1995. Determination of phytic acid in cereal grains, legumes, and feeds by capillary isotachopheresis. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 43, 1995, no. 1, p. 129-133.
- BLATNÝ, P., KVASNIČKA, K., KENNDLER, E. 1994. Time of formation of inositolphosphates during enzymatic hydrolysis of phytic acid (myo-inositol hexaphosphoric acid) by phytase determined by capillary isotachopheresis. In *Journal of Chromatography A*, vol. 679, 1994, no. 2, p. 345-348.
- BUDÁKOVÁ, L., BROZMANOVÁ, H., KVASNIČKA, F., GRUNDMANN, M. 2009. Stanovenie lamotriginu v séru pomocou on-line spojenia kapilárnej izotachofórey a kapilárnej elektroforézy. In *Chemické Listy*, vol. 103, 2009, no. 2, p. 166-171.
- DOST, K., OKUL, O. 2006. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by RP-HPLC. In *Analytical Chimica Acta*, vol. 558, 2006, no. 1-2, p. 22-27.
- HORÁKOVÁ, J., MAIER, V., ŠEVČÍK, J. 2006. On-line prekoncentračné techniky v kapilárnej elektroforéze. In *Chemické Listy*, vol. 100, 2006, no. 3, p. 163-168.
- KAROVIČOVÁ, J., LEHKOŽIVOVÁ, J., KOHAJDOVÁ, Z., SUHAJ, M. 2007. Stanovenie náhradných sladidiel a doznievanie sladkej chuti nealkoholických nápojov. In *Chemické Listy*, vol. 101, 2007, no. 2, p. 171-175.
- KAROVIČOVÁ, J., KOHAJDOVÁ, Z. 2005. Lactic acid fermentation of various vegetable juices. In *Acta Alimentaria*, vol. 34, 2005, no. 3, p. 237-246.
- KAROVIČOVÁ, J., POLONSKÝ, J., DRDÁK, M. 1988. Analýza kvasenej kapusty kapilárnou izotachofórezou. In *Bulletin potravinárskeho výskumu*, vol. 27, 1988, no. 3-4, p. 403-414.
- KAROVIČOVÁ, J., POLONSKÝ, J., PRÍBELA, A., ŠIMKO, P. 1991. Isotachopheresis of some synthetic colorants in foods. In *Journal of Chromatography*, vol. 545, 1991, no. 2, p. 413-419.
- KAROVIČOVÁ, J., POLONSKÝ, J., ŠIMKO, P. 1991. Determination of preservatives in some food products by capillary isotachopheresis. In *Nahrung*, vol. 35, 1991, no. 5, p. 543-544.
- KAŠÍČKA, V. 1997. Teoretické základy a separačné princípy kapilárných elektromigračných metód. In *Chemické Listy*, vol. 91, 1997, no. 5, p. 320-329.
- KOHAJDOVÁ, Z., KAROVIČOVÁ, J. 2009. Chemical characteristics and pasting properties of commercial Slovak common and spelt wheat flours. In *Agriculturae Conspectus Scientificus*, vol. 74, 2009, no. 4, p. 313-317.
- KOHAJDOVÁ, Z., KAROVIČOVÁ, J. 2009. Využitie kapilárnej izotachofórey v pekárskej praxi. *Pekárstvo-Cukrárstvo*, vol. 10, 2009, no. 5, p. 7.
- KOCKOVÁ, M., GEREKOVÁ, Z., PETRULÁKOVÁ, Z., HYBENOVÁ, E., ŠTURDÍK, E., VALÍK, E. 2009. Evaluation of fermentation properties of lactic acid bacteria isolated from sourdough. In *Acta Chimica Slovaca*, vol. 4, 2011, no. 2, p. 78-87.
- KUBÁČEK, P., MIKUŠ, P., VALÁŠKOVÁ, I., HAVRÁNEK, E. 2006. Simultaneous determination of essential basic amino acids in pharmaceuticals by capillary isotachopheresis. In *Archives in Pharmaceutical Chemistry*, vol. 339, 2006, no. 2, p. 96-99.
- KVASNIČKA, F. 2000. Application of isotachopheresis in food analysis. In *Electrophoresis*, vol. 21, 2000, no. 17, p. 2780-2787.
- KVASNIČKA, F., ČOPIKOVÁ, J., ŠEVČÍK, R., VÁCLAVÍKOVÁ, E., SYNITSYA, A., VACULOVÁ, K., VOLDŘICH, M. 2011. Determination of phytic acid and inositolphosphates in barley. In *Electrophoresis*, vol. 32, 2011, no. 9, p. 1090-1093.
- MUCHOVÁ, Z. 2007. *Technológia spracovania cereálií*. Nitra SPU, 2007, 194 p, ISBN 978-80-8069-980-2.
- PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. 2003. *Cereální Chemie a Technologie I. Cereální chemie, mlynská technologie, technologie výroby těstovin*. Praha VŠCHT, 2003, 202 p. ISBN 80-7080-530-7.

SÁDECKÁ, J., POLONSKÝ, J. 2001. Determination of ascorbic and isoascorbic acid in beverages and additives to meat products by capillary isotachopheresis. In *European Food Research and Technology*, vol. 212, 2001, no. 4, p. 511-517.

SÁDECKÁ, J., POLONSKÝ, J. 2004. Capillary isotachopheresis of some water soluble vitamins. In *Chemia analityczna*, vol. 49, 2004, no. 2, p. 167-175.

SZEMES, V., MAINITZ, R. 1999. *Technológia pekárskej výroby*. Pezinok: Gemini, 1999, 159 p.

SZLYK, E., JASTREBSKA, A., BRUDKA, H. 2004. Determination of total phosphorus in soya food samples by capillary isotachopheresis. In *Talanta*, vol. 63, 2004, no. 3, p. 575-580.

VELÍŠEK, J. 1999. *Chemie potravin II*, Tábor OSIS, 1999, 304 p, ISBN 80-86659-01-1.

Kontaktná adresa: doc. Ing. Jolana Karovičová, Ing. Zlatica Kohajdová, PhD. Ústav biotechnológie a potravinárstva, Oddelenie potravinárskej technológie, FCHPT, Bratislava, Radlinského 9, 821 37 Bratislava. E-mail: jolana.karovicova@stuba.sk, zlatica.kohajdova@stuba.sk